



La Sicurezza Alimentare nell’Era “Omica” e della Bioinformatica: la Veterinaria di Sanità pubblica si sta preparando ai nuovi scenari?

Maurizio Ferri *

Veterinario Ufficiale

Membro Consiglio Direttivo SIMeVeP

Sommario

1. Scenario.....	2
2. Il carattere transnazionale dei focolai di infezione alimentari, la sorveglianza molecolare e le banche dati. 3	
3. La rivoluzione omica, il sequenziamento del DNA e la condivisione dei genomi batterici	4
3.1 La rivoluzione genomica.....	6
3.2 La progettazione e la sintesi del DNA	8
3.3 Importanza dei sistemi informatici, della epidemiologia spaziale e degli strumenti di data mining	9
4 La Veterinaria Pubblica, i rischi emergenti della catena alimentare e gli scenari futuri	12
4.1 L’utopia del rischio zero	15
4.2 Il sistema ispettivo veterinario italiano. Aspetti critici e soluzioni	16
5 Conclusioni	19

Premessa

Qualsiasi riflessione sull’efficacia attuale e futura della veterinaria pubblica misurata sulle capacità effettive e documentate di prevenzione e gestione dei rischi emergenti della catena alimentare, ci obbliga a ragionare sulle modalità attraverso cui i veterinari pubblici dovranno prepararsi a interagire nei prossimi anni con le nuove tecnologie applicate alla diagnostica, epidemiologia e controllo ufficiale degli alimenti. Se la sicurezza alimentare sta oramai diventando una questione di tecnologia dell’informazione progressivamente supportata per la diagnostica da banche dati contenenti profili genetici o sequenze genomiche dei patogeni (virus e batteri) di rilevanza in sanità pubblica, dagli strumenti di *data mining* e dall’utilizzo delle scienze omiche e della bioinformatica, si ritiene indispensabile intimizzare e far proprio questo nuovo orizzonte progettando un rinnovato percorso formativo-professionale coerente con una nuova strategia con obiettivi a medio e lungo termine. Il presente lavoro partendo dall’analisi dei rischi emergenti creati dal mutato contesto economico, politico e sociale legato alla produzione, commercializzazione e consumo globale degli alimenti e dal sempre crescente carattere transazionale dei focolai di infezione alimentare, cerca di affrontare il tema della prevenzione e controllo legandolo ai nuovi sistemi di sorveglianza epidemiologica molecolare, alle scienze omiche e in particolare e alle tecniche di sequenziamento del genoma batterico. Su questo sfondo caratterizzato da uno sviluppo

* Corrispondenza dell’autore:
Ufficio Igiene prodotti di O.A., Servizio Veterinario,
ASL Pescara.
e-mail: gbnltf@tin.it
Tel: 085 4253558
Fax: 085 4253545

esponenziale delle tecnologie informatiche e della scienza in generale, necessario per comprendere il futuro che attende la veterinaria pubblica, vengono sviluppate alcune considerazioni critiche sull'attuale sistema ispettivo veterinario e formulate brevi raccomandazioni per gli orientamenti strategici futuri.

I Parte

1. Scenario

Negli ultimi venti anni il sistema globale della produzione e commercializzazione degli alimenti ha conosciuto profondi cambiamenti strutturali e gestionali, complici i mutati contesti economico-sociale, geopolitico e di sviluppo tecnologico e l'incessante processo di globalizzazione e integrazione dei mercati. Se da una parte ciò ha offerto il vantaggio della disponibilità di prodotti alimentari che non rispettano i luoghi e le stagioni (il trasporto di prodotti alimentari è cresciuto dal 1960 ad oggi ad un tasso esponenziale maggiore della stessa produzione alimentare)¹, dall'altra purtroppo ha creato le condizioni per la rapida diffusione di contaminanti attraverso le derrate alimentari le cui origini e profilo microbiologico a causa della complessità delle reti di distribuzione, risultano spesso difficilmente determinabili. Tra i maggior *drivers* di cambiamento della produzione alimentare quello demografico è ritenuto particolarmente significativo per l'impatto maggiore sulla sostenibilità delle produzioni future². Pensiamo alla crescita esponenziale della popolazione che raggiungerà nove miliardi nel 2050 e che interesserà maggiormente i paesi a medio e basso reddito con capacità più limitate per gestire i nuovi rischi creati dalla globalizzazione. La crescita demografica che si associa ad un trend crescente di invecchiamento della popolazione che necessita di alimenti ad alto valore nutrizionale e funzionale almeno per le

¹ Maria Ercsey-Ravasz, Zoltan Toroczka, Zoltan Lakner, Jozsef Baranyi. *Complexity of the International Agro-Food Trade Network and Its Impact on Food Safety*. 2012. Disponibile online su PlosOne.

² I risultati di un recente studio Delphy condotto nell'ambito del progetto Collab4Safety (www.collab4safety.eu) finanziato dalla Commissione europea per la ricerca quadro FP7 e presentati a Milano il 4 Maggio 2015 per EXPO2015, indicano un generale consenso tra le centinaia di esperti partecipanti a considerare il cambiamento demografico, le forze economiche, la carenza di risorse e i fattori ambientali, *drivers* significativi per i fattori di rischio alimentari emergenti.

società ad alto reddito, pone indubbiamente un serio problema di sostenibilità dei futuri sistemi sanitari e di crescente limitazione nel tempo di risorse energetiche disponibili³. Se anche entro il 2050 si stima che la produzione di cibo, di energia e di acqua cresceranno rispettivamente del 60%, 50% e 40%⁴ in relazione alla disponibilità di cibo, il dato sconcertante è che, accogliendo la visione assiomatica di Malthus sui cicli delle sovrappopolazioni, mentre la popolazione cresce in modo esponenziale la produzione alimentare ha un tasso di crescita lineare⁵. Accanto alla crescita demografica operano altri fattori chiave riconducibili ai cambiamenti climatici, inquinamenti ambientali, depauperamento di risorse ed energia, nuove tecnologie produttive, che in sinergia e con effetto catalitico minacciano la sicurezza, la disponibilità e la sostenibilità della produzione alimentare futura. Questo scenario rappresenta per il settore produttivo agro-alimentare e per i soggetti incaricati del controllo ufficiale una sfida epocale che sarà possibile fronteggiare solo adottando un approccio olistico, integrato o sistemico, in virtù del quale l'attenzione dovrà concentrarsi sui rapporti di dipendenza dei fenomeni utilizzando l'analisi delle reti o altri strumenti informatici, piuttosto che su analisi particolareggiate avulse dal contesto di riferimento.



Gli effetti climatici costituiscono fattori ambientali in grado di condizionare gli ecosistemi vegetali e

³ Government Office for Science. *Foresight. The Future of Food and Farming. Challenges and choices for global sustainability*. Final Project Report. 2011.

⁴ *Towards the future we want*. FAO 2012.

<http://www.fao.org/docrep/015/an894e/an894e00.pdf>.

⁵ *Introduction to Modern Climate Change*, di Andrew Dessler. 2011.

animali e l'ecologia delle popolazioni batteriche con conseguenze imprevedibili in sanità pubblica. Basti pensare alle emissioni in atmosfera di gas serra, i cui valori sono raddoppiati nel periodo dal 1970 al 2005, responsabili del costante aumento della temperatura del pianeta. Tralasciando le conseguenze economiche individuabili nella contrazione delle produzioni agricole mondiali, quantificate in 40 milioni di tonnellate per anno dal 1981 al 2002, e che impone la necessità di soluzioni tecnologiche e di ricerca⁶, l'importanza degli effetti climatici va valutata anche in relazione alle perturbazioni degli ecosistemi batterici e animali e alla emergenza e diffusione di patogeni umani ed animali. Ne è un esempio il recente modello climatico impostato su spazio e tempo e applicato allo studio della diffusione della *Bluetongue*, infezione virale dei ruminanti trasmessa da artropodi vettori, con diversi focolai verificatisi nel nordovest dell'Europa nel 2006⁷.

Per effetto del sopra descritto contesto multifattoriale e in un rapporto di causa-effetto più o meno diretto, sono emersi nuovi pericoli o riemerse vecchie *noxae* come risultato di un processo evolutivistico di adattamento ai nuovi ecosistemi. L'elemento che caratterizzerà in futuro il rischio associato ai nuovi pericoli microbiologici (virus, batteri) alimentari è la loro maggiore virulenza e dirompente diffusività facilitata e amplificata dalla presenza di flussi commerciali inseriti in reti o catene interconnesse di distribuzioni globalizzate che coesistono con nicchie produttive regionalizzate. La complessità della filiera alimentare e della rete dei trasporti e la presenza di confini sempre più larghi costituiscono motivo di forte preoccupazione per gli organismi di controllo ufficiale a causa delle difficoltà di gestione della tracciabilità delle derrate alimentari e di individuazione rapida dei relativi pericoli con il risultato di una inevitabile esposizione dei consumatori. Per usare una similitudine la rete dei trasporti dei prodotti alimentari con i relativi *hubs* commerciali presentano un rischio simile a quello legato alla movimentazione rapida e su scala globale delle persone. A riguardo si stima che se un nuovo ceppo di influenza aviaria dovesse diffondersi a livello globale sfruttando la rete di trasporto aereo che collega le principali città del mondo, c'è il rischio potenziale che tre miliardi di persone potrebbero essere esposte al virus entro un tempo

brevissimo⁸. Questo rischio si è dimostrato concreto durante l'epidemia di SARS la cui diffusione globale è stata facilitata dai viaggi e trasporto aereo delle persone colpite⁹.



Per gestire dunque la straordinaria complessità del sistema alimentare attuale, destinata ad aumentare in maniera esponenziale nel futuro, occorre investire in ricerca tecnologica e informatica per la sicurezza alimentare e sviluppare un approccio *foresight* utilizzando strumenti di ricerca e di analisi cosiddetti intelligenti in grado di intercettare, prevedere e prevenire gli effetti sfavorevoli dei cambiamenti.

2. Il carattere transnazionale dei focolai di infezione alimentari, la sorveglianza molecolare e le banche dati

A causa della estrema complessità dei trasporti e delle reti transnazionali di produzione e distribuzione anche di specifici ingredienti, i patogeni virali e batterici possono diffondersi con una velocità sorprendente sfruttando le molteplici vie di propagazione offerte dalle reti dei flussi¹⁰. In questo contesto i focolai di infezione alimentare possono presentarsi come episodi sporadici (*clusters*) ma associati allo stesso patogeno e aventi un'ampia distribuzione geografica e temporale e dunque interessare località distanti tra loro anche migliaia di chilometri. L'eccezionalità di tali episodi richiede soluzioni avanzate per la gestione dei sistemi di tracciabilità e l'attivazione dei sistemi di sorveglianza epidemiologica che sfruttando le tecnologie

⁶ Vedi nota 3

⁷ Vermeulen, Sonja G, e coll. Climate change and Food Systems, *Annual Review of Environmental and Resources*, Vol. 37, No 1, November 21, 2012. Pp.195-222.

