



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Regolamento CE 2073/2005

Criteri di applicazione



**Validazione dei processi di produzione degli alimenti
attraverso contaminazioni artificiali in strutture sperimentali
Esempi pratici**

Gianluca Rugna

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

Ferrara, 5 novembre 2009



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

REGOLAMENTO (CE) 2073/2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari

Consideranda:

2°considerazione: “I prodotti alimentari non devono contenere microrganismi, né loro tossine o metaboliti, in **quantità tali** da rappresentare un rischio inaccettabile per la salute umana “

5°considerazione: “...è pertanto opportuno fissare criteri microbiologici....che fissino **una soglia** oltre la quale un alimento sia da considerarsi contaminato in modo inaccettabile dai microrganismi cui tali criteri si riferiscono”



La prima **novità** è che si parla di
quantità di germi patogeni

In alcuni casi non esistono più vincoli stretti sui limiti:
oppure

sono stabiliti **limiti diversi** in **diverse categorie alimentari** per lo stesso germe patogeno (es. *L. monocytogenes*),

sono stabiliti **limiti** che tuttavia **non** sono **vincolanti se** il **produttore dimostra** (**altra novità**) che il germe in oggetto viene eliminato o contenuto nelle fasi produttive o durante il periodo di conservabilità (shelf-life).



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Criterio di sicurezza alimentare: un criterio che definisce l'accettabilità di un prodotto, di una partita di prodotti, applicabile ai prodotti immessi sul mercato

Germi patogeni : *Salmonella* spp. , *Listeria monocytogenes* , ed *Enterobacter sakazakii*

E.coli come indicatore, oltre certi limiti, di alimento non sicuro

Enterotossine stafilococciche

Istamina

Vi sono richiami per *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* , *E.coli* (VTEC) e virus, ma per il momento non sono stati inseriti come criteri



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Come sono scelti i criteri sicurezza?

Oltre alla **conoscenza storica** della relazione tra patogeno e tossinfezione, si valutano le diverse **modalità di consumo** nonché l'**efficacia** della scelta di quel patogeno **come criterio**

Esempio:

(14) Il **CSMVSP** (Comitato Scientifico per le Misure Veterinarie in Relazione con la Salute Pubblica) ha emesso il 21 e 22 gennaio 2003 un parere sulla presenza di E. coli produttori di verocitossine (VTEC) negli alimenti, nel quale reputa **poco probabile che l'applicazione a VTEC O157 di una norma microbiologica per prodotti finali produca una riduzione significativa dei rischi connessi per i consumatori.**



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Criterio di igiene del processo: un criterio che definisce il funzionamento accettabile del processo di produzione

Questo criterio, che **non si applica ai prodotti immessi sul mercato**, fissa un valore indicativo di contaminazione al di sopra del quale sono necessarie **misure correttive volte a mantenere l'igiene del processo di produzione** in ottemperanza alla legislazione in materia di prodotti alimentari

Conteggio delle colonie aerobiche
Enterobatteriaceae
E. coli
Stafilococchi coagulasi positivi
Bacillus cereus



CODEX 1997 (CAC/GL 21)

Il **criterio microbiologico** definisce l'accettabilità di un prodotto, di una partita di prodotti alimentari in base all'assenza, alla presenza o al numero di microrganismi compresi i parassiti, e/o in base alla quantità delle relative tossine/metaboliti, per unità di massa, volume, superficie o lotto.

Reg. 2073/05

Il **criterio microbiologico** definisce l'accettabilità di un prodotto, di una partita di prodotti alimentari **o di un processo**, in base all'assenza, alla presenza o al numero di microrganismi, e/o in base alla quantità delle relative tossine/metaboliti, per unità di massa, volume, superficie o partita.



ALLEGATO II

Gli studi di cui all'articolo 3, paragrafo 2, comprendono:

- *prove per determinare le caratteristiche fisico-chimiche del prodotto, quali **pH**, **aw**, **contenuto salino**, concentrazione di conservanti e tipo di sistema di confezionamento, tenendo conto delle condizioni di lavorazione e di conservazione, delle possibilità di contaminazione e della conservabilità prevista,*
- *consultazione della **letteratura scientifica** disponibile e dei dati di ricerca sulle caratteristiche di sviluppo e di sopravvivenza dei microrganismi in questione.*

Se necessario, in base agli studi summenzionati, l'operatore del settore alimentare effettua studi ulteriori, che possono comprendere:

- ***modelli matematici predittivi** stabiliti per il prodotto alimentare in esame, utilizzando fattori critici di sviluppo o di sopravvivenza per i microrganismi in questione presenti nel prodotto,*
- ***prove** per determinare la capacità dei microrganismi in questione, debitamente **inoculati**, di svilupparsi o sopravvivere nel prodotto in diverse condizioni di conservazione ragionevolmente prevedibili,*
- ***studi** per valutare lo sviluppo o la sopravvivenza dei **microrganismi** in questione che possono essere **presenti** nel prodotto durante il periodo di conservabilità, in condizioni ragionevolmente prevedibili di distribuzione, conservazione e uso.*

Gli studi summenzionati tengono conto della variabilità intrinseca in funzione del prodotto, dei microrganismi in questione e delle condizioni di lavorazione e conservazione

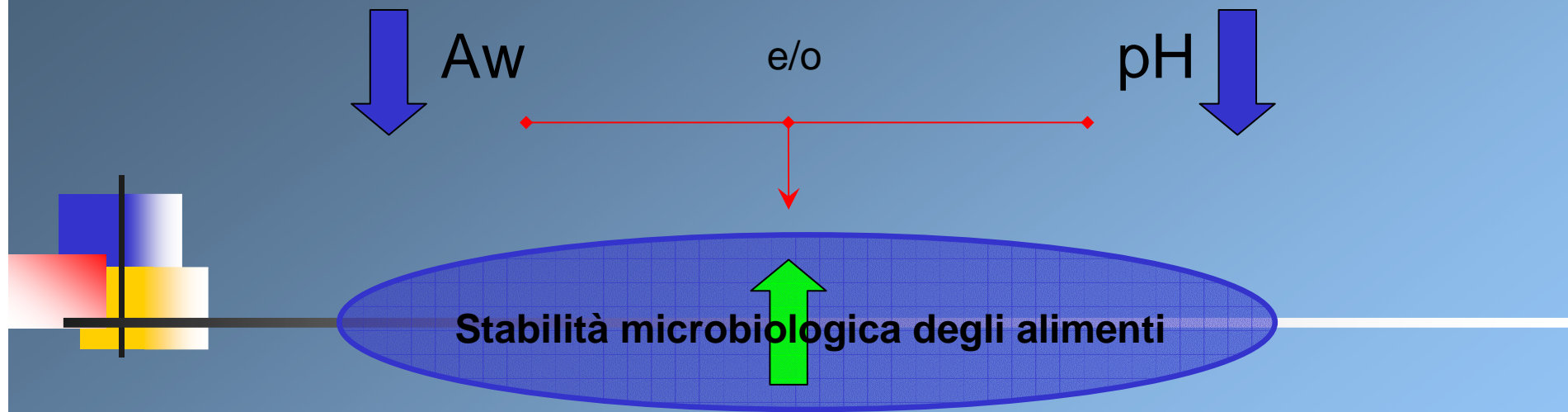


Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Allegato I

Pone l'attenzione su un aspetto di cui già si parla nel Decreto 16
dicembre 1993

Prevede infatti in alcuni casi la misura di
“acqua libera” (AW)
e/o
“acidità” (pH)

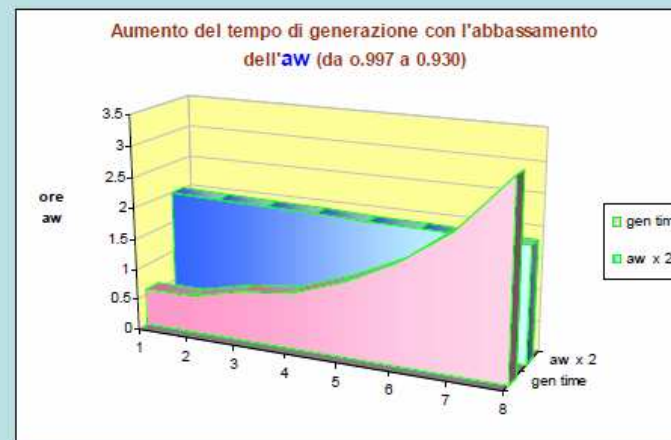
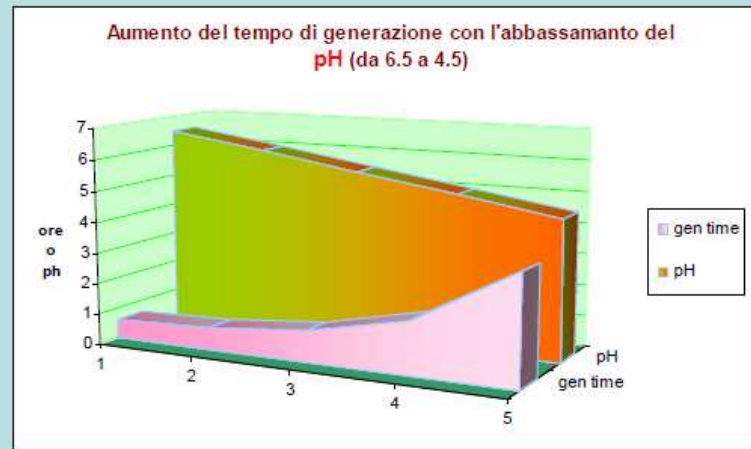


Avvicinandoci ai limiti di crescita batterica per qualunque fattore considerato, la velocità di moltiplicazione diminuisce drasticamente.

Il **limite per la produzione di tossine** da parte dei microrganismi è situato, per qualsiasi fattore considerato, in condizioni **molto più favorevoli di quello per la moltiplicazione**



Influenza di pH e Aw sulla crescita batterica





Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Tutti questi fattori hanno
effetto **complementare** sulla conservazione.

Questo vuol dire che **due o più fattori** applicati **contemporaneamente** a livelli più blandi forniscono (a dati livelli) lo stesso effetto che si otterrebbe con un solo fattore applicato a livelli più drastici

Questo effetto è sfruttato regolarmente per produrre alimenti conservabili, che risultino ancora gradevoli da consumare



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

Effetto dell'azione complementare dei vari fattori sulla crescita di *E. coli* O157:H7 .

Come esempio è stata simulata la presenza di un germe in 25 g ed il tempo (in ore) per raggiungere 1600 germi per grammo (da 0,04 germi per grammo), cioè attraversare 4,6 cicli logaritmici

	Fattore/i limitanti applicati							
	condizioni ottimali	pH	Aw	T°	pH+Aw	T°+Aw	T°+pH	T°+pH+Aw
T° C	20	20	20	14.7	20	17.8	16	18.2
pH	7	4.6	7	7	5.8	7	5.6	6.2
Aw	0.997	0.997	0.970	0.997	0.983	0.983	0.997	0.985
Tempo raddoppio (h)	1.1	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3
Ore per raggiungere 4,6 log	23.1	48.8	67.1	54.2	49.7	57.7	51.2	50.8

Tratto da Microbiologia predittiva e challenge test (2009). Dr Roberto Fischetti, IZSLT.



Listeria monocytogenes (tabella pag. 9 Regolamento 2073)

La tabella divide in due le categorie alimentari relative al
criterio *Listeria monocytogenes*

favorevoli e non favorevoli

alla crescita attraverso la misura dell'AW e del pH ed
il periodo di conservabilità (note: 5,7,8, capitolo 1)

❖ Alimenti non favorevoli alla crescita:

- pH \leq 4,4 o AW \leq 0,92

- pH \leq 5,0 e AW \leq 0,94

- periodo di conservabilità < 5gg (novità fattore "tempo")

- prodotti congelati, con trattamento termico efficace, molluschi bivalvi vivi, frutta e
verdura fresca non lavorata, pane, biscotti, bibite, vino, zucchero, miele, cioccolata
(nota 4 capitolo 1 + SANCO/1628/2008)

❖ Tutti gli altri sono per definizione favorevoli alla crescita



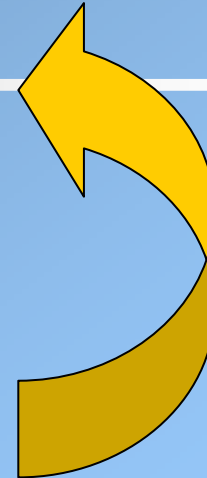
➤ **Alimenti RTE non favorevoli alla crescita:**

Limite microbiologico: inferiore a 100 UFC/g durante la vita commerciale

➤ **Alimenti RTE favorevoli alla crescita:**

se dimostrato che il livello non supera 100
UFC/g durante shelf-life diventano non
favorevoli

Altrimenti si determina l'assenza in 25 g alla fine della produzione .