⁸ World Economic forum. Insight report. Global Risks 2014 Ninth Edition.

⁹ Cunningham AA. A walk on the wild side – emerging wildlife diseases. *British Medical Journal*. 2005;331:1214–1215

¹⁰ Vedi nota 1

molecolari (epidemiologia molecolare)¹¹ riescono a fornire risposte ad alta risoluzione (livello molecolare) per la rapida identificazione dei patogeni e loro localizzazione spazio-temporale soprattutto nelle fasi iniziali degli episodi di infezione¹².

In queste condizioni, dunque per individuare un focolaio e assicurare la qualità e la tempestività delle indagini epidemiologiche, risulta fondamentale ricorrere alle indagini molecolari mediante la caratterizzazione genetica dei patogeni (es. l'elettroforesi su gel in campo pulsatile o *Pulsed Field Gel Electrophoresis* - PFGE) e la condivisione dei relativi profili genetici (impronte digitali o *fingerprinting*) attraverso piattaforme online per un rapido confronto di ceppi isolati dai laboratori situati in località diverse. Le tecniche di identificazione molecolare PFGE si sono rivelate utilissime nell'ambito delle indagini condotte dal CDC di Atlanta su diversi focolai di infezione alimentare multi-stato, in particolare di quello verificatosi in 28 stati americani, associato al consumo di melone di cantalupo prodotto in Messico e contaminato da *Listeria monocytogenes*¹³.

Tra i metodi molecolari maggiormente utilizzati si citano l'amplificazione del DNA mediante le tecniche di *Polimerase Chain Reaction* (PCR) o di restrizione enzimatica del DNA. Questi metodi, in particolare la tipizzazione del DNA amplificato casuale polimorfico (RAPD) e PFGE, che consentono di generare frammenti di DNA separati su gel e visualizzati come bande, si sono rilevati particolarmente adatti per l'analisi

¹¹ L'epidemiologia molecolare viene definita come lo studio della distribuzione e dei determinanti (fattori di rischio potenziali ambientali e genetici) delle malattie infettive o non, attraverso l'uso della biologia molecolare (da *Molecular Epidemiology of Infectious Diseases: Principles and Practices*, Lee W Riley, 2004, ASM Press Washington, D.C.). La sorveglianza molecolare si compone di due fasi: la fase di tipizzazione molecolare (es. PFGE, PCR) e quella di analisi dei dati (software analitici) per la modellazione e individuazione di trend spazio-temporali significativi delle infezioni e dei relativi fattori di rischio. Tali analisi sono utili per il controllo e utilizzo delle risorse disponibili per le attività di sorveglianza.

¹² Janies DA, Treseder T, Alexandrov B, Habib F, Chen JJ, et al. (2011) *The Supramap project: linking pathogen genomes with geography to fight emergent infectious diseases*. *Cladistics* 27: 61–66.

¹³ Center for disease control and Prevention (2011). Investigation Update: Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Whole Cantaloupes from Jensen Farms, Colorado. Available: <http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cantaloupes-jensen-farms/082712/index.html>.

comparativa degli isolati con vantaggi legati al costo, tempo e facilità d'uso, mentre gli svantaggi sono attribuibili alle performance quali la riproducibilità (limitata per la bande), tipizzabilità e potere discriminatorio¹⁴.

3. La rivoluzione omica, il sequenziamento del DNA e la condivisione dei genomi batterici

La scienze "omiche"¹⁵ raggruppano tutte quelle tecnologie che si basano su una visione olistica delle molecole che compongono una cellula, tessuto o organismo. L'aspetto fondamentale di questi approcci è che un sistema complesso può essere compreso più a fondo se considerato nel suo complesso con i flussi e le relazioni tra le diverse componenti.

Una delle tecniche di tipizzazione molecolare inserita tra le scienze "omiche" e paradigmatica della cosiddetta epoca della "rivoluzione genomica" è rappresentata dal sequenziamento di seconda generazione dell'rRNA, DNA o dell'intero genoma batterico, denominata *Next (or second) generation sequencing* (NGS) o *Whole genome sequencing* (WGS). Le sequenze possono essere disponibili per genomi interi o aree selezionate, quali specifici geni, sono univoche e possono essere facilmente catalogati e scambiati.

Il sequenziamento del DNA, sta gradualmente sostituendo i metodi convenzionali basati sui metodi fenotipici (coltura batterica e sierotipizzazione) e tipizzazione molecolare (PFGE)¹⁶. Diversamente dalla genotipizzazione batterica che possiede una risoluzione ridotta limitandosi a "interrogare" piccole regioni del

¹⁴ Muellner P, Zadoks RN, Perez AM, Spencer SE, Schukken YH, French NP. (2011). The integration of molecular tools into veterinary and spatial epidemiology. *Spatial and Spatio-temporal Epidemiology* 2(2011) 159-171.

¹⁵ Il suffisso "omica" viene generalmente utilizzato per indicare la totalità di quanto indicato nel prefisso (es. gen-omica, tutto sul genoma). Le tecnologie "omiche" si rivolgono principalmente alla rilevazione universale di geni (genomica), mRNA (trascrittomica), proteine (proteomica) e metaboliti (metabolomica) in un determinato campione biologico e possono anche essere indicate come biologia ad alta definizione. L'integrazione di queste tecnologie viene anche chiamata biologia dei sistemi.

¹⁶ Allard MW, Luo Y, Strain E, Li C, Keys CE, Son I, Stones R, Musser SM, Brown EW: *High resolution clustering of Salmonella enterica serovar Montevideo strains using a next-generation sequencing approach*. *BMC Genomics* 2012, 13:32.

genoma microbico¹⁷, il NGS possiede il vantaggio di produrre un'enorme quantità di dati. In alcuni casi riesce a produrre oltre un miliardo di letture per ciascuna applicazione strumentale a costi di gran lunga inferiori rispetto alle tecniche tradizionali. Si intuisce come la produzione di miliardi di letture rappresenta una sfida sia per l'infrastruttura della tecnologia dell'informazione esistente in termini di trasferimento di dati, memorizzazione e controllo di qualità, analisi computazionale (bioinformatica) per allineare o assemblare i dati prodotti, che per i sistemi di gestione delle informazioni dei laboratori, compresi la tracciabilità dei campioni e la gestione dei processi¹⁸.

La tecnica di sequenziamento del DNA consiste nella determinazione dell'ordine dei diversi nucleotidi (quindi delle quattro basi azotate che li differenziano, cioè adenina, citosina, guanina e timina) che costituiscono l'acido nucleico. Le informazioni sui genomi dei batterici patogeni, se opportunamente condivise dai laboratori clinici e di sanità pubblica attraverso piattaforme dedicate, consentono una rapida comparazione dei ceppi isolati in luoghi diversi, l'individuazione di focolai infettivi sporadici causati dallo stesso ceppo, una maggiore rapidità ed efficacia nelle attività di controllo dei focolai di infezione alimentare a carattere transnazionale e di precoce previsione delle epidemie emergenti^{19 20 21}.

Ci sono esempi di felice applicazione delle tecniche di sequenziamento alla epidemiologia veterinaria e sanità pubblica^{22 23 24}.

¹⁷ La tecnica NGS supera in termini di risoluzione quella di sottotipizzazione basata sempre sul sequenziamento del DNA utilizzata fino ad oggi e rappresentata dal DNA *microarray analysis*; *multi-locus sequence typing* (MLST) e *multi-locus-variable-number tandem repeat analysis* (MLVA).

¹⁸ Metzker ML. (2010). Sequencing technologies - the next generation. *Nat Rev Genet.* 2010 Jan;11(1):31-46.

¹⁹ Lienau EK, Strain E, Wang C, Zheng J, Ottesen AR, et al. (2011) Identification of a salmonellosis outbreak by means of molecular sequencing. *N Engl J Med* 364: 981-989.

²⁰ Aarestrup FM, Brown EW, Detter C, Gerner-Smidt P, Gilmour MW, Harmsen D, et al. Integrating genome-based informatics to modernize global disease monitoring, information sharing, and response. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2012 Nov.

²¹ Hoffmann M, Zhao S, Luo Y, Li C, Folster JP, Whichard J, Allard MW, Brown EW, McDermott PF: Genome sequences of five *Salmonella enterica* serovar Heidelberg isolates associated with a 2011 multistate outbreak in the United States. *J Bacteriol* 2012, 194(12):3274-3275.

²² Lienau EK, Strain E, Wang C, Zheng J, Ottesen AR, et al. (2011) Identification of a salmonellosis outbreak by means of molecular sequencing. *N Engl J Med* 364: 981-989.

In Nuova Zelanda nell'ambito delle indagini sui focolai di infezione umana da *Campylobacter spp.* e sulla base degli studi di attribuzione del rischio (contributo delle diverse matrici alimentari) perfezionati ulteriormente con gli studi di epidemiologia e di distribuzione spaziale dell'infezione, è stato possibile ricondurre l'infezione per il 58-80% al consumo di carni di pollo. Nello specifico l'utilizzo delle tecnologie molecolari ha consentito l'analisi della similarità dei ceppi isolati dalle diverse fonti (umana, animale); l'identificazione dei ceppi associati agli ospiti (bovino, pollame) e indagini sul collegamento dei diversi ceppi per l'individuazione delle sorgenti specifiche (clusters)²⁵. Ciò ha contribuito a concentrare le risorse su attività di controllo *risk-based* mirate a ridurre l'esposizione del consumatore attraverso la prevalente via alimentare.

La capacità di scambiare e gestire grandi quantità di dati del DNA utilizzando sistemi basati sul Web è aumentata in modo sorprendente negli ultimi anni. Ciò ha consentito la creazione di banche dati globali del DNA dei diversi ceppi batterici. Attualmente sono operative alcune reti globali specifiche per l'identificazione di agenti infettivi, quali il *Global Influenza Surveillance Network*²⁶ o il *PulseNet (USA)*²⁷ e *International*)²⁸ per la condivisione rapida di informazioni sui sottotipi genetici dei patogeni enterici.

²³ Janies DA, Treseder T, Alexandrov B, Habib F, Chen JJ, et al. (2011) The Supramap project: linking pathogen genomes with geography to fight emergent infectious diseases. *Cladistics* 27: 61-66.

²⁴ Elias J, Harmsen D, Claus H, Hellenbrand W, Frosch M, et al. (2006) Spatiotemporal analysis of invasive meningococcal disease, Germany. *Emerg Infect Dis* 12: 1689-1695.

²⁵ Mullner, P., Shadbolt, T., Collins-Emerson, J. M., Midwinter, A. C., Spencer, S.E.F., Marshall, J., Carter, P. E., Campbell, D.M., Wilson, D. J., Hathaway, S., Pirie, R., French, N. P. Molecular and spatial epidemiology of human campylobacteriosis - source association and genotype-related risk factors. *Epidemiology and Infection* 13(10):1372-1383, 2010.