Salmonella (tabella pag. 9 Regolamento 2073)

Punto 1.8 Prodotti a base di carne destinati ad essere consumati crudi, prevede che la salmonella deve essere assente in 25 g in ognuno di 5 campioni dello stesso lotto o partita:

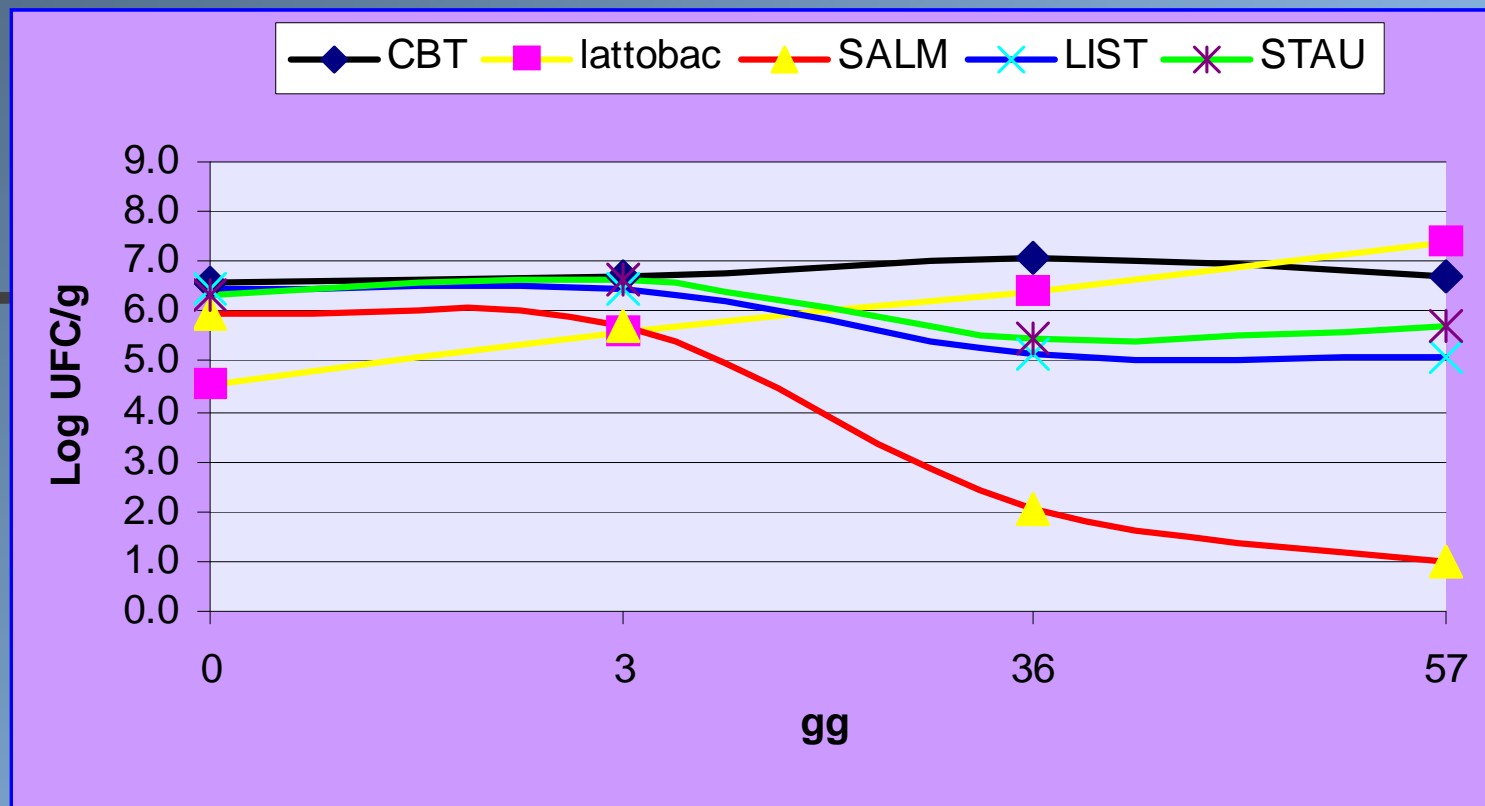
esclusi i prodotti per i quali il procedimento di lavorazione o la composizione eliminano il rischio di salmonella

Punto 1.11 Formaggi, burro e panna ottenuti da latte crudo o da latte sottoposto a trattamento termico a temperatura più bassa della pastorizzazione

(Nota 10) Esclusi i prodotti per i quali il fabbricante può dimostrare, con soddisfazione dell'autorità competente, che grazie al tempo di maturazione e all'aw del prodotto, non vi è rischio di salmonella

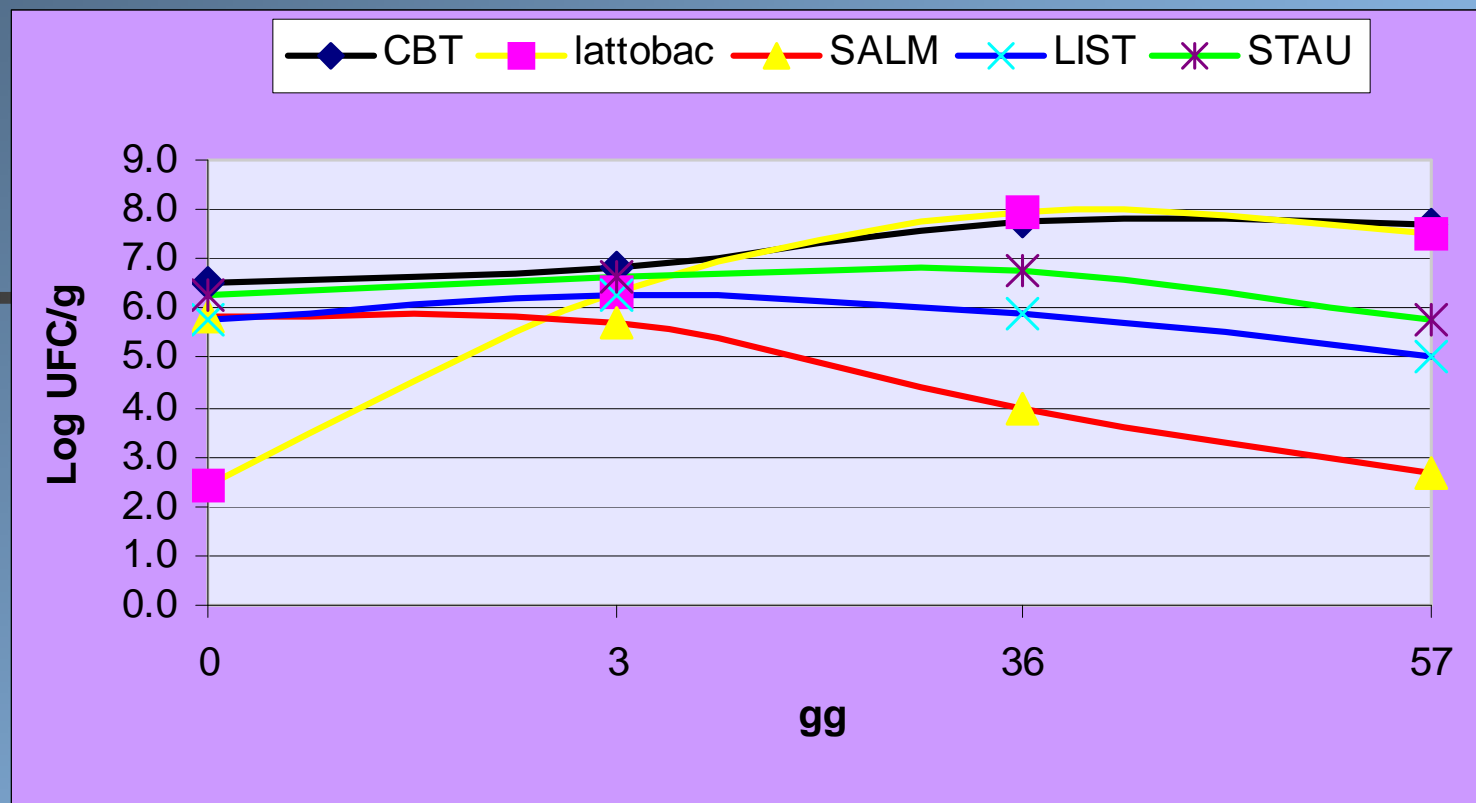


Salame grana grossa in budello naturale





Salame a grana fine in budello sintetico





Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna



Si può dimostrare che alcuni prodotti pronti per il
consumo **NON** sono a **rischio** di *Salmonella* spp. e
Listeria monocytogenes



ALLEGATO II

Gli studi di cui all'articolo 3, paragrafo 2, comprendono:

- *prove per determinare le caratteristiche fisico-chimiche del prodotto, quali pH, aw, contenuto salino, concentrazione di conservanti e tipo di sistema di confezionamento, tenendo conto delle condizioni di lavorazione e di conservazione, delle possibilità di contaminazione e della conservabilità prevista,*
- *consultazione della letteratura scientifica disponibile e dei dati di ricerca sulle caratteristiche di sviluppo e di sopravvivenza dei microrganismi in questione.*

Se necessario, in base agli studi summenzionati, l'operatore del settore alimentare effettua studi ulteriori, che possono comprendere:

- *modelli matematici predittivi stabiliti per il prodotto alimentare in esame, utilizzando fattori critici di sviluppo o di sopravvivenza per i microrganismi in questione presenti nel prodotto,*
- *prove per determinare la capacità dei microrganismi in questione, debitamente inoculati, di svilupparsi o sopravvivere nel prodotto in diverse condizioni di conservazione ragionevolmente prevedibili,*
- *studi per valutare lo sviluppo o la sopravvivenza dei microrganismi in questione che possono essere presenti nel prodotto durante il periodo di conservabilità, in condizioni ragionevolmente prevedibili di distribuzione, conservazione e uso.*

Gli studi summenzionati tengono conto della variabilità intrinseca in funzione del prodotto, dei microrganismi in questione e delle condizioni di lavorazione e conservazione



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna



Federal Register

Friday,
June 6, 2003

Part V

Department of
Agriculture

Food Safety and Inspection Service

9 CFR Part 430

Control of *Listeria monocytogenes* in
Ready-to-Eat Meat and Poultry Products;
Final Rule

Post-lethality alternatives:

- (1) **a.** Treatment (may be antimicrobial agent) that reduces or eliminates microorganisms, **AND**
b. Antimicrobial agent/process that inhibits growth
- (2) **a OR b** (more FSIS verification)
- (3) Sanitation and microbiological testing programs (more...more FSIS verification)

Fed. Reg.: June 6, 2003; Vol. 68, N° 109, Pp. 34207-34254; 9 CFR Part 430



Alternative antimicrobiche

❖ Trattamenti letali di processo

- Trattamenti col calore
- Trattamenti con formulazioni chimiche

❖ Trattamenti letali post-processo o “post-letali”

- Trattamenti fisici
- Trattamenti chimici
- Agenti biologici
- Batteri lattici e batteriocine

❖ Combinazioni



Trattamenti fisici

Calore

- ✓ Pre-confezionamento:
vapore
- ✓ Post-confezionamento:
vapore
Immersione in acqua calda
Radiant oven heat
- ✓ Cottura (Re-heating) consumatore

Processi ad Alte Pressioni
Irradiazione



Trattamenti chimici

- 
- Sodio/Potassio Lattato/Lattico Acido
 - Sodio Diacetato
 - Sodio Acetato/Acetico Acido
 - Propionato
 - Benzoato
 - Sorbato
 - Citrato
 - Nisina
 - Pediocina
 - Lisozima
 - Oli essenziali

Applicati come:

- **Ingredienti**
- **Soluzioni**
 - Immersione
 - Spray
- **Pellicole di confezionamento: nisina**
- **Film edibili e coperture**
- **Incapsulati: nisina, lisozima**
- **Combinazioni**



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

SIDiLV
Convegno Nazionale

**EFFETTO DI UN TRATTAMENTO DI PASTEURIZZAZIONE POST-
CONFEZIONAMENTO SU PORZIONI DI MORTADELLA NEI
CONFRONTI DELLA CONTAMINAZIONE DA LISTERIA SPP.**

Rugna G.1, Bardasi L.1, Vecchi G.1, Mazzini C. 2, Bacchi M. 2, Galletti G. 1,
Meriardi G.1, Fontana M.C.1