²⁶ www.who.int/csr/disease/influenza/surveillance/en

²⁷ <http://www.cdc.gov/pulsenet/>. In USA dal 1996, grazie a *PulseNet* con la sua rete di 87 laboratori, è stato possibile ricollegare i casi di infezioni di origine alimentare (focolai locali e multi-stato), usando le *fingerprints* (impronte digitali) o DNA dei batteri ed attuare interventi preventivi rapidi ed efficaci.

²⁸ <http://www.cdc.gov/globalhealth/programs/pulsenet.htm>. La rete *PulseNet* internazionale sotto la guida del CDC di Atlanta e con i suoi 82 paesi membri e 126 laboratori, attua la sorveglianza molecolare delle infezioni a livello globale per le indagini di focolai di infezioni alimentari e consente il riconoscimento precoce di cluster di malattie trasmesse dagli alimenti che possono rappresentare focolai di origine comune.

Il tema del sequenziamento e condivisione dei genomi batterici e virali viene attualmente affrontato nell'ambito del progetto internazionale denominato *Global Microbial Identifier*²⁹, il cui principale obiettivo è la creazione di una piattaforma informatica (database) all'interno della quale vengono memorizzate le sequenze genomiche (WGS) di microrganismi patogeni (libreria genomica) utili per l'identificazione di geni rilevanti e per il confronto dei patogeni emergenti o responsabili di focolai infettivi³⁰. L'importanza della materia è dimostrata dall'interesse delle istituzioni europee³¹ e dell'EFSA³² allo sviluppo di tecniche di indagini molecolare tra cui il WGS che nell'ambito dei sistemi di *Early Warning Systems* comunitari consentono di individuare precocemente *clusters* e focolai di infezione alimentare causate dai maggiori agenti patogeni di origine alimentare come *Salmonella*, *Listeria*, *Escherichia coli* e *Campylobacter* e di prevenirne e ridurne l'impatto economico e sanitario. La tecnica di sequenziamento genomico è stata applicata con successo nel corso delle indagini epidemiologiche sul focolaio di colera in Haiti³³ consentendo la corretta individuazione della sorgente esterna (Nepal) dell'infezione, e sugli episodi di infezione alimentare causati da *E. coli* O104: H4 produttore di *shiga* tossine verificatesi in Germania nel 2011 e che hanno causato oltre 4.000 casi di infezione umana e più di 50 decessi. In questi ultimi episodi, l'analisi o tipizzazione molecolare ha confermato attraverso il *crowd-sourcing*³⁴ che i

ceppi del cluster tedesco e francese erano gli stessi e ciò ha permesso di identificare i germogli di fieno greco quale veicolo alimentare dell'infezione³⁵.

Il fatto più sorprendente è che oggi sfruttando le nuove tecnologie, per sequenziare il DNA occorrono solo sette giorni ed un *sequencer* del costo di 3.000 dollari capace di generare una quantità di dati 5-10 volte maggiore di quelli che si ottengono con il metodo tradizionale³⁶. E' molto probabile che nei prossimi dieci anni tutti i laboratori di microbiologia clinica disporranno di un sequenziatore di DNA e il genoma batterico potrà essere sequenziato (estrazione e sequenza genomica) con meno di 100 euro e in un tempo di qualche ora^{37 38}.



²⁹ <http://www.globalmicrobialidentifier.org/>.

³⁰ <http://www.globalmicrobialidentifier.org/About-GMI>.

³¹ European Commission. Vision paper on the development of data bases for molecular testing of foodborne pathogens in view of outbreak preparedness. http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/salmonella/docs/vision-paper_en.pdf.

³² Efsa Scientific Colloquium Summary Report. 2014. Use of Whole Genome Sequencing (WGS) of food-borne pathogens for public health protection (<http://www.efsa.europa.eu/it/supporting/doc/743e.pdf>).

³³ Mark Eppinger e coll. Genomic Epidemiology of the Haitian Cholera Outbreak: a Single Introduction Followed by Rapid, Extensive, and Continued Spread Characterized the Onset of the Epidemic. *American Society for Microbiology, mBio*. Disponibile online: <http://mbio.asm.org/content/5/6/e01721-14.full>.

³⁴ Il *crowdsourcing* (da *crowd*, "folla", e *outsourcing*, "esternalizzazione di una parte delle proprie attività") è un modello di business nel quale un'azienda o un'istituzione affida la progettazione, la realizzazione o lo sviluppo di un progetto, oggetto o idea a un insieme indefinito di persone non organizzate. Questo processo viene favorito dagli strumenti che mette a disposizione il web. Solitamente il meccanismo delle *open call* viene

3.1 La rivoluzione genomica

La rivoluzione genomica è stata resa possibile grazie alla crescita esponenziale delle capacità di

reso disponibile attraverso dei portali presenti sulla rete internet (da Wikipedia).

³⁵ Mellmann A, Harmsen D, Cummings CA, Zentz EB, Leopold SR, Rico A. Prospective genomic characterization of the German enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 outbreak by rapid next generation sequencing technology. *PLoS ONE*. 2011;6:e22751.

³⁶ Vive la Genomic Revolution. A contribution by Kim Halpin. <http://www.cvm.umn.edu/academic-departments/vpm/stemma/mEpiWorks/dyk/>.

³⁷ Danish Technical University. National Food Institute. Perspectives of a global, real-time microbiological genomic identification system-implications for national and global detection and control of infectious diseases Consensus report of an expert meeting 1-2 September 2011, Bruxelles, Belgium.

³⁸ Köser CU, Ellington MJ, Cartwright EJ, Gillespie SH, Brown NM, Farrington M, Holden MT, Dougan G, Bentley SD, Parkhill J and Peacock SJ, 2012. Routine use of microbial whole genome sequencing in diagnostic and public health microbiology. *Plos Pathogens*, 8, e1002824.

sequenziamento del DNA e allo sviluppo di software analitici (bioinformatica) in un contesto di democratizzazione e condivisione delle informazioni biologiche attraverso piattaforme facilmente accessibili alla vasta comunità scientifica. Per sequenziare l'intero genoma umano e generare 21 Giga di sequenze di coppie di basi ci sono voluti tredici anni, migliaia di sequenziatori e una spesa di due miliardi di dollari³⁹. Il Progetto Genoma Umano è stato completato da più di un decennio⁴⁰, tuttavia un'ulteriore sfida è rappresentata dalla conoscenza delle informazioni genomiche che guidano l'espressione genica nello spazio e nel tempo all'interno delle cellule, in linea con l'approccio secondo cui "la struttura determina la funzione". Nei sistemi biologici, questo approccio essenziale per comprendere le leggi della natura, si applica non solo alle molecole organiche come RNA e proteine, ma anche ai livelli superiori che comprendono macromolecole, cromosomi e l'intero genoma. Una frontiera emergente delle ricerche genomiche è rappresentata dall'indagine (ricostruzione) tridimensionale (3D) della struttura del genoma⁴¹. Il sequenziamento del DNA e lo studio delle modalità (non random) attraverso cui le due emieliche si dispongono sono essenziali per comprendere come la trascrizione genica e le altre funzioni cellulari sono regolati nello spazio 3D del nucleo cellulare⁴². Studi recenti hanno dimostrato come molti esaltatori (*enhancers*)⁴³ interagiscono con i loro geni bersaglio o con un gran numero di geni topologicamente organizzati in complessi multi-gene, intesi come fabbriche di trascrizione per la regolazione coordinata e spaziale della trascrizione. Gli studi nel campo della genomica

3D richiedono naturalmente approcci sistemici e interdisciplinari tra cui il sequenziamento di nuova generazione, la biologia computazionale e le tecniche di *imaging*.

Recentemente i ricercatori della *National Cancer Institute* (NCI-US), utilizzando una nuova tecnologia di *imaging* su larga scala (HIPMap-*High throughput Imaging Position Mapping*), hanno mappato la posizione spaziale dei singoli geni nel nucleo delle cellule umane e identificato 50 fattori cellulari necessari per il corretto posizionamento tridimensionale dei geni⁴⁴. Queste posizioni spaziali svolgono un ruolo importante nella espressione genica, per la riparazione del DNA, stabilità del genoma e altre attività cellulari. La tecnica HIPMap dei geni offre interessanti opportunità di studio della biologia del cancro. E' stata infatti già applicata in un gran numero di campioni e di cellule per rilevare alcuni rarissimi eventi di traslocazione cromosomica⁴⁵ alla base di alcuni tumori e per conoscere i fattori cellulari che determinano la rottura dei cromosomi⁴⁶. In un ulteriore e più recente studio altri ricercatori del NCI hanno utilizzato un metodo derivato da HIPMap per sondare i meccanismi che contribuiscono alla suscettibilità di rottura dei cromosomi con la formazione di una traslocazione cancerogena tra i geni NPM1 e ALK nella forma tumorale conosciuta come linfoma anaplastico a grandi cellule⁴⁷. Un'altra possibile applicazione della tecnica HIPMap è nella diagnostica del cancro. Infatti le posizioni 3D di geni potrebbero essere usate come marcatori diagnostici in malattie come il cancro del seno e il cancro della prostata.

³⁹ <http://www.genome.gov/12011238>.

⁴⁰ L'*International Human Genome Sequencing* pubblica la prima bozza del genoma umano sulla rivista *Nature* nel febbraio 2001, con la sequenza di tre miliardi di paia di basi di tutto il genoma, circa il 90%.

⁴¹ Rao SS et al. A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping. *Cell*. 2014 Dec 18;159(7):1665-80.

⁴² Il test denominato Hi-C di cattura della conformazione dell'intero genoma, abbinato a alla tecnica di sequenziamento è emerso come una tecnica promettente per lo studio della struttura globale del DNA a diverse risoluzioni. L'Hi-C ha aperto nuove strade per comprendere molti processi biologici, tra cui la regolazione genica, la replicazione del DNA e i cambiamenti epigenetici.

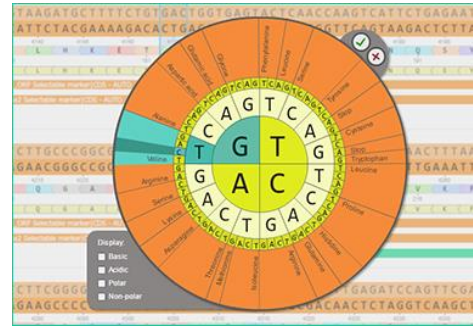
⁴³ Gli *enhancers* sono sequenze nucleotidiche del DNA che svolgono il loro ruolo pro-trascrizione attraverso l'associazione con diverse proteine, tra cui diversi fattori coinvolti nell'avvio della trascrizione stessa ed esplicano la loro funzione aumentando notevolmente (fino a 200 volte) la frequenza di trascrizione del gene che controllano.

⁴⁴ Shachar S, Voss TC, Pegoraro G, Sciascia N, Misteli T. Identification of Gene Positioning Factors Using High-throughput Imaging Mapping. *Cell*. August 13, 2015. DOI: 10.1016/j.cell.2015.07.035

⁴⁵ La rottura e il riattacco del cromosoma durante le traslocazioni possono causare la fusione di geni altrimenti non collegati, con conseguente geni ibridi i cui prodotti (le proteine) possono contribuire allo sviluppo del cancro.

⁴⁶ National Cancer Institute, August 13, 2015.

⁴⁷ Bharat Burman, Zhuzhu Z. Zhang, Gianluca Pegoraro, Jason D. Lieb, and Tom Misteli. Histone modifications predispose genome regions to breakage and trans location. *Genes and Development*. July 1, 2015.



3.2 La progettazione e la sintesi del DNA

Attualmente il costo della scrittura del DNA è di circa 25 centesimi di dollari per ogni coppia di basi. Per sintetizzare il genoma di *E. coli* (un genoma relativamente piccolo di 4,6 milioni di coppie di basi) occorrerebbe un milione di dollari, un costo improponibile per un laboratorio. E' anche vero però che il costo della scrittura o sintesi del DNA negli ultimi dieci anni, analogamente a quanto è avvenuto con la sua lettura o sequenziamento, ha visto un decremento esponenziale superando anche la legge di Moore⁴⁸. Si prevede che in un prossimo futuro, il costo della sintesi diminuirà a livelli sicuramente accessibili da parte di tutti i laboratori. Attualmente con un nuovo software denominato *Genome Compiler*⁴⁹ scaricabile gratuitamente, è possibile progettare online un genoma. Il software converte le varie parti di una sequenza di DNA in icone facili da manipolare nel desktop del proprio pc o Ipad. La sequenza di DNA di nuova costruzione può essere condivisa con altri utilizzatori e, con un clic, inviato per la sintesi. Di recente *Genome Compiler Corp*⁵⁰, la società che produce il software, ha stipulato un accordo di collaborazione con Amyris⁵¹, società di bioscienze industriali, per integrare i servizi di laboratorio automatizzati di Amyris con il software *Genome Compiler* e per sviluppare una piattaforma *e-commerce* attraverso cui gli utenti possono progettare e ordinare DNA o altri prodotti biologici senza soluzione di continuità.

Non sorprende come oggi la biologia sintetica⁵² (es. produzione di proteine senza ricorrere alla lisi delle cellule o sintesi automatizzata di molecole di DNA e loro assemblaggio in geni e genomi microbici) e molecolare riescano a superare i rigidi confini dei laboratori di ricerca ed entrare negli ambienti domestici o spazi privati grazie alla possibilità di utilizzo *open source* di software analitici ed apparecchiature dai costi bassissimi. Ad esempio in alternativa alla tradizionale apparecchiatura per PCR (essenziale in biologia per amplificare le sequenze di DNA e RNA) del costo di circa 3.000 dollari, dal 2011, grazie a due ricercatori di San Francisco, è possibile ordinare on-line lo strumento *open source* denominato *Open PCR Machine* per 600 dollari, sotto forma di un kit contenente i diversi elementi⁵³ ⁵⁴. Naturalmente questi nuovi processi definiti di domesticazione e democratizzazione della biologia sono al centro di dibattiti circa i confini, la socialità e l'etica della biologia e la stessa biologia sintetica pone inevitabilmente nuovi interrogativi sulle conseguenze politiche e morali delle cosiddetta *open science*⁵⁵ o delle sperimentazioni

⁴⁸ La Legge di Moore descrive una tendenza a lungo termine nel settore dell'hardware che prevede il raddoppio della 'potenza di calcolo' ogni due anni.

⁴⁹ www.genomecompiler.com

⁵⁰ <http://www.genomecompiler.com/>

⁵¹ <https://amyris.com/>

⁵² La Biologia sintetica (*Synbio*) si propone di progettare sistemi biologici che non esistono in natura. I biologi sintetici utilizzano principi di ingegneria e principi esistenti di re-design per meglio comprendere i processi vitali e con l'obiettivo di generare ed assemblare componenti modulari funzionali per lo sviluppo di nuove applicazioni e processi come la vita sintetica, le cellule o i genomi (European Commission. Scientific Committee on Health and Environmental Risks (SCHER); Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR); Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS). *Opinion on Synthetic Biology I*. Definition. 2014).

⁵³ Morgan Meyer. Domesticating and democratizing science: a geography of do-it-yourself biology. *Journal of Material Culture*. June 2013 18: 117-134. http://www.i-3.fr/wp-content/uploads/2013/02/I3WP_13-MS-04.pdf.

⁵⁴ <http://openpcr.org/>

⁵⁵ Mick Watson. When will 'open science' become simply 'science'? *Genome Biology* (2015) 16:101. <http://genomebiology.com/content/pdf/s13059-015-0669-2.pdf>.

condotte al di fuori di ambienti accademici o istituzionali⁵⁶.

3.3 Importanza dei sistemi informatici, della epidemiologia spaziale e degli strumenti di data mining

Per effetto dello sviluppo potenziale delle tecnologie informatiche e della elevatissime velocità di analisi ed elaborazione dei computer⁵⁷, le attività di raccolta dei dati tramite database e sistemi di catalogazione, e la loro interrogazione analisi ed elaborazione, si sono notevolmente ampliate raggiungendo un livello inimmaginabile sino a qualche anno fa. Si pensi solo alla possibilità degli attuali computer portatili di raggiungere 3 GHz, con una velocità circa 1000 volte maggiore del desktop dei computer di 30 anni fa. A ciò si aggiunge la sorprendente combinazione di tali sistemi con quelli di informazione geografica (GIS- *Geographic information system*)⁵⁸ e di posizionamento geografico (GPS)⁵⁹ all'interno dei cosiddetti software spazio-temporali. I progressi nel software statistico-spaziale hanno contribuito al potenziamento dell'epidemiologia spaziale e consentito agli epidemiologi di effettuare sofisticate analisi spaziali e di avere un approccio quantitativo nello studio dei modelli di diffusione delle infezioni. Oggi gli epidemiologi sono in grado di integrare la loro esperienza analitica con previsioni computazionali e di utilizzare l'epidemiologia spaziale per le indagini sui focolai

infettivi, per la sorveglianza, verifica di ipotesi e follow-up⁶⁰.

Attualmente il mercato offre decine di software sottoforma di potenti toolkit comprensivi di strumenti statistici e GIS in grado di soddisfare tutte le esigenze di un epidemiologo per lo svolgimento delle analisi di epidemiologia spazio-temporale

Tra i software di statistiche territoriali si possono citare i seguenti: ArConnect (ESRI, Redlands, CA)⁶¹ e Head-Bang for ArcMap (National Cancer Institute di Bethesda, MD, USA)⁶². Inoltre, diversi pacchetti GIS sono *open source* come il GRASS (*Geographic Resources Analysis Support System*) appartenente alla Open Source Geospatial Foundation fondazione (OSGeo), Beaverton, OR)⁶³; Quantum GIS⁶⁴; ILWIS (ILWIS-Remote Sensing and GIS software Integrated Land and Water Information System, ITC, Enschede, Paesi Bassi)⁶⁵ e SAGA (System for Automated Geoscientific Analyses, Università di Amburgo)⁶⁶.

Se l'applicazione dei sistemi GIS ha riguardato fino ad oggi prevalentemente la sanità pubblica⁶⁷,

⁶⁰ Carpenter, T.E. The spatial epidemiologic (r)evolution: A look back in time and forward to the future. *Spatial and Spatio-temporal Epidemiology*. Volume 2, Issue 3, September 2011, Pages 119-124.

⁶¹ www.esri.com/

⁶² Il NCI ha sviluppato e finanziato diversi strumenti per facilitare l'analisi e la visualizzazione di dati geografici. Alcuni di questi sono attualmente disponibili per il download gratuito: ArcMap - una serie di plug-in per il software ArcMap™, parte della suite Esri ArcGIS Desktop; - Micromaps Linked- un programma di grafica che permette agli utenti di confrontare le statistiche tra le regioni geografiche e tempo; Health disparity calculator: (HD*Calc) - software statistico progettato per valutare e monitorare le disparità sanitarie; SaTScan - software che analizza dati spaziali, temporali e spazio-temporali utilizzando le relative statistiche.

⁶³ Il software GRASS GIS (<https://grass.osgeo.org/>) viene utilizzato attualmente in tutto il mondo in ambienti accademici e commerciali, da agenzie governative e società di consulenza ambientale per la gestione dei dati geo-spaziali e per l'analisi, elaborazione di immagini, grafica, produzione di mappe, modellazione spaziale e visualizzazione.

⁶⁴ www.qgis.org.

⁶⁵ <http://www.itc.nl/>

⁶⁶

http://live.osgeo.org/it/overview/saga_overview.html.

⁶⁷ Lo scopo della modellazione spaziale in sanità pubblica (e animale) è triplice: descrivere i modelli spaziali di rischio, cercando di capire i meccanismi biologici che portano all'insorgenza della malattia e prevedere cosa accadrà nel futuro a medio-lungo termine (previsione temporale) o in diverse aree geografiche (previsione spaziale). I metodi tradizionali per le previsioni spazio-temporali comprendono i modelli lineari generali e generalizzati (GLM), i modelli generalizzati additivi (GAM) e i metodi

⁵⁶ Virgil Rerimassie & Dirk Stemerding. SynBio Politics. Bringing synthetic biology into debate. Rathenau Instituut, The Hague 2014. http://www.rathenau.nl/uploads/tx_tferathenau/Report_SynBio_Politics_Rathenau_01.pdf.

⁵⁷ Ray Kurzweil (<http://www.kurzweilai.net/>), guru statunitense di singolarità, transumanesimo e intelligenza artificiale, sostiene che le macchine saranno in grado di superare il test di Turing (criterio per determinare se una macchina è in grado di pensare) entro il 2029 e che entro il 2045 i computer avranno un'intelligenza miliardi di volte superiore a quella di tutti i cervelli presenti sulla terra.

⁵⁸ Un sistema di informazione geografica (GIS) è costituito da un sistema di hardware, software e dati integrati in grado di catturare, gestire, analizzare e visualizzare diversi tipi di informazioni geografiche.

⁵⁹ Il GPS consente la raccolta di informazioni spaziali e di posizione utili negli studi di epidemiologia spaziale.

poche sono le esperienze per la valutazione dei rischi nei sistemi complessi come quello della distribuzione delle derrate alimentari. Con l'uso dei sistemi di GIS nella epidemiologia spaziale oggi è possibile mappare, visualizzare e analizzare la distribuzione spazio-temporale dei rischi sanitari compresi quelli di sicurezza alimentare. In un recente studio di analisi spazio-temporale condotto in Canada, il GIS è stato utilizzato per mappare il sistema di distribuzione di prodotti alimentari (es. vegetali confezionati); analizzare il livello di accessibilità al prodotto contaminato da parte dei consumatori a livello nazionale e stimare il livello di rischio associato a un probabile evento di contaminazione nel tempo⁶⁸. Questa applicazione ha permesso di generare i fusi orari dei trasporti attraverso l'analisi della rete stradale su scala nazionale e fornire un indice di rischio dinamico per tradurre nel tempo un evento di contaminazione in un rischio per la salute pubblica.