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

Updated September 2009

ATTACHMENT 1 - CONTROL REQUIREMENTS for *LISTERIA MONOCYTOGENES*

REQUIREMENTS	>INCREASING RISK LEVELS AND FREQUENCY OF FSIS VERIFICATION TESTING >>>>				
	ALTERNATIVE 1	ALTERNATIVE 2		ALTERNATIVE 3	
	Post-lethality Treatment (PLT) AND Antimicrobial Agent or Process	Post-lethality Treatment (PLT) OR Antimicrobial Agent or Process		Sanitation and Testing Program	
		Choice 1	Choice 2	Non-deli or Hotdog Product	Deli or Hotdog Product
Post-Lethality Treatment	Antimicrobial Agent or Process				
Validate effectiveness of post-lethality treatment (PLT). Must be included as a CCP in the establishment's HACCP Plan and should show at least a 1 log reduction in <i>Lm</i> prior to distribution of the product into commerce.	X	X			
Document effectiveness of antimicrobial agent or process. Must be included as part of the establishment's HACCP, Sanitation SOP, or Pre-requisite program and should demonstrate no more than 2-logs growth of <i>Lm</i> over estimated shelf life.	X		X		
Sanitation Program Requirements¹					
Testing food contact surfaces (FCS) in the post-lethality processing environment for <i>Lm</i> or an indicator organism.			X	X	X
Indicate testing frequency.			X	X	X
Identify size and location of sites to be tested.			X	X	X
Explain why testing frequency is sufficient to control <i>Lm</i> or an indicator organism.			X	X	X
Identify conditions for Hold-and-Test, when FCS (+) for <i>Lm</i> or an indicator organism.			X	X	X
Additional Sanitation Program Requirements²					
Follow-up testing to verify corrective actions are effective after 1st FCS (+) for <i>Lm</i> or an indicator organism. Includes testing of targeted FCS as most likely source and additional testing of the surrounding area.					X
If follow-up testing yields a 2nd FCS (+), hold products that may be contaminated until problem is corrected as shown by FCS (-) in follow-up testing.					X
Hold and test product lots using a sampling plan that will ensure that the lots are not adulterated with <i>Lm</i> and document the results of this testing. Alternately, rework the product with a process destructive of <i>Lm</i> or an indicator organism.					X

For further information see the following links:

- [9 CFR 430.4](#)
- [FSIS Directive 10,240.4, Rev.2](#)
- [FSIS Directive 10,240.4, Rev 2 Related Documents](#)
- [Listeria Fact Sheets](#)

¹ Sanitation program requirements as found in [9 CFR 430.4\(b\)\(2\)\(iii\)](#) or [\(b\)\(3\)\(i\)](#)

² Additional sanitation program requirements as found in [9 CFR 430.4\(b\)\(3\)\(ii\)](#)



Trattamento col calore in acqua

Contaminazione superficiale

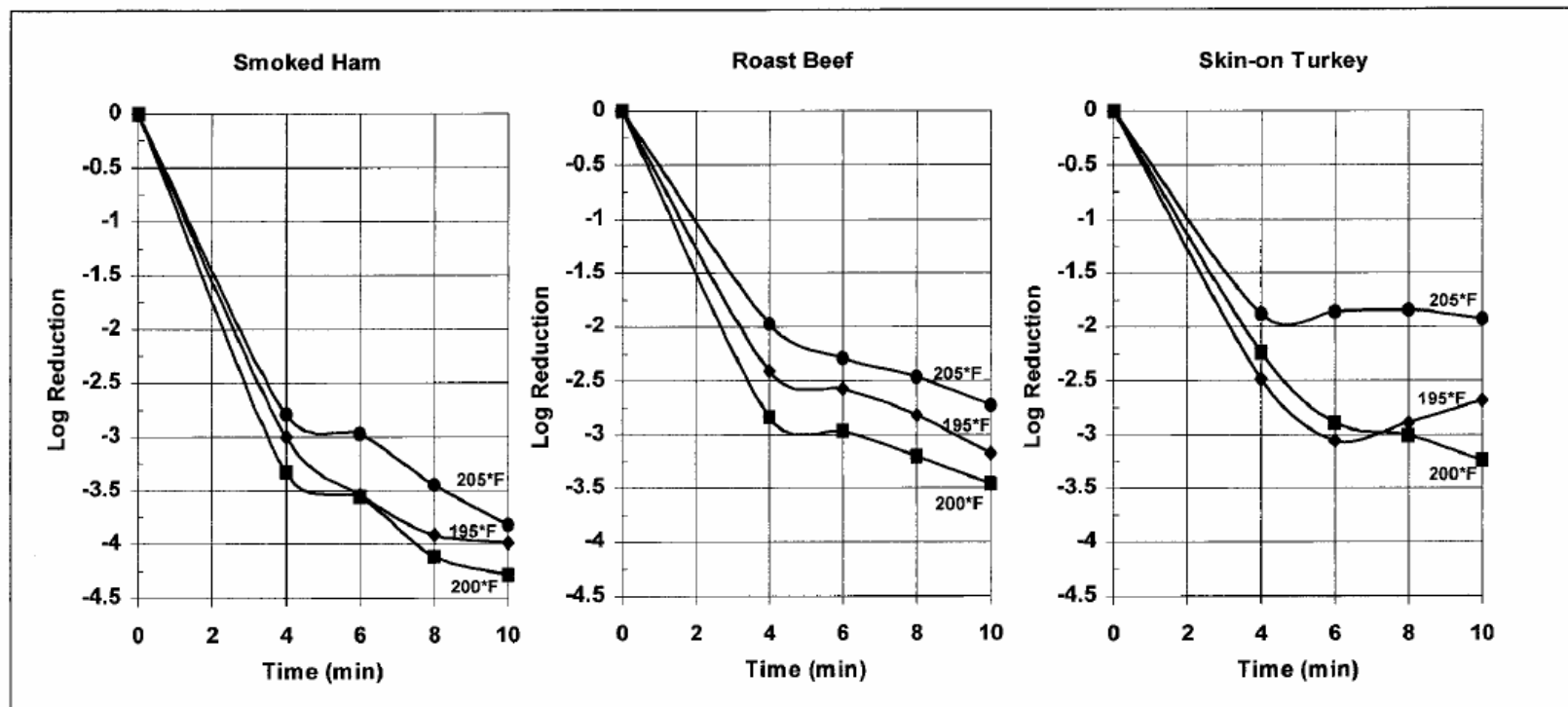


FIGURE 3. Reduction of *L. monocytogenes* on RTE deli-style smoked ham, roast beef, and turkey from manufacturer A at 195°F (90.6°C), 200°F (93.3°C), and 205°F (96.1°C).



Trattamento col calore umido (autoclave)

Contaminazione superficiale

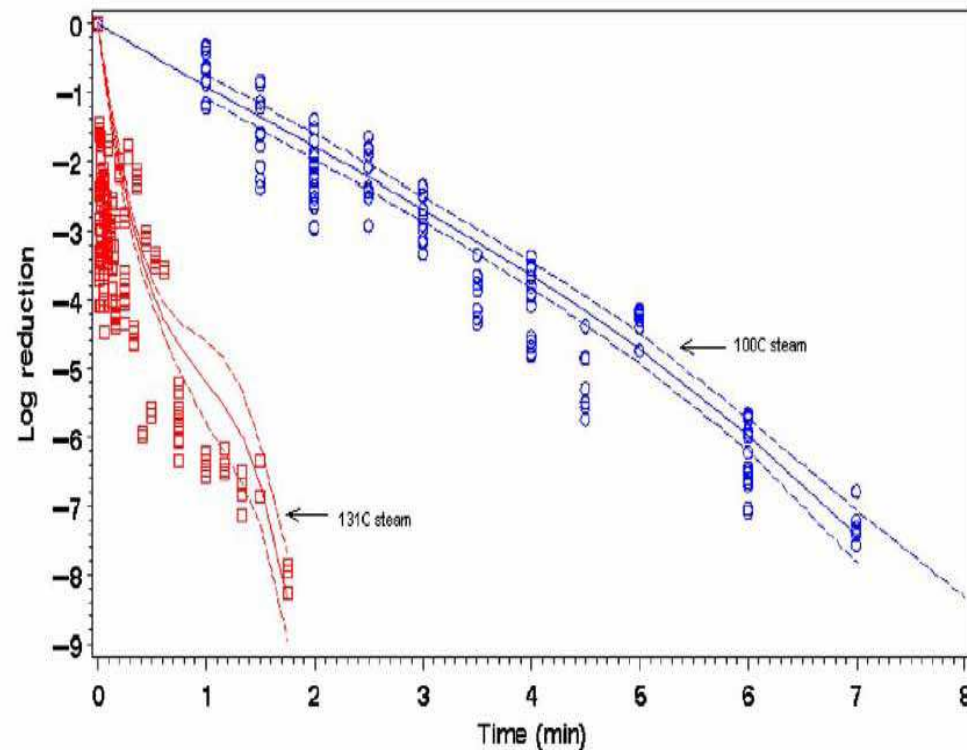


Fig. 1. Log reduction of *L. monocytogenes* in fully cooked bologna (14cm diameter \times 1.5cm thickness) pasteurized by ambient steam at 100°C or pressurized steam at 131°C. Symbols were experimental data and the lines were model predictions with 95% confidence limits (dashed lines).



Guidelines for Conducting *Listeria monocytogenes* Challenge Testing of Foods

VIRGINIA N. SCOTT,^{1*} KATHERINE M. J. SWANSON,² TIMOTHY A. FREIER,³ W. PAYTON PRUETT, JR.,⁴
WILLIAM H. SVEUM,⁵ PAUL A. HALL,⁶ LESLIE A. SMOOT,⁷ and DANIEL G. BROWN⁸

¹Food Products Association (formerly National Food Processors Association), 1350 I St. NW, Suite 300, Washington, D.C. 20005, USA; ²Ecolab, Inc., 655 Lone Oak Dr., Eagan, MN 55121, USA; ³Cargill, P.O. Box 9300, MS 63, Minneapolis, MN 55440, USA; ⁴ConAgra Foods, Inc., 6 ConAgra Foods Dr., Omaha, NE 68102, USA (currently The Kroger Company, Cincinnati, OH); ⁵Kraft Foods Global, Inc., 910 Mayer Ave., Madison, WI 53704, USA; ⁶Kraft Foods Global, Inc., 801 Waukegan Rd., Glenview, IL 60025, USA; ⁷Nestlé USA, 6625 Eterman Rd., Dublin, OH 43017 USA; ⁸Hormel Foods Corp., 2 Hormel Pl., Austin, MN 55912, USA

SUMMARY

Challenge testing using *Listeria monocytogenes* is a useful tool for determining the ability of the organism to grow in a food, for validating the effectiveness of growth inhibitors, and for validating the degree of lethality delivered by processes intended to inactivate the organism. This document addresses factors that should be considered when designing and conducting *L. monocytogenes* challenge tests, including the type and number of strains of *L. monocytogenes* used, the inoculum level, inoculum preparation and method of inoculation, formulation of the product, delivery of a lethal treatment, incubation of samples, the length of the study and frequency of sampling, and sample analyses. An expert microbiologist should be involved in all phases of the study, especially in the design and the interpretation of results. Studies conducted according to these guidelines can be used to validate the level of reduction achieved by a lethal treatment or the level of control achieved by an antimicrobial treatment or process to assess product safety and compliance with government laws, regulations, and policies.

A peer-reviewed article

*Author for correspondence: 202.639.5985; Fax: 202.639.5991
E-mail: jscott@fpa-food.org



Protocollo

Prodotto

50 tranci di mortadella (mortadella tagliata a metà), confezionati sotto-vuoto in involucri di Cryovac®, del peso di 4 kg e del diametro di 180 mm

Gruppi sperimentali

TRATTAMENTO	TOTALE U.C.	REPLICA 1	REPLICA 2	REPLICA 3
A	15	5	5	5
B	15	5	5	5
C	15	5	5	5
CONTROLLO NEG	5			



Protocollo

Trattamenti

- A 89°C x 6 min
- B 89°C x 8 min
- C 89°C x 10 min

Inoculo

- *L. innocua*

3 ceppi di campo + 1 ceppo ATCC



Protocollo

ANALISI MICROBIOLOGICA

Rilevamento carica superficiale su 6 punti per mortadella:
Campionamento distruttivo

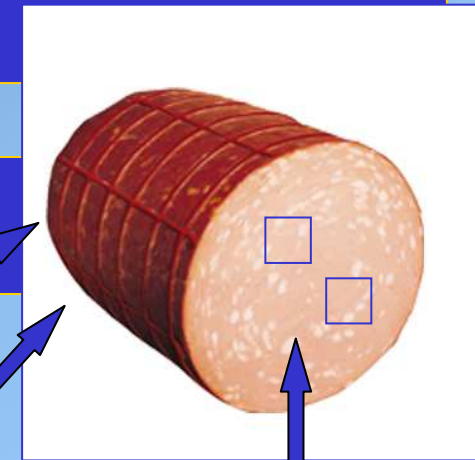
2 su superficie di taglio

4 su "budello" di cui 2 in zona di "clippatura"

ISO 11290-2: 1998 amd:2004

ANALISI STATISTICA

Test della mediana



E = estremità

I = involucro "budello"

S = superficie di taglio



Risultati

ANALISI MICROBIOLOGICA

Rilevate cariche superficiali controlli: $\sim 10^6$ UFC/cm²
Rilevate 270 cariche superficiali campioni trattati

ANALISI STATISTICA

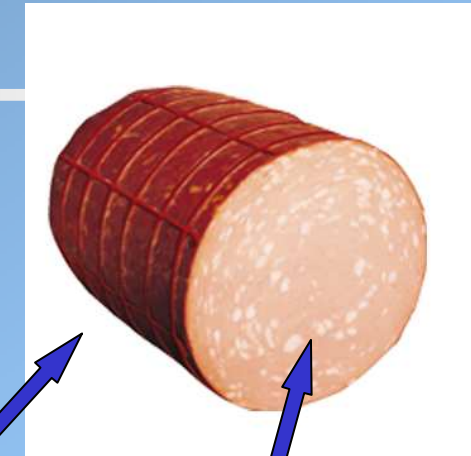
Rilevata differenza statisticamente significativa tra i tre gruppi
sperimentali



Validazione processo di Pasteurizzazione Superficiale Mortadella

Controllo negativo

	Control - (UFC/cm ²)		
	E	I	S
min	1.350.000	750.000	1.250.000
25%	3.250.000	2.812.500	1.562.500
mediana	3.625.000	3.000.000	2.250.000
75%	4.625.000	3.375.000	2.625.000
max	9.000.000	4.500.000	5.250.000
range	7.650.000	3.750.000	4.000.000
Iqr	1.375.000	562.500	1.062.500
media.aritm	4.110.000	2.975.000	2.327.500
media.geom	3.721.873,50	2.722.437,00	2.126.631,20
log.media.geom	6,60	6,40	6,30
sd	1.998.999,70	1.063.602,40	1.164.429,40
esm	199.900,00	106.360,20	116.442,90
n	10	10	10
mancanti	0	0	0



E = estremità

I = involucro "budello"

S = superficie di taglio



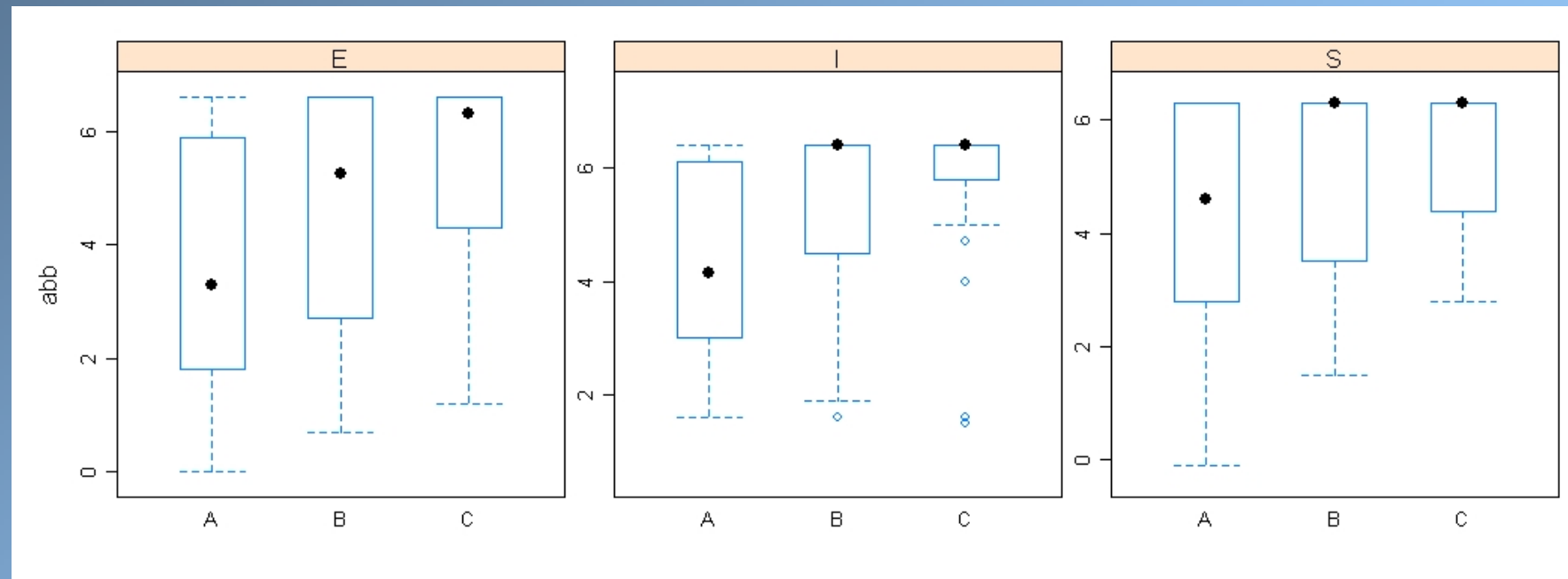
Validazione processo di Pasteurizzazione Superficiale Mortadella

Risultati

A = 6'

B = 8'

C = 10'





Validazione processo di Pasteurizzazione Superficiale Mortadella

Conclusioni

	Livelli di riduzione raggiunti (log UFC/g)		
	alto	medio	Non idoneo
Trattamento post-letale	≥ 2	< 2	< 1

Linee guida di conformità per il controllo di *Listeria* in prodotti pronti al consumo a base di carne e pollame esposti all'ambiente dopo il trattamento letale (FSIS, 2006)

Si può ritenere il trattamento C (T 89°C x 10 min) efficace come processo di pasteurizzazione post-confezionamento su tranci di mortadella da destinare all'esportazione verso gli Stati Uniti.



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

OP obiettivo di performance

Posizionato nella fase precedente della filiera

La frequenza massima e/o concentrazione di un pericolo in un alimento in una determinata fase della catena alimentare prima del consumo

$$H_0 - \sum R + \sum I \leq FSO$$

R= riduzioni: I= crescita



CP Criterio di performance

l'effetto sulla frequenza e/o concentrazione di un pericolo in un alimento che
deve essere assicurato mediante l'applicazione di una o più misure di
controllo per fornire o contribuire ad un OP

Esempio: alimenti in scatola a bassa
acidità; trattamento termico 12D (riduzioni
decimali) di ***Clostridium botulinum***



CPr Criterio di processo

Parametri di una misura di controllo che se propriamente applicati singolarmente o in associazione garantiscono il criterio di performance.

Esempio: 3' a 121°C per l'inattivazione
12D di spore proteolitiche di *C. botulinum*.

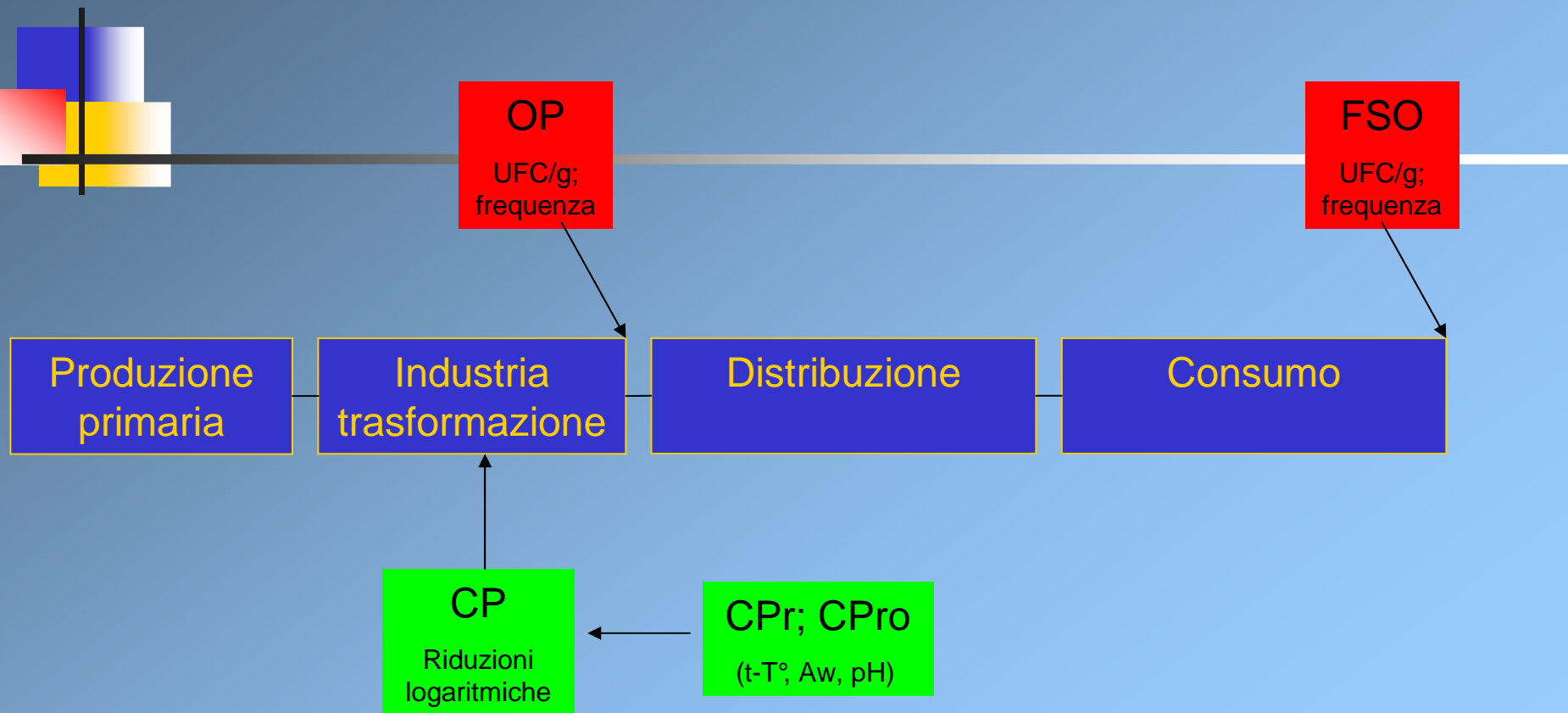
CPro Criterio di prodotto

Attributi chimici o fisici intrinseci al prodotto che se applicati come misure di controllo, singolarmente o associati ad altri misure di controllo, prevengono la contaminazione o crescita batterica inaccettabile.

Esempio: pH, T°, aw, flora competitiva, gas, additi vi



Misure di controllo





Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

SIDiLV
Convegno Nazionale

Inattivazione di larve di *Trichinella spiralis* in salami fermentati

Rugna G. (a), Merialdi G. (a), Ramini M. (a), Accurso D. (a), Gelmini L. (a),
Mazzini C. (b), Bacchi M. (b), Pozio E. (c)



Obiettivo

Valutare la **vitalità residua** delle di *Trichinella spiralis* in varie tipologie di **salame fermentato e stagionato**, artificialmente contaminato nella fase di impasto

- **Salame Salamella** (2 settimane di stagionatura, grana intermedia, acidificazione lenta);
- **Salame Gentile** (45 giorni, grana grossa, acidificazione lenta)
- **Salame Milano** (70 giorni circa, grana fine, acidificazione rapida e spinta).



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Perché *T. spiralis*?

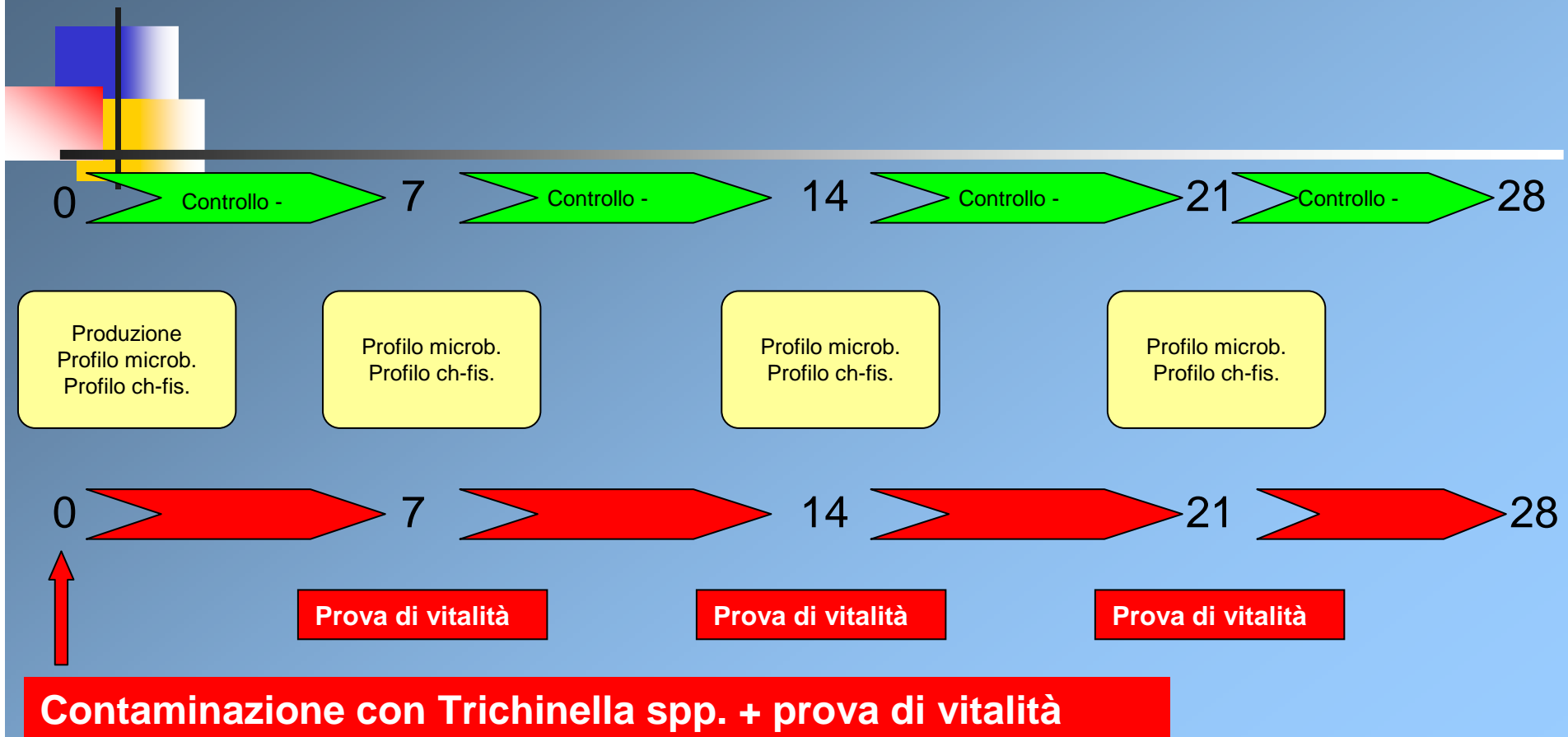
**Agente della maggior parte dei casi
di trichinellosi nell'uomo**