Se, come anticipato in premessa, la sicurezza alimentare sta diventando un problema di tecnologia dell'informazione occorre disporre sempre più di strumenti in grado di interrogare database sempre più vasti e complessi e analizzare e prevedere le associazioni tra elementi, soggetti entità che compongono le reti. Due tecniche che offrono queste possibilità e che possono essere utilizzate anche in combinazione sono riferibili alla *Network Analysis* (NA) e *data mining*.

La NA utilizza metodi di analisi matematica (algoritmi) per la conoscenza della dinamica di sviluppo e mantenimento delle reti caratterizzate da un'estrema complessità e per la messa in campo di interventi di controllo proattivi. E' stata applicata con successo nello studio delle reti delle cellule terroristiche⁶⁹, in criminologia, per studiare la dinamica di trasmissione delle

infezioni⁷⁰ o le interazioni proteina-proteina^{71 72}. L'analisi delle reti risulta utile quando un certo numero di soggetti o entità interagiscono attraverso reti complesse, che possono essere catturate utilizzando algoritmi simili a quelli incorporati nei motori di ricerca in internet per trovare rapidamente i siti web. Una recente esperienza di applicazione della NA alla sicurezza alimentare, in particolare allo studio delle reti del commercio internazionale degli alimenti con un focus sul sistema di allerta comunitario RASFF⁷³, ha dimostrato indubbi vantaggi consistenti nella possibilità di comunicare eventi emergenziali, analizzare i trend delle allerte alimentari su scala globale; analizzare in tempo 'reale' i dati su scala globale tramite i collegamenti con le banche dati esistenti sia private che di uffici governativi, per individuare incidenti emergenti su base giornaliera/settimanale⁷⁴. Un esempio dell'output della NA applicata al sistema RASFF viene fornito nella figura 3.

di stima bayesiana. Altri metodi, come ad esempio l'analisi decisionale multi-criterio (MCDA), utilizzano la conoscenza dei fattori causali di insorgenza della malattia per identificare le aree potenzialmente adatte allo sviluppo della malattia (da: Kim B. Stevens and Dirk U. Pfeiffer. 2011. Spatial modelling of disease using data- and knowledge-driven approaches. *Spatial and Spatio-temporal Epidemiology* 2 (2011) 125–133).

⁶⁸ Leila Hashemi Beni, Sébastien Villeneuve, Denyse I. LeBlanc, Kevin Côté, Aamir Fazil, Ainsley Otten, Robin McKellar, Pascal Delaquis. Spatio-temporal assessment of food safety risks in Canadian food distribution systems using GIS *Spatial and Spatio-temporal Epidemiology*, Volume 3, Issue 3, September 2012, Pages 215-223.

⁶⁹ Sarita Azad and Arvind Gupta. (2008). A Quantitative Assessment on 26/11 Mumbai Attack using Social Network Analysis. *Journal Of Terrorism Research*. Volume 2, Issue 2.

⁷⁰ Rothenberg RB, Potterat JJ, Woodhouse DE, Muth SQ, Darrow WW, Klovdahl AS. Social network dynamics and HIV transmission. *AIDS*. 1998 Aug 20;12(12):1529-36.

⁷¹ Nazar Zaki, Dmitry Efimov and Jose Berengueres (2013). Protein complex detection using interaction reliability assessment and weighted clustering coefficient. *BMC Bioinformatics* 2013, 14:163.

⁷² Nepusz T, Yu H, Paccanaro A: Detecting overlapping protein complexes in protein-protein interaction networks. *Nat Methods* 2012, 9:471-472.

⁷³ Applicato al sistema RASFF, la *Network analysis* si basa su un rapporto significativo tra due nodi (ad esempio, paesi o fornitori) con connessioni aventi pesi diversi (ad esempio numero di notifiche o allerte e intensità degli scambi commerciali).

⁷⁴ Nepusz, T., Petroczi, A., Naughton, D.P. (2012). Interactive network analytical tool for instantaneous bespoke interrogation of food safety notifications. *PLoS ONE*, 7(4):e35652.

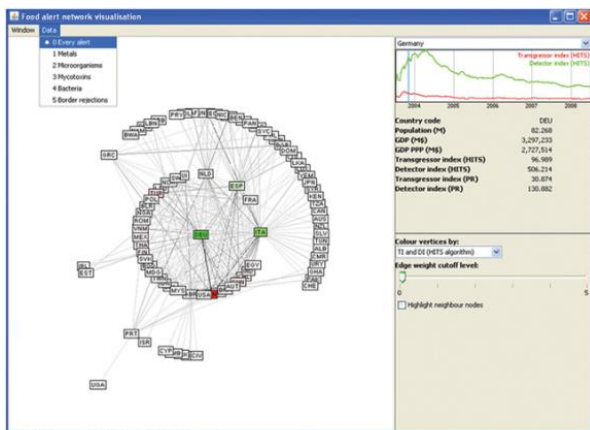


Fig. 3- Il software NA consente di selezionare il tipo di notifica (in alto a sinistra) e la rete nella quale le nazioni che lanciano le allerte sono segnate in verde mentre i paesi trasgressori in rosso. La linea temporale mostra i trend di rilevamento (verde) e delle trasgressioni (rosso) per la nazione che è stata selezionata. La nazione di interesse può essere selezionata facendo clic sulla sua etichetta nella rete o tramite il menu a tendina situata al di sopra della linea di tendenza.

La NA è stata applicata anche allo studio della rete commerciale internazionale agro-alimentare⁷⁵. Partendo dal database *ComTrade* sviluppato dalle Nazioni Unite⁷⁶, un gruppo di ricercatori ha analizzato la struttura e la dinamica delle rete negli ultimi dieci anni e mostrato come essa, con i suoi snodi e relazioni che rappresentano i paesi e i flussi di import-export, si sia evoluta in una rete complessa e molto eterogenea, dove solo sette paesi formano il *core* della rete e hanno una posizione strategica commerciale con il 77% dei paesi del mondo. Gli stessi ricercatori, utilizzando la analisi grafiche teoriche e i modelli di flusso dinamici delle derrate alimentari, hanno dimostrato come la rete rappresenti un veicolo adatto per la distribuzione rapida di potenziali contaminanti, ma inadatto per rintracciare la loro origine. In particolare l'importanza della posizione nella rete di alcuni paesi e la vulnerabilità delle derrate alimentari oggetto di scambi commerciali possono essere ben correlate ai focolai di intossicazione alimentare di grandi dimensioni occorsi negli ultimi anni, compreso l'episodio di *E. Coli* avvenuto in Germania nel 2011, per il quale si sono registrati ritardi di tre settimane prima della identificazione dell'origine della contaminazione.

Oggi sono disponibili in *open source* diverse applicazioni per la NA. Il Gephi⁷⁷, ad esempio,

⁷⁵ Vedi nota 1.

⁷⁶ ComTrade Website. Disponibile su: <http://comtrade.un.org/db/>. Nov, 30.

⁷⁷ <http://gephi.github.io/>

fornisce una visualizzazione interattiva e una piattaforma esplorativa per reti e sistemi complessi con grafici dinamici e gerarchici; un software simile è Pajek⁷⁸ utilizzato per estese analisi delle reti e relativa visualizzazione; infine il CFinder⁷⁹, un software gratuito per individuare e visualizzare gruppi di nodi sovrapposti all'interno delle reti.

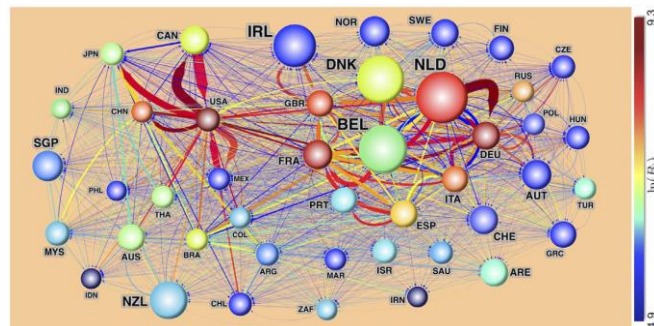


Fig. 4- La struttura delle rete internazionale commerciale degli alimenti basata sui dati del 2007. Si notano i maggiori nodi commerciali in termini di scambio (import-export) da Maria Ercesey e coll. 2012.

Le tecniche di *data mining*⁸⁰, assimilate alla scienza dell'informatica, vengono utilizzate in settori diversi che vanno dalla finanza, alla medicina (genetica, farmaceutica) alla epidemiologia (infezione, nutrizione). Applicate alla sicurezza alimentare vengono generalmente utilizzate per conoscere e stabilire relazioni e dipendenze tra i dati all'interno di database di grandi dimensioni anche in chiave preventiva nell'ambito dei sistemi di allerta, a partire da analisi matematiche e utilizzando algoritmi⁸¹.

Il *data mining* prevede l'utilizzo di strumenti di bioinformatica in grado di combinare i dati biologici mediante strumenti di calcolo e metodi statistici allo scopo di analizzare, sintetizzare e

⁷⁸ <http://mrvar.fdv.uni-lj.si/pajek/>

⁷⁹ <http://cfinder.org/>

⁸⁰ Il *data mining* è l'insieme di tecniche e metodologie che hanno per oggetto l'acquisizione di una conoscenza a partire da grandi quantità di dati (attraverso metodi automatici o semi-automatici) e l'utilizzo scientifico, industriale o operativo di questo sapere. Diversamente dalla statistica il *data mining* viene utilizzato per cercare correlazioni tra più variabili relativamente ai singoli individui (da Wikipedia). Secondo Simoudis rappresenta un processo di estrazione di informazioni valide, precedentemente sconosciute, ma comprensibile e fruibile, a partire da grandi database, e loro utilizzo per il processo decisionale (Simoudis, E., Reality Check for Data Mining. IEEE EXPERT, 1996. 11(5): p. 26-33)

⁸¹ Adrie J.M. Beulens¹ e coll. Possibilities for Applying Data Mining for Early Warning in Food Supply Networks (http://www.iiasa.ac.at/~marek/ftppub/Pubs/csm06/beulens_pap.pdf).

trasformare i dati in informazioni utili per migliorare la sicurezza alimentare.

Oggi sono disponibili in *open source* numerosi software per il *data mining* per le applicazioni più diverse, quali il Weka⁸²; il RapidMiner⁸³, per dati e testi ed il KNIME⁸⁴ per l'integrazione dei dati, elaborazione, analisi ed esplorazione delle piattaforme.

In un recente lavoro americano, il *data mining* è stato utilizzato per studiare l'ecologia, l'epidemiologia, la trasmissione e l'evoluzione dei sierotipi emergenti di *Salmonella*. In particolare è stato applicato a uno dei più vasti database del mondo gestito dal CDC di Atlanta nell'ambito del rete di sorveglianza molecolare *PulsNet* (<http://www.cdc.gov/pulsnet>), contenente più di 500 sierotipi di *Salmonella* (con le relative 350.000 bande) isolati dal 1996 e ottenute con il metodo di PFGE, attualmente il più utilizzato per caratterizzare i ceppi di *Salmonella* isolati da focolai. Lo studio ha utilizzato un nuovo pacchetto software di *data mining* denominato *Bacterial Pathogen knowledgebase* (BACPACK) comprensivo di cinque programmi di bioinformatica (PFGE *band standardization*, *Salmonella serotype prediction*, *hierarchical cluster analysis*, *distance matrix analysis* e *two-way hierarchical cluster analysis*) in grado di analizzare e visualizzare i *fingerprinting* degli isolati di *Salmonella*, analizzare l'epidemiologia e la diversità genetica del patogeno e contribuire alla caratterizzazione e sorveglianza dei ceppi isolati nel corso delle indagini sui focolai di tossinfezione alimentare⁸⁵.

II Parte

4 *La Veterinaria Pubblica, i rischi emergenti della catena alimentare e gli scenari futuri*

Per le considerazioni svolte nella prima parte di questo lavoro e con riferimento all'incessante processo di globalizzazione dei mercati, oggi il rischio (intendendo con ciò qualsiasi evento,

⁸² <http://www.cs.waikato.ac.nz/ml/weka/>

⁸³ <https://rapidminer.com/>

⁸⁴ <http://www.knime.org/>

⁸⁵ Wen Zou e coll. Data mining tools for *Salmonella* characterization: application to gel-based fingerprinting analysis. *BMC Bioinformatics* 2013, 14(Suppl 14):S15.

economico, tecnologico, sociale, ambientale e geopolitico) viene ad assumere un carattere globale o sistemico. Prendendo in prestito la definizione dal settore bancario-finanziario, si parla di rischio sistemico quando lo stesso, seppure estremamente localizzato nella sua origine, riesce a produrre un impatto negativo significativo su una vasta area territoriale nel corso di un lasso di tempo fino a dieci anni ⁸⁶.

I fattori sopradescritti (clima, rete di flussi commerciali, aumento della popolazione mondiale, incremento della produzione alimentare ecc.) possono esse ritenuti, in modo più o meno diretto e con un diverso peso, importanti *driver* che condizionano l'emergenza e la diffusione dei contaminanti nelle catene alimentari. Si stima che un terzo di tutte le infezioni umane riconoscono come serbatoio il mondo animale e che tale associazione sia aumentata costantemente negli ultimi 40 anni ⁸⁷. I dati epidemiologici ci dicono che negli ultimi due decenni il 75% delle malattie emergenti sono state zoonosi (infezioni che si trasmettono dagli animali all'uomo)⁸⁸ soprattutto legate agli animali selvatici e il rischio di infezioni zoonosiche aumenterà in futuro. A riguardo in Europa la prevalenza di infezione umana da *Campylobacter*, trasmessa principalmente dal consumo di carni avicole, è aumentata in modo costante dal 2006 ad oggi con più di 200.000 focolai notificati nel 2013⁸⁹. Parlando di rischio alimentare due fenomeni meritano una particolare attenzione. Uno è legato al commercio di carni di animali selvatici, incrementato dall'intensificazione degli scambi commerciali e dei mercati e associato alla diffusione di patogeni. Ricerche recenti stimano che circa 270 tonnellate di carni illegali di animali selvatici potenzialmente contaminate, possono sfuggire ai controlli effettuati presso un singolo aeroporto in Europa⁹⁰. L'altro è il fenomeno dell'antibiotico-resistenza (meccanismo che rende

⁸⁶ Kaufman, G. G. and K. E. Scott. 2003. What Is Systemic Risk, and Do Bank Regulators Retard or Contribute to It? *Independent Review* 7 (3): 371–391. See quote on p. 371.

⁸⁷ IDS, Zoonosis-From Panic to Planning, Rapid Response briefing, Institute of Development Studies, 2013.

⁸⁸ Blancou J. et al. Emerging or re-emerging bacterial zoonoses: factors of emergence, surveillance and control. *Veterinary Research*. 2005;36:507–522.

⁸⁹ EFSA. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. *EFSA Journal* 2015;13(1):3991 [165 pp.].

⁹⁰ Foresight. The Future of Food and farming (2011). Final project report. The Government Office for Science. London.

i batteri patogeni o commensali resistenti ai farmaci normalmente utilizzati per combattere le infezioni animali e umane), che sta emergendo come una grave minaccia per la sanità moderna. La perdita di efficacia degli antibiotici è considerata un evento allarmante e irreversibile al pari del riscaldamento globale e di altre minacce ambientali (*The World Economic Forum. Global Risks Report 2014, Ninth Edition*)⁹¹.

In questo scenario in costante evoluzione, il problema della sicurezza dei sistemi di produzione e commercializzazione degli alimenti è divenuto una priorità dell'agenda politica in quanto associato a livelli crescente di preoccupazione delle autorità sanitarie e al centro dell'attenzione dei consumatori, industria e associazioni professionali e di settore. Ai veterinari pubblici, anche in considerazione dell'importanza del rischio di infezione umana causato dal consumo di alimenti di origine animale, viene riconosciuto un ruolo chiave in sanità pubblica per la tutela sanitaria delle produzioni alimentari e per la sicurezza dei consumatori attraverso le attività di controllo ufficiale e prevenzione del rischio delle relative filiere zootecniche. Le preoccupazioni dei consumatori per i nuovi rischi sanitari legati agli alimenti, in particolare i rischi chimici (residui di pesticidi e antibiotici)⁹² e quelli legati ai processi biotecnologici e la conseguente perdita di fiducia nei sistemi di controllo più volte documentati da indagini condotte a livello comunitario, devono spingere a definire nuove competenze e criteri gestionali per l'attività di controllo e prevenzione che i Servizi Veterinari Pubblici sono tenuti a garantire. Parte di questa evoluzione emerge dal nuovo quadro normativo comunitario che assegna alle Autorità competenti degli Stati membri il compito di definire una più efficace *governance* attraverso una impostazione più scientifica dei piani dei controlli e la formulazione di strategie sanitarie di prevenzione e controllo dei rischi alimentari basati sui risultati della valutazione del rischio e sulla conoscenza della distribuzione dei fattori di rischio nei diversi e complicati passaggi della filiera alimentare.

La capacità di prevedere scenari futuri (*foresight*), minacciati da nuovi rischi in grado di condizionare la sicurezza, la qualità e la

disponibilità della produzione agro-alimentare, dipende dalla conoscenza, analisi e monitoraggio dei *driver* o fattori di cambiamento necessari per attribuire un connotazione maggiormente strategica alla pianificazione pluriennale delle attività di controllo ufficiale. I rischi emergenti o i rischi sistemici derivanti dal processo di globalizzazione e che minacciano la sicurezza delle filiere alimentari possono essere gestiti in modo efficace solo adottando una metodologia ispettiva *science-based* o scientificamente impostata e con alto valore predittivo, in combinazione con i nuovi sistemi informatici per lo scambio rapido di informazioni secondo un modello di integrazione interprofessionale. La Sanità pubblica veterinaria, al netto del superamento dello squilibrio professionale generazionale, dovrà dotarsi di nuove competenze, di nuovi modelli organizzativo-gestionali, di nuove modalità di integrazione che superino l'attuale organizzazione all'interno del Servizio sanitario nazionale secondo una logica di innovazione del sistema *future-oriented*.

La tabella che segue riassume alcuni *driver* ritenuti rilevanti per la sicurezza degli alimenti, per la sostenibilità della produzione agro-alimentare futura, per i futuri assetti legislativi e sistemi di controllo ufficiale, gli *scenari futuri* e le relative *sfide*. Alcuni di essi sono contenuti in un documento di analisi dello scenario promosso di recente dalla Commissione Europea e finalizzato alla individuazione delle sfide future che richiederanno l'adeguamento delle politiche comunitarie per la sicurezza e qualità degli alimenti negli anni a venire⁹³. I risultati di tale documento indicano come sulla base dell'analisi dei *driver*, dei seminari di esperti e dei sondaggi tra gli *stakeholder*, diverse conclusioni *cross-cutting* o trasversali possono essere applicate ai diversi scenari (vedi tabella).

⁹¹http://www3.weforum.org/docs/WEF_GlobalRisks_Report_2014.pdf. The World Economic Forum. Global Risks Report 2013.

⁹² European Commission. Special Eurobarometer 354. Food-related risks 2010. <http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/assets/reporten.pdf>.

⁹³ European Commission Directorate General for Health and Consumers. Scoping study. Delivering on EU food safety and nutrition in 2050 - Scenarios of future change and policy responses. Final Report. 2013

Drivers	Scenario	Sfide
Economia e commercio globale & strutture delle nuove filiere alimentari	Incremento del commercio globale di alimenti e mangimi, concentrazione delle industrie agro-alimentari	Assicurare alimenti sicuri e di qualità in presenza di sistemi di distribuzione complessi e globalizzati.
Cooperazione globale, standard	Rottura della cooperazione globale in un mondo multi polare.	Assicurare alimenti sicuri e di qualità in un mondo multipolare caratterizzato da sistemi alimentari frammentati e dispersi dal punto di vista geografico
Coesione sociale e demografica	Gravi ineguaglianze collegate alla disponibilità di alimenti da parte di consumatori vulnerabili	Salvaguardare la disponibilità di alimenti a gruppi di consumatori e allo stesso tempo affrontare i problemi legati allo stile di vita che colpiscono larga parte delle popolazione in Europa.
Attitudini e preferenze dei consumatori	Preferenza per i sistemi di produzione alternativi	Assicurare la sicurezza alimentare all'interno dei sistemi dominati da filiere alimentari alternative.
Nuove tecnologie alimentari	Diffuso consumo di alimenti funzionali di alta tecnologia	Assicurare livelli elevati di sicurezza e qualità alimentare per i consumatori di alimenti funzionali.
Cambiamenti climatici	Gravi conseguenze in agricoltura	Salvaguardare la qualità e nutrizione alimentare in condizioni climatiche avverse che condizionano la produzione primaria, la conservazione e il trasporto.
Rischi emergenti della catena alimentare e disastri	Perdita di fiducia dei consumatori	Assicurare la sanità pubblica veterinaria e la sicurezza alimentare durante le emergenze, comunicare in modo efficace con il pubblico in situazioni di panico ed affrontare la perdita di fiducia dei consumatori nei confronti delle complesse catene alimentari.