Il più comune agente eziologico del ciclo domestico

Forme cliniche più gravi rispetto a *T. britovi*



Protocollo sperimentale





Protocollo sperimentale

Umidità
Grassi
Proteine
Ceneri
Ph
Aw
% NaCl
Collagene
acido ascorbico
acido citrico
acido lattico
solfiti
Nitriti
Nitrati
Zuccheri
Kreiss
Perossidi
ABVT

Carica batterica totale mesofila
aerobia

Lattobacillacee

Enterobatteri

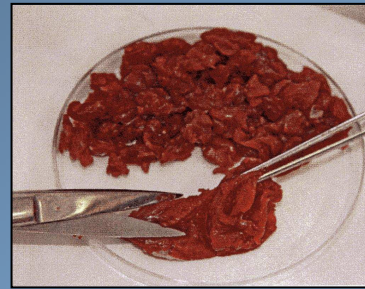
Profilo microbiologico

Profilo chimico-fisico e merceologico



Prova di infettività residua

IZSLER



Istituto Superiore di Sanità

Giorno 0

Giorno 7

Giorno 13

Giorno 21

Giorno 28

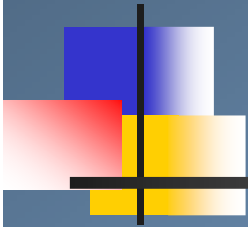


50 larve/topo



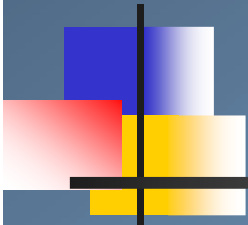


Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna



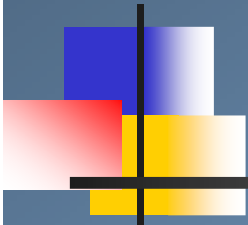


Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna



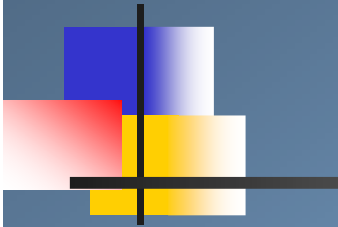


Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna



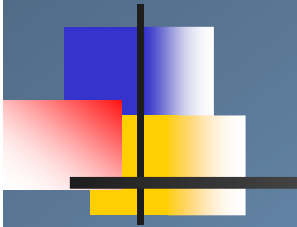
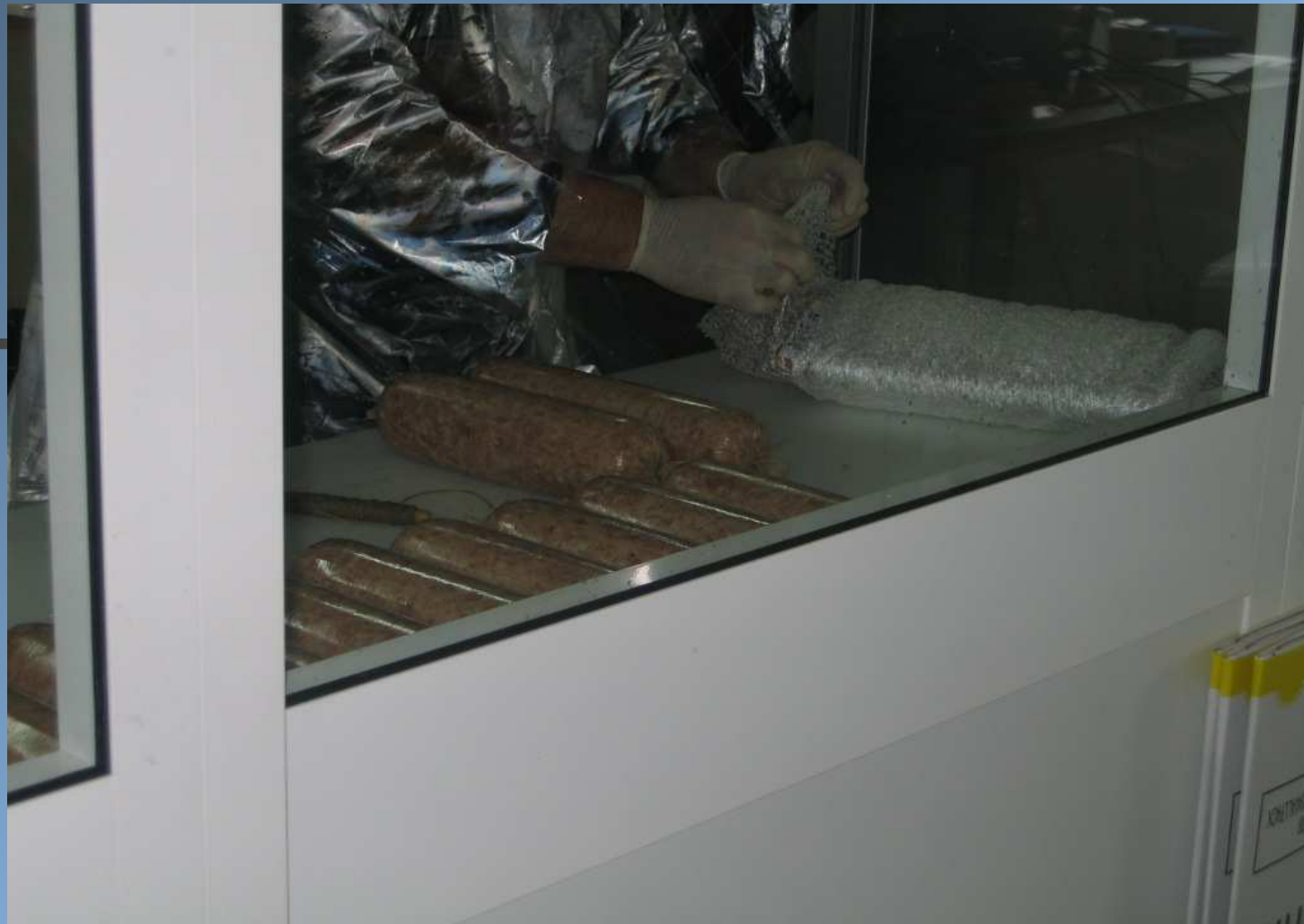


Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna



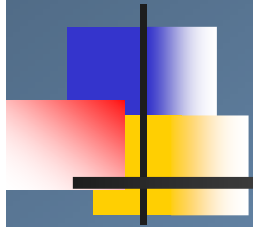


Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna



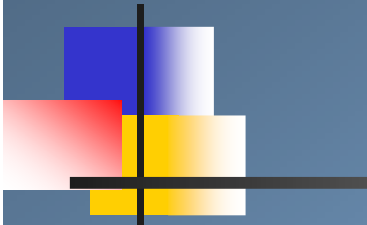


Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna



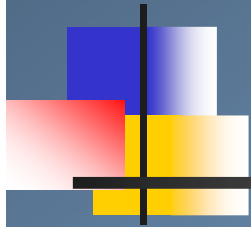


Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna





Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna





Risultati

Conta larve - Giorno 0



Salamella

GIORNO	REPLICA	CONTA TRICHINELLE/g
0	1	10.6
0	2	15.82
0	3	8.9

Salame Milano

GIORNO	REPLICA	CONTA TRICHINELLE/g
0	1	8.75
0	2	9.8
0	3	8.7

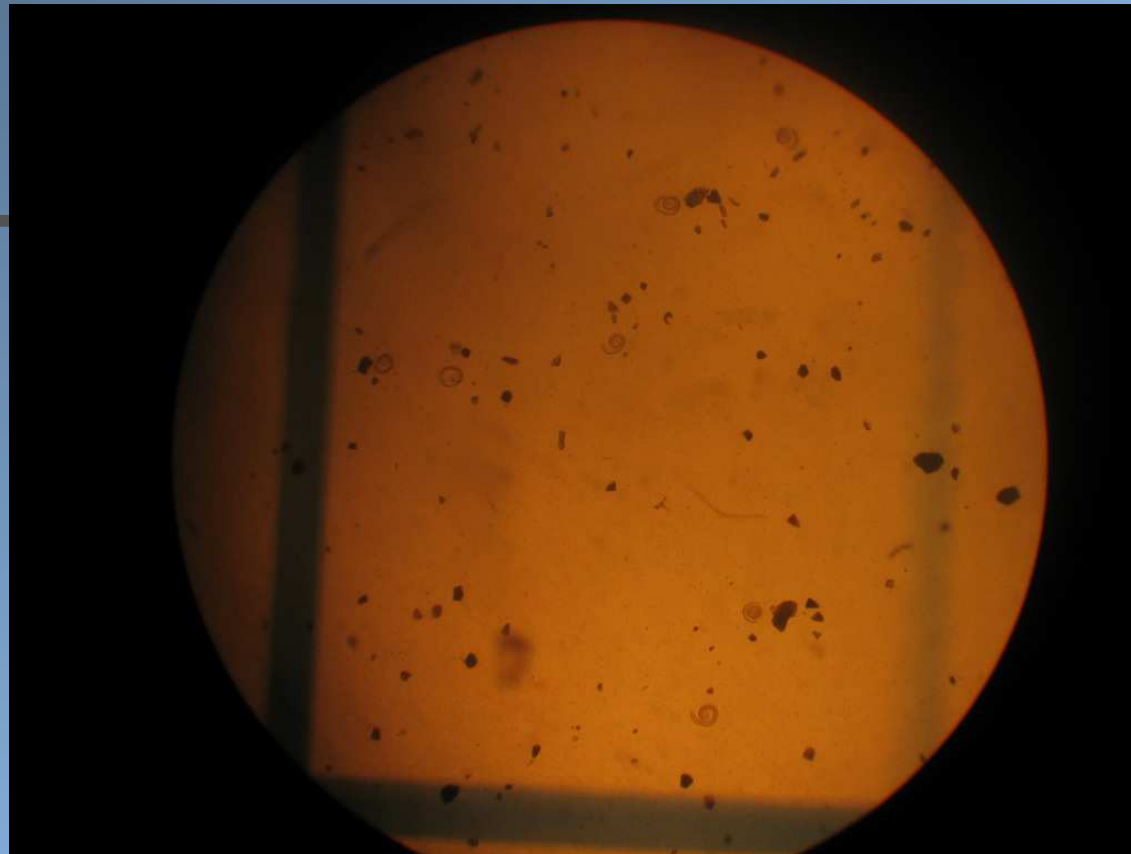
Salame Gentile

GIORNO	REPLICA	CONTA TRICHINELLE/g
0	1	6.2
0	2	3.8
0	3	13.2



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

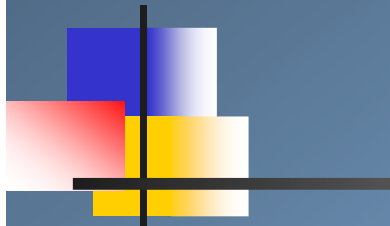
Risultati





Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Risultati





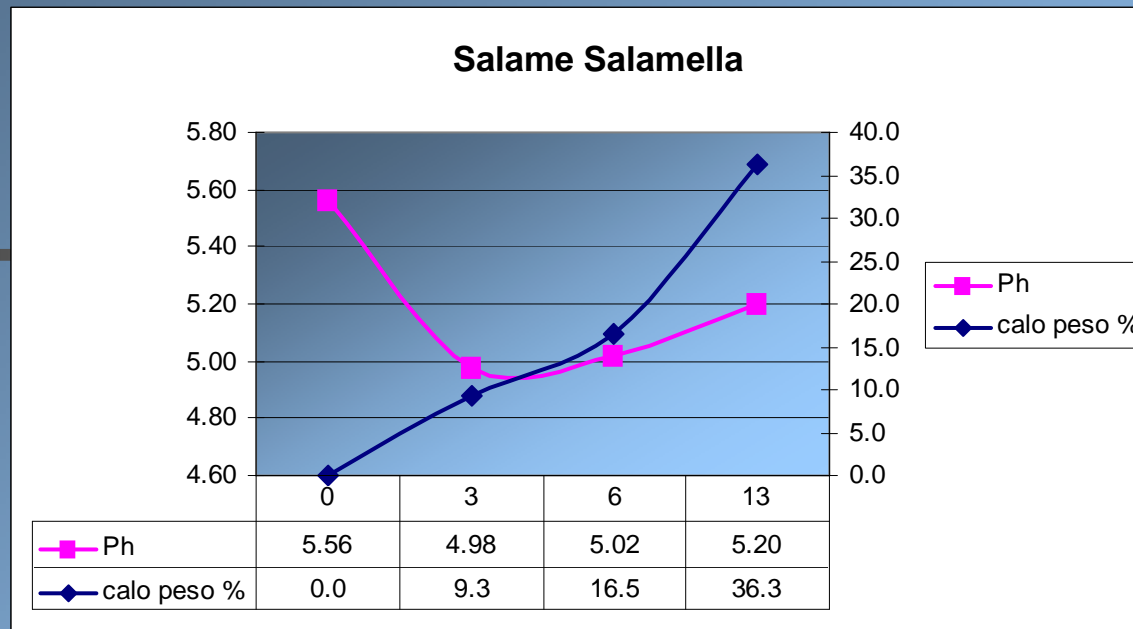
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Risultati