Conclusioni dello Scoping Study. DG Sanco. 2013
Le azioni politiche trasversali sono di vitale importanza per il futuro della sicurezza alimentare e della nutrizione nell'Unione Europea
Il settore della sicurezza alimentare e della nutrizione hanno bisogno di approcci distinti e separati.
Sono necessari azioni politiche, programmi di ricerca e progetti per conoscere e gestire il comportamento dei produttori e consumatori, ed in particolare promuovere l'educazione e la comunicazione.
E' necessario condurre ed incoraggiare la ricerca scientifica e l'innovazione orientata verso cibi più sicuri e diete più sane quali misure fondamentali per affrontare le sfide all'interno dei diversi scenari. (es. <i>Information and Communication Technologies-ICT</i> per migliorare la tracciabilità e l'etichettatura nella catena alimentare; sensori avanzati/metodi di screening per l'analisi di laboratorio dei prodotti alimentari.; sistemi avanzati di modellazione; sostenibilità della produzione alimentare).
E' necessario migliorare la Governance internazionale della catena alimentare.
E' necessario promuovere la diversità nel sistema alimentare per aumentare la resistenza ai cambiamenti e sconvolgimenti futuri.
L'efficace applicazione della normativa sui controlli (<i>enforcement</i>) e la fiducia dei consumatori, sono di primaria importanza per la sicurezza alimentare e la nutrizione dell'Unione Europea

4.1 L'utopia del rischio zero

Partendo dal concetto che generalmente il “rischio zero” per la sicurezza alimentare, sia per i pericoli microbiologici che chimici, non esiste, è pura follia immaginare un sistema di controllo ufficiale degli alimenti che, per quanto moderno e sofisticato sia, riesce a fornire garanzie totali. Questa considerazione seppure indigesta ai più e di difficile comprensione da parte dei consumatori è sostenuta dai dati epidemiologici riferiti alle infezioni di origine alimentare. Le stime attuali ci dicono che le infezioni umane di origine alimentare sono in progressivo aumento su scala globale e in particolare nei paesi industrializzati con pesanti ricadute in termini di costi sanitari⁹⁴ ed economici. In Europa dal rapporto EFSA sulle zoonosi pubblicato a Gennaio 2015, con riferimento ai dati del 2013⁹⁵, nel 2013 si sono verificati 5.196 focolai di tossinfezione alimentare, con 43.183 casi umani, 5.946 ricoveri e 11 decessi. La maggior parte dei focolai segnalati ha riconosciuto come agenti eziologici *Salmonella*, *Campylobacter*, virus e tossine batteriche veicolati da alimenti di origine animale quali uova e ovoprodotti, seguiti da cibo misto e prodotti ittici, tutti alimenti di origine animale di esclusiva competenza veterinaria. Questi dati contrastano con un quadro produttivo che ha visto negli ultimi venti anni un miglioramento degli standard igienico-sanitari e gestionali nel settore agro-alimentare e con un sistema di controllo ufficiale più efficiente. Oltreoceano i dati del CDC americano sono altrettanto scoraggianti: si stima che negli Stati Uniti circa 48 milioni di persone si ammalano ogni anno a causa di una infezione alimentare, con l'ospedalizzazione di 128 mila persone e 3 mila decessi⁹⁶.

⁹⁴ Attualmente per quantificare l'impatto sanitario si utilizzano indici sanitari appartenenti alla metodologia DALYs (*Disability Adjusted Life Years*) e QALYs (*Quality Adjusted Life Years*). Tali indici servono a misurare sia la quantità sia la qualità di vita compromessi a causa di un pericolo microbiologico o chimico (impatto sanitario). Tutti gli altri costi e benefici, ad esempio i costi per interventi diretti e per la prevenzione delle malattie sono espressi in termini monetari (es. COI-*Cost-of-illness*).

⁹⁵ Scientific report of EFSA and ECDC. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. *EFSA Journal* 2015;13(1):3991.

⁹⁶ Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, Jones JL, Griffin PM. Foodborne illness acquired in the United States--major pathogens. *Emerg Infect Dis.* 2011 Jan;17(1):7-15.

Occorre premettere che le suddette stime risentono dell'elevato tasso di sottotifica delle infezioni alimentari che caratterizza anche i moderni sistemi di sorveglianza. Ad esempio negli Stati Uniti, per ogni caso d'infezione salmonellare umana catturato dal sistema di sorveglianza tradizionale, ci sono 39 casi non denunciati. In Europa il tasso è altrettanto elevato, seppure variabile, fra i diversi paesi dell'Unione Europea. La media europea calcolata per i casi di salmonellosi è del 57,5. Applicando il fattore di moltiplicazione, i casi reali di salmonellosi in Europa sarebbe pari a 6,2 milioni. In Italia si stima che l'incidenza delle malattie trasmesse da alimenti sia di 1,08 casi/anno/persona e che venga notificato 1 caso di infezione alimentare ogni 103 casi di malattia⁹⁷.

Il danno economico legato alle infezioni alimentari seppure a volte difficilmente quantificabile rappresenta un ulteriore motivo di preoccupazione per le autorità sanitarie. In Europa l'onere finanziario che l'Unione Europea deve sostenere solo per le infezioni causate da *Salmonella* spp. sia in termini di costi diretti per il SSN che indiretti per i cittadini (assenza da lavoro) e per le imprese sono compresi tra 0.2 e 3 miliardi di euro l'anno (EFSA 2010)⁹⁸, mentre per *Campylobacter* a 2,4 miliardi di euro l'anno (EFSA, 2012)⁹⁹.

Negli Stati Uniti nel 2013 i costi per le infezioni causate da 14 principali patogeni hanno raggiunto 14 miliardi di dollari/anno di cui il 90% imputabile alle infezioni da *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria*, *Toxoplasma*, *norovirus*¹⁰⁰. Le conseguenze economiche riguardano anche i costi associati alle infezioni umane causate da batteri antibiotico-resistenti. In Europa i costi sanitari (diretti e indiretti) dell'antibiotico-resistenza ammontano a circa 1,5

⁹⁷ Da: La sorveglianza in sanità pubblica. Malattie gastroenteriche acute trasmesse da alimenti (MTA): principi e definizioni. Gaia Scavia. ISS. Rapporti ISTISAN 12/54. 2012.

⁹⁸ EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), 2010. Scientific Opinion on a quantitative estimate of the public health impact of setting a new target for the reduction of *Salmonella* in laying hens. *EFSA Journal*, 8(4):1546.

⁹⁹ <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/campylobacter>.

¹⁰⁰ Hoffmann S, Batz MB, Morris JG Jr. Annual cost of illness and quality-adjusted life year losses in the United States due to 14 foodborne pathogens. *J Food Prot.* 2012 July; 75(7):1292-302.

miliardi di euro l'anno, con 600 milioni di euro in perdita di produttività^{101 102}.

I dati appena forniti, indubbiamente preoccupanti, inducono a riflettere sul fatto che il rischio zero per gli alimenti non è realisticamente ottenibile¹⁰³. Ma per rispondere alla domanda se sia possibile contrastare questi dati e immaginare alimenti a rischio zero in linea con le aspettative delle collettività, possiamo ricorrere a una similitudine riferita alla sicurezza del traffico. E' lecito sostenere che il traffico è sicuro al 100%? Certamente no, basta spulciare tra le statistiche riferite agli infortuni e decessi causati da incidenti automobilistici o investimenti di pedoni per capire come nonostante gli interventi di razionalizzazione del traffico, la messa in sicurezza delle strade e le relative campagne informative non è possibile fornire garanzie totali¹⁰⁴. La domanda dunque dovrebbe essere posta nel modo seguente: possiamo migliorare la sicurezza alimentare? Certamente sì. Ma come? Forse individuando e gestendo analogamente al problema del traffico, gli anelli deboli o meglio punti vulnerabili (*dark spots*) dove si concentra il rischio maggiore per un determinato pericolo, rischio che sappiamo essere l'espressione del binomio gravità (conseguenze sanitarie) e frequenza (probabilità) del pericolo.

¹⁰¹ Burden of Antibiotic Resistance⁷⁷. Action on Antibiotic Resistance (ReAct), <http://www.reactgroup.org/uploads/publications/react-publications/ReAct-facts-burden-of-antibiotic-resistance-May-2012.pdf>.

¹⁰² White, A.R. Effective Antibacterials: at What Cost? The Economics of Antibacterial Resistance and its Control. In *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2011, 66(9):1948-53

¹⁰³ l'eccezione ovviamente riguarda gli alimenti sterilizzati (cottura botulinica) o trattati con radiazioni ionizzanti per i quali è possibile garantire un controllo quasi totale del rischio microbiologico.

¹⁰⁴ Per il 2000, in base ai dati ISTAT riferiti agli incidenti stradali verbalizzati dalle autorità di polizia, è possibile stimare un corrispondente numero di morti nell'anno pari a 7.583 (13,3 decessi/100.000 abitanti). Salute e Malattia. Ministero della Salute.

4.2 Il sistema ispettivo veterinario italiano. Aspetti critici e soluzioni

Sulla base delle considerazioni appena svolte e con riferimento al sistema di produzione e commercializzazione degli alimenti, si intuisce come i controlli ufficiali comprensivi del monitoraggio microbiologico, perché abbiano un valenza predittiva e preventiva devono essere concentrati su fasi o operazioni collocate a monte della filiera (compresa la produzione primaria e gli allevamenti di animali), caratterizzate da una particolare vulnerabilità in rapporto alla contaminazione microbica o ritenute sorgenti primarie delle infezioni, partendo dall'assunto che non è realisticamente fattibile l'esame microbiologico o chimico di un numero elevato di campioni del prodotto finito tali da ottenere una rilevazione statisticamente valida della presenza di un patogeno o di una sostanza chimica.

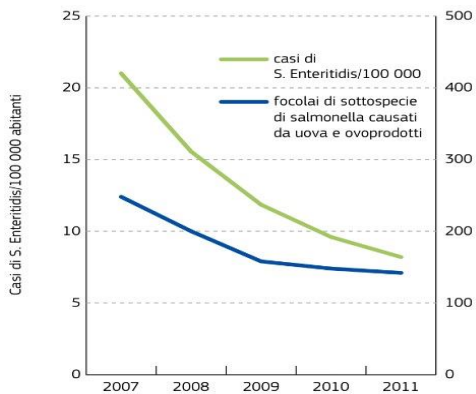
Pur non disconoscendo l'utilità del mantenimento del controllo del prodotto finito (es. esame microbiologico come validazione e verifica del sistema di autocontrollo HACCP) e delle attività di vigilanza veterinaria nelle fasi della filiera più vicine a quella del consumo, e la necessità di disporre di un sistema repressivo che pur nella natura tardiva degli interventi e dunque non proattiva, svolge una funzione dissuasiva e di deterrenza per i reati alimentari, le maggiori risorse assegnate alla veterinaria pubblica devono essere concentrate sulle attività di prevenzione *risk factor-based* che caratterizzano il *core business* del sistema di controllo ufficiale veterinario. L'attività di prevenzione, generalmente declinata attraverso specifici programmi di sorveglianza e monitoraggio nei punti strategici dei processi produttivi (es. allevamento e macello), costituisce un *refrain* delle recenti opinioni scientifiche dell'EFSA sulle modalità di gestione dei principali patogeni alimentari in allevamento e al macello attraverso l'utilizzo degli indicatori epidemiologici armonizzati¹⁰⁵. Lo specchietto che segue riassume il successo delle attività di prevenzione veterinaria riferito alle infezioni da *Salmonella* negli allevamenti avicoli e il corrispondente calo dell'incidenza delle infezioni umane salmonellari nell'Unione Europea.

¹⁰⁵<http://www.efsa.europa.eu/it/topics/topic/meatinspection.htm>.

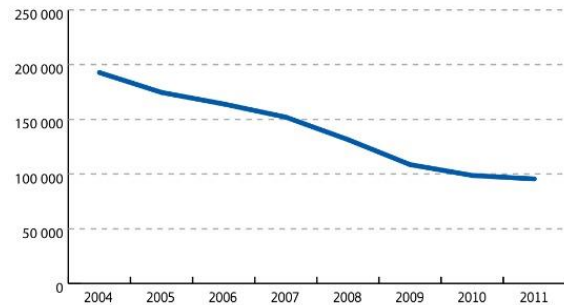
Il successo delle attività di prevenzione veterinaria per la riduzione delle infezioni umane salmonellari

Dall'ultimo rapporto EFSA sulle zoonosi (2015) con riferimento ai dati del 2013, emerge una tendenza di diminuzione in ambito comunitario della prevalenza di *Salmonella* negli allevamenti delle popolazioni bersaglio (polli da ingrasso, riproduttori, galline ovaiole e tacchini prima della macellazione). Contestualmente si osserva una corrispondente riduzione statisticamente significativa ($p < 0,001$ con regressione lineare) dell'infezione umana negli ultimi 5 anni. Il continuo decremento dei casi umani di salmonellosi (tra il 2007 e il 2011 i casi di salmonellosi nell'uomo sono diminuiti del 60,5 % e i casi connessi alle uova e agli ovoprodotti del 42,3 %, da 248 focolai si è scesi a 143) è da attribuirsi al successo dei piani di controllo nelle specie aviarie e in particolare nelle galline ovaiole gestiti dai servizi veterinari mediante interventi efficaci di prevenzione, individuazione e controllo della *Salmonella* a livello della produzione primaria e di riduzione dell'incidenza di infezioni umane nell'Unione europea. L'Italia nel 2010 ha riportato 2730 casi, il 34% in meno rispetto il 2009.

Casi e focolai di Salmonella registrati nella UE dal 2007 al 2011



Casi di Salmonellosi nella UE



Partendo dal dato che il rischio microbiologico di un agente patogeno presente in un alimento al momento del consumo è espressione della sua concentrazione (carica infettante) e prevalenza (distribuzione) e che tale presenza è il risultato dei fenomeni di inattivazione, crescita e sopravvivenza che si verificano durante le operazioni del processo produttivo e di commercializzazione, il controllo, perché sia efficace, deve prevedere l'implementazione dei sistemi proattivi di gestione della sicurezza alimentare da parte dell'industria alimentare (programmi di HACCP e GHP) e le attività di monitoraggio dei fattori di rischio svolte dai servizi veterinari attraverso una programmazione specifica di attività o ispezioni basata sul rischio (*risk-based*).

In una ipotetica filiera agro-alimentare dunque, che si articola mediante fasi o processi piuttosto complessi attraverso cui la materia prima si fa alimento, la conoscenza dei *dark spots* e un approccio proattivo consentono di gestire (controllare/ridurre) i fattori di rischio, di elevare il livello di sicurezza degli alimenti e di contribuire alla riduzione dell'esposizione dei consumatori. E' necessario dunque investire in un nuovo modello ispettivo basato sulla preliminare individuazione e successiva gestione dei fattori di rischio almeno per alcuni patogeni ritenuti significativi per la sanità pubblica come il *Campylobacter* e *Salmonella*, piuttosto che attardarsi sulle fasi a valle della filiera (es. commercializzazione e consumo) sulle quali possono continuare a operare gli interventi di vigilanza o repressivi. Far coincidere l'attività di controllo ufficiale con un approccio prevalentemente repressivo al problema della sicurezza alimentare, sebbene venga percepito favorevolmente dall'opinione pubblica, non è sicuramente un'operazione sensata e vincente¹⁰⁶.

Se dunque i controlli concentrati sulla fase finale del processo produttivo comprensivi della semplice ispezione e dell'esame di laboratorio del

¹⁰⁶ L'idea che l'efficacia dei controlli possa essere misurata utilizzando indicatori quantitativi corrispondenti al numero di sequestri o infrazioni amministrative e penali è stata più volte sconfessata. In alternativa un indicatore più appropriato è rappresentato dalla conoscenza dell'impatto in sanità pubblica dei più importanti patogeni alimentari o meglio del livello ottenibile di riduzione dell'incidenza di infezione umana.

prodotto finito di per sé non sono la soluzione e non forniscono la necessaria tutela sanitaria al consumatore, occorre guardare verso sistemi ispettivi proattivi o intelligenti che utilizzano i dati ricavati dalla valutazione del rischio, dal monitoraggio e dai sistemi di sorveglianza epidemiologica. La tendenza recente nell'impostazione dei controlli ufficiali applicata sia negli Stati Uniti che in Canada, vede l'utilizzo di algoritmi per attribuire il livello di rischio (espresso come percentuale di attribuzione dei focolai tossinfettivi) a tipologie di prodotto (combinazioni patogeno-prodotto) e alle modalità gestionali e/o grado di conformità agli standard di sicurezza assicurati all'interno degli stabilimenti di produzione¹⁰⁷. E' chiaro che per riuscire a collegare le modalità e intensità (frequenza) dei controlli e dunque a definire le priorità ispettive e di campionamento a benefici in sanità pubblica quantizzabili e dunque comparabili, il corrispondente sistema ispettivo deve essere alimentato da dati certi ed affidabili ricavati dai sistemi di sorveglianza epidemiologica.

Se da una parte gli elementi appena discussi confermano la criticità del nostro sistema ispettivo dall'altra sottolineano la necessità dell'acquisizione nell'ambito del processo di ammodernamento dei servizi veterinari di un approccio metodologico di tipo epidemiologico, olistico e basato sul rischio.

Per chi è impegnato quotidianamente in attività ispettive nei macelli e impianti di lavorazione carni, appare più che ragionevole porsi la domanda se e in quale misura il tipo, la frequenza (intensità) e le modalità dei controlli ufficiali oltre che la verifica della gestione delle non-conformità da parte degli operatori, possano essere direttamente collegati a effetti quantificabili in sanità pubblica. O più precisamente in quale misura l'attuale sistema di controllo ufficiale fornisce una adeguata protezione sanitaria dei consumatori e contribuisce alla riduzione della incidenza delle infezioni umane trasmesse dagli alimenti. Questa riflessione conduce a due livelli di criticità: il primo è che l'attuale sistema necessita di essere rimodulato attraverso una riallocazione delle risorse disponibili (sempre più ridotte) su fasi

¹⁰⁷ FSIS. USA. Public Health Risk-Based Inspection System for Processing and Slaughter Technical Report April 18, 2008.

(impianti, processi e prodotti) e settori che sulla base di audit svolti dal Ministero e studi di valutazione del rischio rappresentano un rischio maggiore per la sanità pubblica (*risk-based approach*) (criterio della efficienza)¹⁰⁸; il secondo è che un approccio basato sul rischio, per soddisfare il criterio costo-beneficio e quindi giustificare la sostenibilità dell'attuale sistema deve essere collegato a un obiettivo di riduzione nazionale quantificabile (Livelli appropriati di protezione-ALOP) dei casi di infezione umana causati dal consumo di alimenti (criterio della efficacia).

5 Conclusioni

Sullo sfondo descritto nei paragrafi precedenti caratterizzato da uno sviluppo esponenziale delle tecnologie informatiche e della scienza in generale, gli orientamenti strategici futuri a cui la veterinaria pubblica dovrà guardare per assicurare la sostenibilità, la credibilità e l'efficacia delle azioni future e l'attualizzazione del sistema ispettivo, possono comprendere attività strategiche riassumibili nei seguenti domini:

- potenziamento e sviluppo di nuove piattaforme informatiche per la sicurezza alimentare contenenti dati sanitari facilmente accessibili e fruibili dagli operatori sanitari e in grado di catalogare ed elaborare i dati provenienti dalle attività di controllo ufficiale svolte sul territorio come ausilio al processo decisionale;
- attivazione di un flusso rapido e sistematico di dati sanitari certi e affidabili dall'allevamento al macello e viceversa per il controllo e gestione dei rischi biologici per le diverse specie animali rappresentati da patogeni quali *Salmonella*, *Campylobacter*, *E.coli* VTEC invisibili all'ispezione post-mortem.
- selezione e implementazione degli indicatori epidemiologici armonizzati (riferibili alla prevalenza o concentrazione dei patogeni nella popolazione animale in allevamento e al

macello) per impostare attività di monitoraggio scientificamente fondate;

- perfezionamento dei sistemi di prevenzione e sorveglianza per la sicurezza alimentare attraverso lo sviluppo di metodi di *intelligence* basati su catalogazione dei dati integrati con i sistemi di GIS e GIP (integrazione della epidemiologia spazio-temporale) e strumenti di *data mining* per lo sviluppo di mappe geografiche del rischio in grado di facilitare il processo decisionale per la pianificazione dei controlli risk-based (natura e frequenza);
- sviluppo di sistemi ispettivi proattivi o intelligenti che utilizzano i dati ricavati dalla valutazione del rischio, monitoraggio e dai sistemi di sorveglianza epidemiologica per la conoscenza della localizzazione e distribuzione dei fattori di rischio nei diversi e complicati passaggi della filiera alimentare;
- definizione di protocolli comuni per gli interventi di indagini epidemiologiche degli episodi di tossinfezione alimentare fra i settori medici e veterinari;
- sviluppo di protocolli operativi per le indagini epidemiologiche sui focolai di infezione alimentare che prevedano la determinazione quantitativa del patogeno negli alimenti nelle diverse fasi della filiera compresa la fase del consumo e la quantità di alimento ingerito preferibilmente differenziato per gruppi di popolazione. L'integrazione di queste informazioni facilita la determinazione del rischio finale di incidenza di infezione/malattia per il consumatore (caratterizzazione del rischio) e la gestione degli ALOP.

*Si ringrazia vivamente il dott. Vitantonio Perrone per la gentile revisione del presente lavoro.

¹⁰⁸ Si pensi ai risultati degli studi di valutazione del rischio *Campylobacter* nelle carni di pollame, che indicano come gli interventi di riduzione negli allevamenti seguiti da quelli al macello contribuiscono ad una riduzione significativa dell'incidenza di infezione umana.