Risultati pH/calor peso/ A_w



A_w

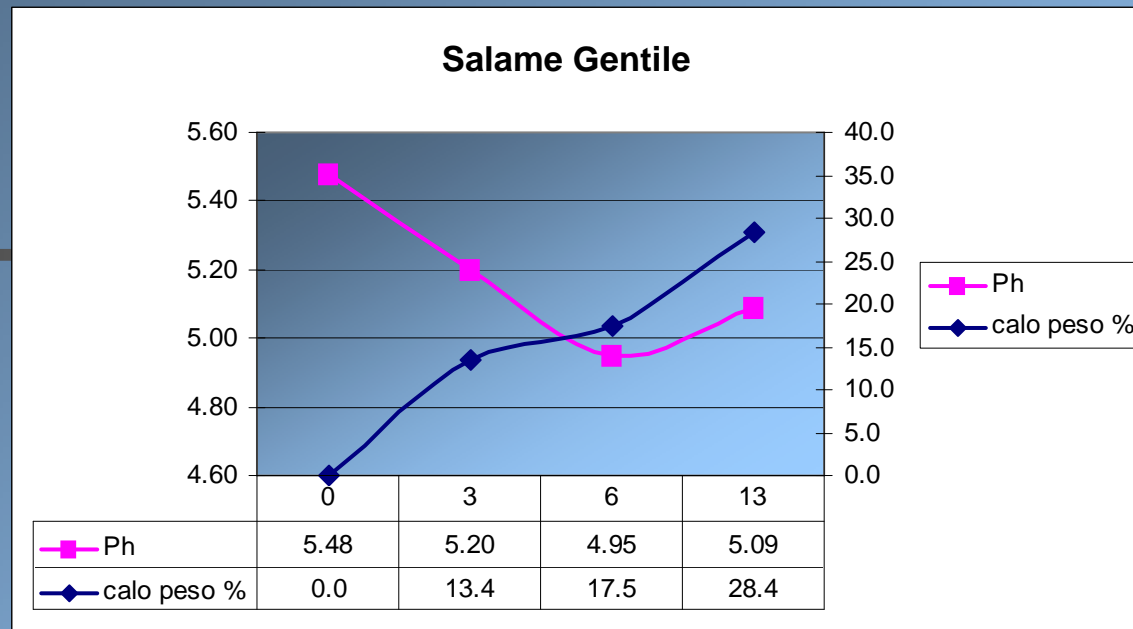
gg 0 0,968

gg 6 0,952

gg 13 0,946



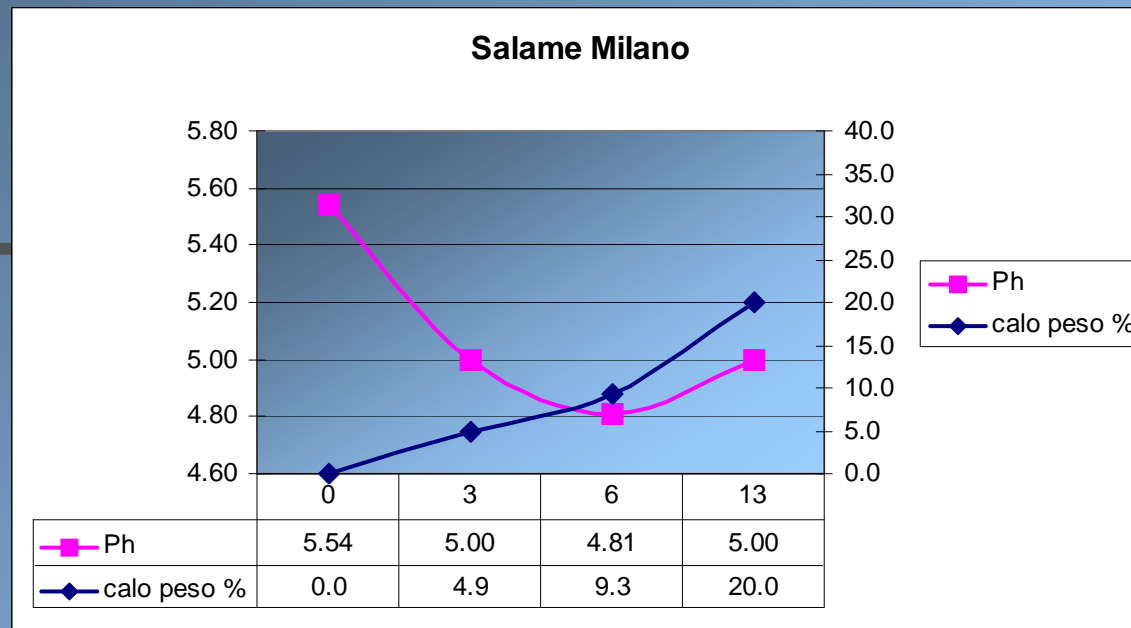
Risultati pH/calor peso/ A_w



A_w	gg 0	0,968
	gg 6	0,956
	gg 13	0,950



Risultati pH/calor peso/ A_w



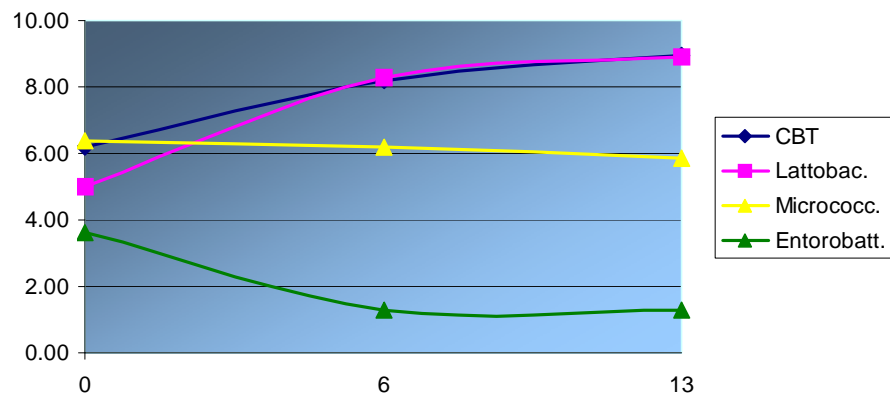
A_w	gg 0	0,969
	gg 6	0,952
	gg 13	0,948



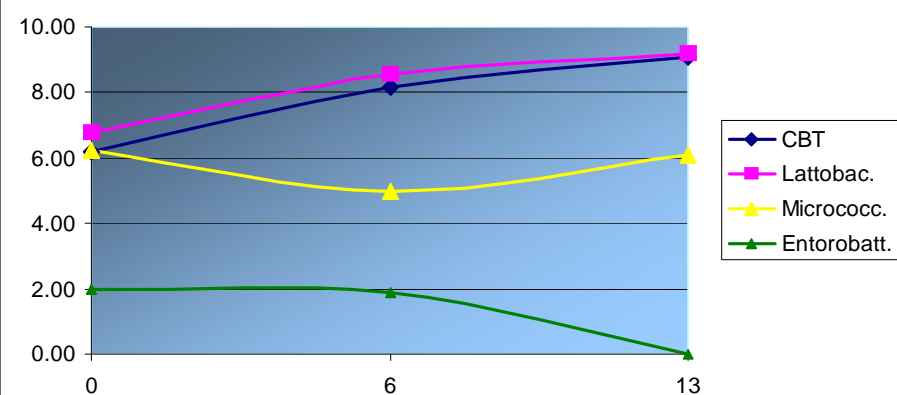
Risultati

Profilo microbiologico

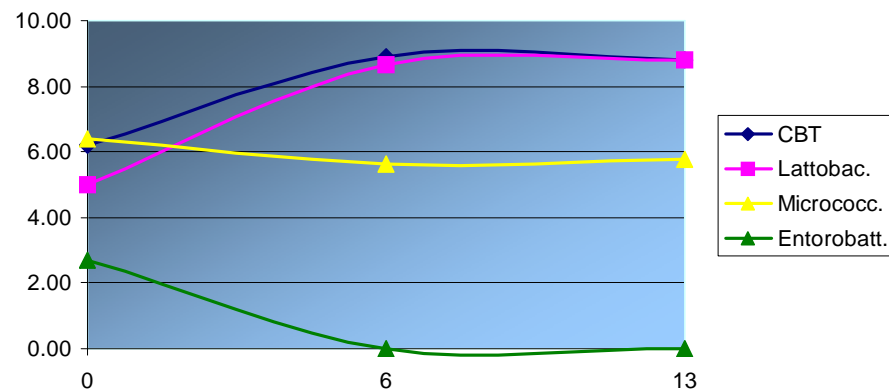
Salame Salamella



Salame Milano



Salame Gentile





Risultati

Profilo fisico-chimico

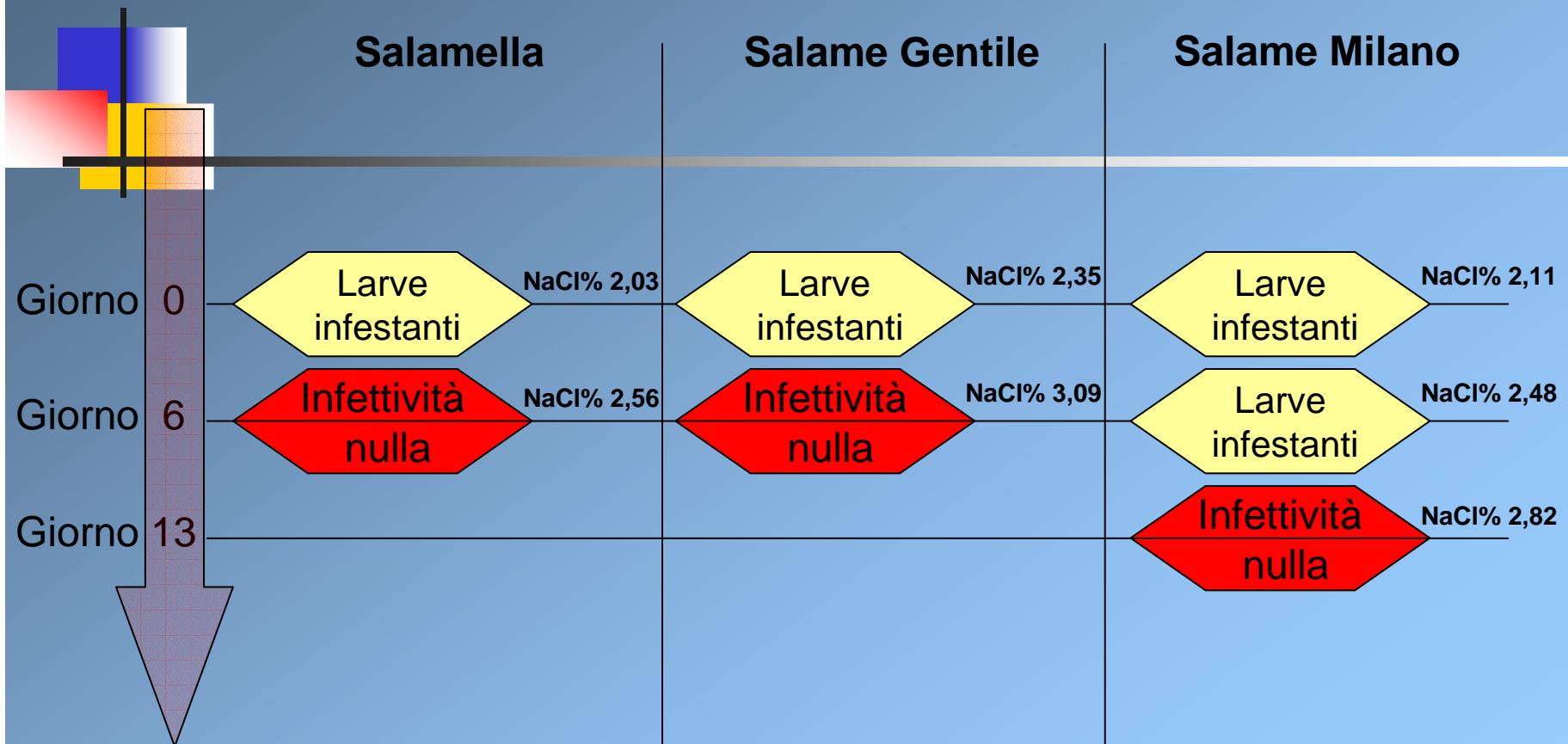
Salame Milano

gg	UR %	NaCl %	nitriti (ppm)	nitriti (ppm)	solfiti	Zuccheri	ac. Ascorbico (ppm)	ac. Citrico %	ac. Lattico (ppm)	bav mgN/100g
0	53.49	2.11	45	7	NR	0.54	<100	< 0,01	6170	9.8
6	52.99	2.48	45	8	NR	0.05	<100	< 0,01	5920	20.3
13	49.64	2.82	42	8	NR	0.06	<100	< 0,01	5862	28



Risultati

Infettività residua





Conclusioni

Salame di Genova (Smith *et al.*, 1989)

	Vitalità	Prova biologica
NaCl 2%	27gg (3% larve spiralate)	13gg
NaCl 2,75%	19gg	13gg
NaCl 3,3%	13gg	13gg



ALLEGATO II

Gli studi di cui all'articolo 3, paragrafo 2, comprendono:

- *prove per determinare le caratteristiche fisico-chimiche del prodotto, quali **pH**, **aw**, **contenuto salino**, concentrazione di conservanti e tipo di sistema di confezionamento, tenendo conto delle condizioni di lavorazione e di conservazione, delle possibilità di contaminazione e della conservabilità prevista,*
- *consultazione della **letteratura scientifica** disponibile e dei dati di ricerca sulle caratteristiche di sviluppo e di sopravvivenza dei microrganismi in questione.*

Se necessario, in base agli studi summenzionati, l'operatore del settore alimentare effettua studi ulteriori, che possono comprendere:

- ***modelli matematici predittivi** stabiliti per il prodotto alimentare in esame, utilizzando fattori critici di sviluppo o di sopravvivenza per i microrganismi in questione presenti nel prodotto,*
- ***prove** per determinare la capacità dei microrganismi in questione, debitamente **inoculati**, di svilupparsi o sopravvivere nel prodotto in diverse condizioni di conservazione ragionevolmente prevedibili,*
- ***studi** per valutare lo sviluppo o la sopravvivenza dei **microrganismi** in questione che possono essere **presenti** nel prodotto durante il periodo di conservabilità, in condizioni ragionevolmente prevedibili di distribuzione, conservazione e uso.*

Gli studi summenzionati tengono conto della variabilità intrinseca in funzione del prodotto, dei microrganismi in questione e delle condizioni di lavorazione e conservazione



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Microbiologia predittiva



**Nasce con studi su cinetica di inattivazione botulino
(Esty and Meyer, 1922)**

Si inizia a capire la possibile diffusione nell'industria alimentare negli anni 30 grazie a:

Scott (1937) Conoscenza dei tassi di crescita dei microrganismi a diverse temperature potrebbe essere utile a fare previsioni sullo spoilage delle carni bovine refrigerate

Non potè sviluppare la piena potenzialità a causa della carenza nella potenza di calcolo (PC), ma i suoi studi sull'effetto di T° , A_w e CO_2 permisero il trasporto di carni non congelate (primo esempio di "hurdle concept")



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

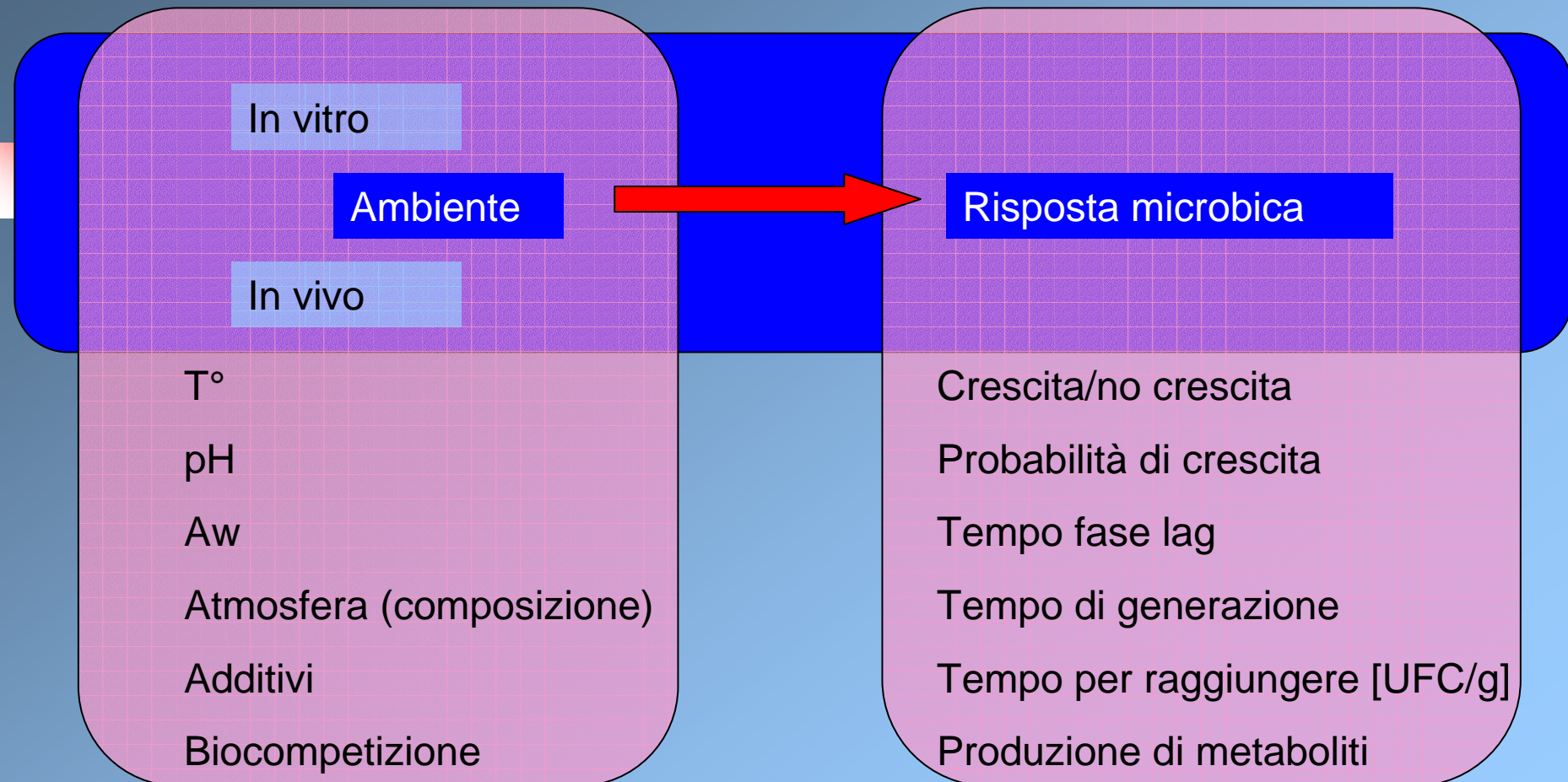
Microbiologia predittiva

Scott-diverso approccio

**Stima non restrospettiva della qualità e della sicurezza
alimentare**

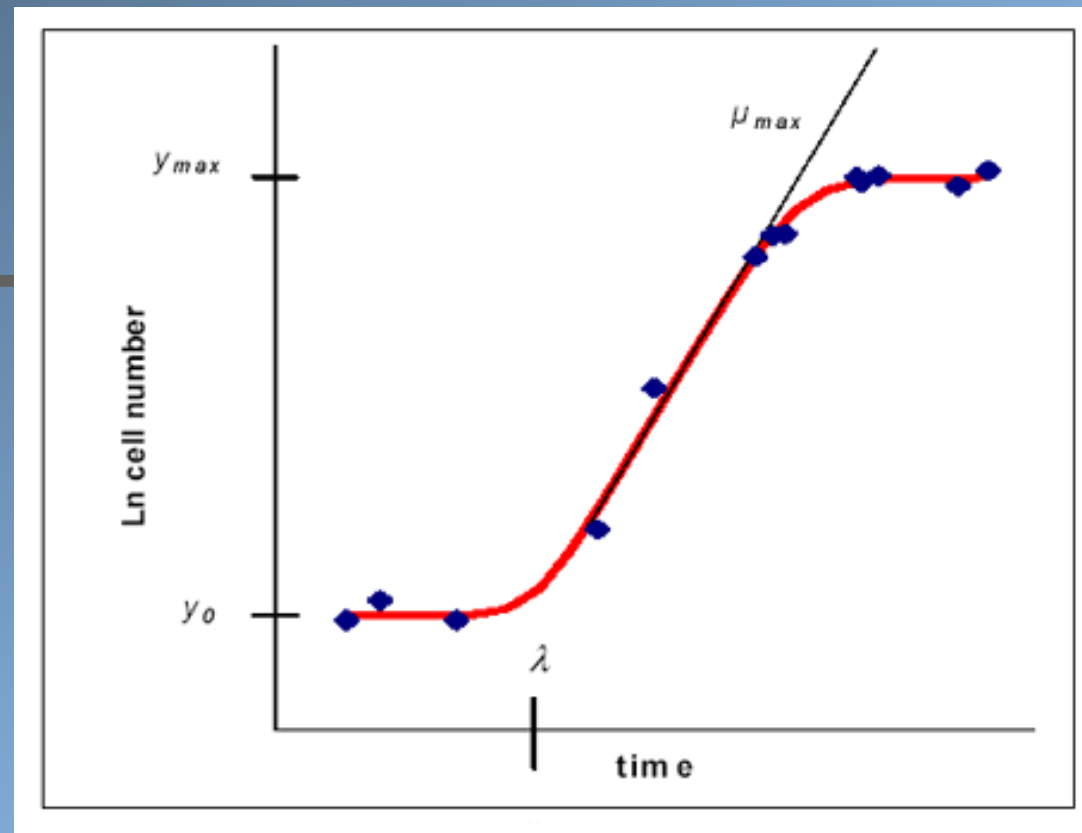


Microbiologia predittiva





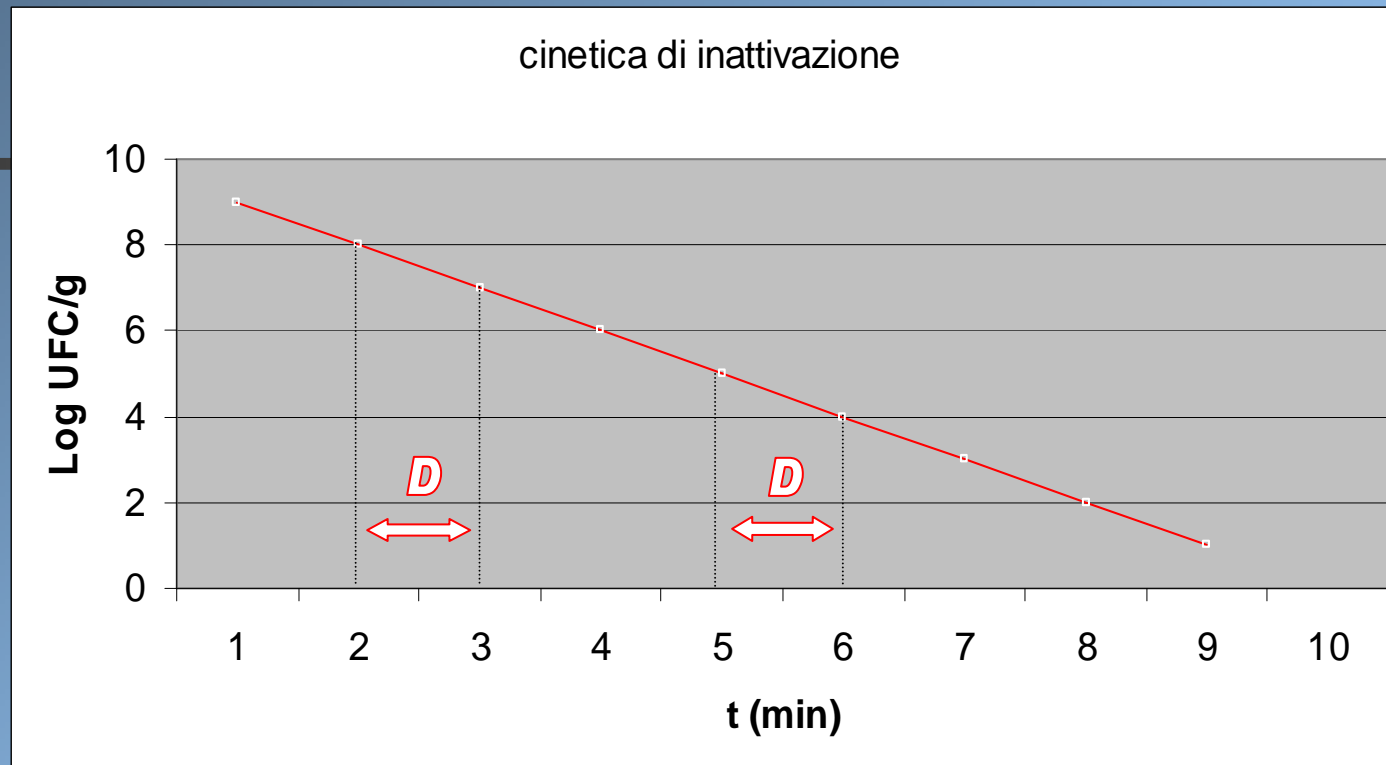
Parametri di crescita batterica



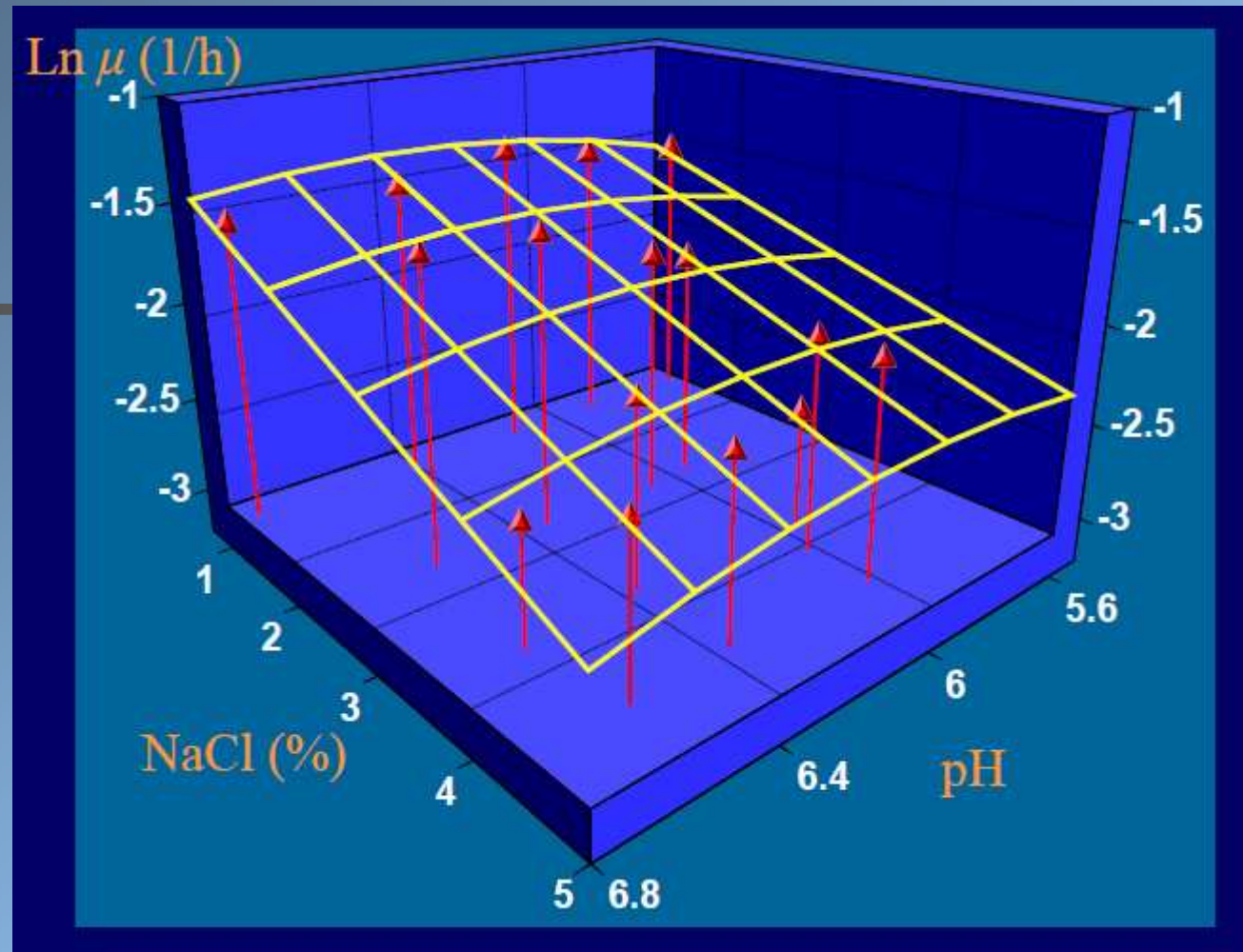
$$\text{Log ufc/g finali} = \mu^* \text{tempo} + \text{log ufc/g iniziali}$$



Parametri di morte batterica



$$\text{Log ufc/g finali} = D \cdot \text{tempo} + \text{log ufc/g iniziali}$$





Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

Warning: All ComBase Predictor models are based on extensive experimental data of microbial behaviour in liquid microbiological media. There can be no guarantee that predicted values will match those that would occur in any specific food system. The implementation of microbiological predictions from ComBase Predictor requires expert interpretation and you are responsible for ensuring that you have the necessary skill and expertise. Where you do not have such skill and expertise you should consult an expert in food microbiology. For queries regarding ComBase Predictor contact: combase@bbsrc.ac.uk

[How to use ComBase Predictor](#)

Growth model

Thermal inactivation model

Non thermal survival model

Temperature input

Static

Changing temperature

Water activity

NaCl

Aw

Observation duration

Time (h)

23.00

add a row

Aeromonas hydrophila

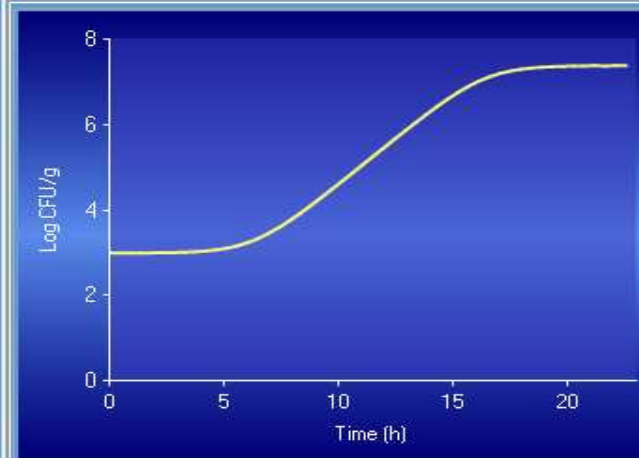
Initial level	Phys.state	T (°C)	pH	NaCl (%)	Max.rate (log.conc/h)	Dbl.time (h)
3	0.001836 Help	20	7	0.5	0.44	0.69

remove last row

Predict

Predictions

```
time (h)  conc. (Log10 cells/g)
0.00     3.00
0.00     3.00
0.46     3.00
0.92     3.00
1.38     3.00
1.84     3.00
2.30     3.01
2.76     3.01
3.22     3.02
3.68     3.03
```



[Other ComBase Modelling Tools](#)

[About ComBase Predictor](#)

[ComBase Predictor Help](#)

[ComBase Predictor FAQs](#)



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

warning. All ComBase Predictor models are based on extensive experimental data of microbial behaviour in liquid microbiological media. There can be no guarantee that predicted values will match those that would occur in any specific food system. The implementation of microbiological predictions from ComBase Predictor requires expert interpretation and you are responsible for ensuring that you have the necessary skill and expertise. Where you do not have such skill and expertise you should consult an expert in food microbiology. For queries regarding ComBase Predictor contact: combase@bbsrc.ac.uk

[How to use ComBase Predictor](#)

Growth model

Thermal inactivation model

Non thermal survival model

Temperature input

Static

Changing temperature

Water activity

NaCl

Aw

Observation duration

Time (h)

23.00

add a row

Aeromonas hydrophila

Aeromonas hydrophila

Bacillus cereus with CO2(%)

Bacillus licheniformis

Bacillus subtilis

Clostridium botulinum (non-prot.)

Clostridium botulinum (prot.)

Clostridium perfringens

Escherichia coli with CO2(%)

Listeria monocytogenes/innocua with CO2(%)

Listeria monocytogenes/innocua with nitrite(ppm)

Listeria monocytogenes/innocua with lactic(ppm)

Listeria monocytogenes/innocua with acetic(ppm)

Staphylococcus aureus

salmonellae with CO2(%)

salmonellae with nitrite(ppm)

Shigella flexneri with nitrite(ppm)

Yersinia enterocolitica with CO2(%)

Yersinia enterocolitica with lactic(ppm)

Brochothrix thermosphacta

Pseudomonas spp.

3.22 3.02

3.68 3.03

NaCl (%)

-7.5] [0.0-4.5]

0.5

Max.rate

(log.conc/h)

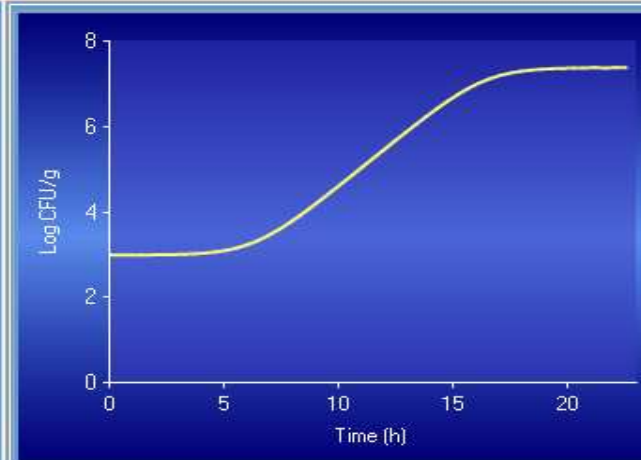
0.44

Dbl.time

(h)

0.69

move last row



[Other ComBase Modelling Tools](#)

[About ComBase Predictor](#)

[ComBase Predictor Help](#)

[ComBase Predictor FAQs](#)



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

[How to use ComBase Predictor](#)

Growth model

Thermal inactivation model

Non thermal survival model

Temperature input

Static

Changing temperature

Water activity

NaCl

Aw

Observation duration

Time (h)

add a row

salmonellae with CO2(%)

Initial level <=7	Phys.state [0-1]	T (°C) [7-40]	pH [3.9-7.4]	NaCl (%) [0.0-4.6]	CO2(%) [0-100]	Max.rate (log.conc/h)	Dbl.time (h)
-1.4	1 Help	<input type="text"/>	6	0.975	0	<input type="text"/>	<input type="text"/>

remove last row

Input your temperature profile in the textbox below and click the 'predict' button to generate predictions. The temperature inputs must be within the range [7-40]

0 25
1 25
2 21
6 21
7 8

[Show me how!](#)

Predict

Predictions



[Other ComBase Modelling Tools](#)

[About ComBase Predictor](#)

[ComBase Predictor Help](#)

[ComBase Predictor FAQs](#)



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

How to use ComBase Predictor

Growth model

Thermal inactivation model

Non thermal survival model

Temperature input

Static

Changing temperature

Water activity

NaCl

Aw

Observation duration

Time (h)

30

add a row

salmonellae with CO2(%)

Initial level <=7	Phys.state [0-1]	T (°C) [7-40]	pH [3.9-7.4]	NaCl (%) [0.0-4.6]	CO2(%) [0-100]	Max.rate (log.conc/h)	Dbl.time (h)
-1.4	1		6	0.975	0		

Help

remove last row

Input your temperature profile in the textbox below and click the 'predict' button to generate predictions. The temperature inputs must be within the range [7-40]

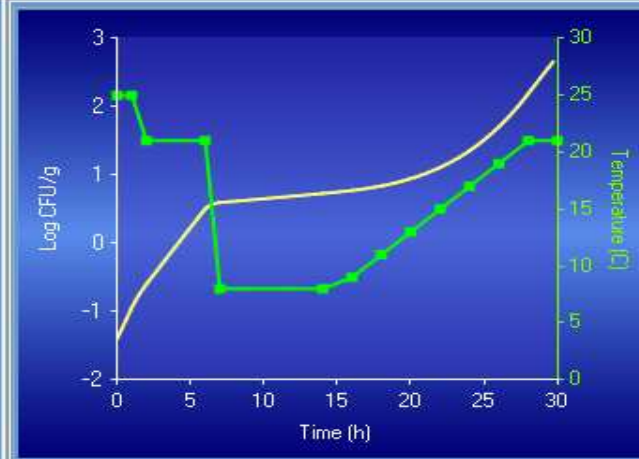
0 25
1 25
2 21
6 21
7 8

Show me how!

Predict

Predictions

time (h)	Temp. (C)	conc. (Log10 cells/g)
0.00	25.00	-1.40
0.30	25.00	-1.26
0.61	25.00	-1.12
0.91	25.00	-0.98
1.00	25.00	-0.94
1.21	24.15	-0.85
1.52	22.94	-0.75
1.82	21.73	-0.65
2.00	21.00	-0.60
2.12	21.00	-0.56



[Other ComBase Modelling Tools](#)

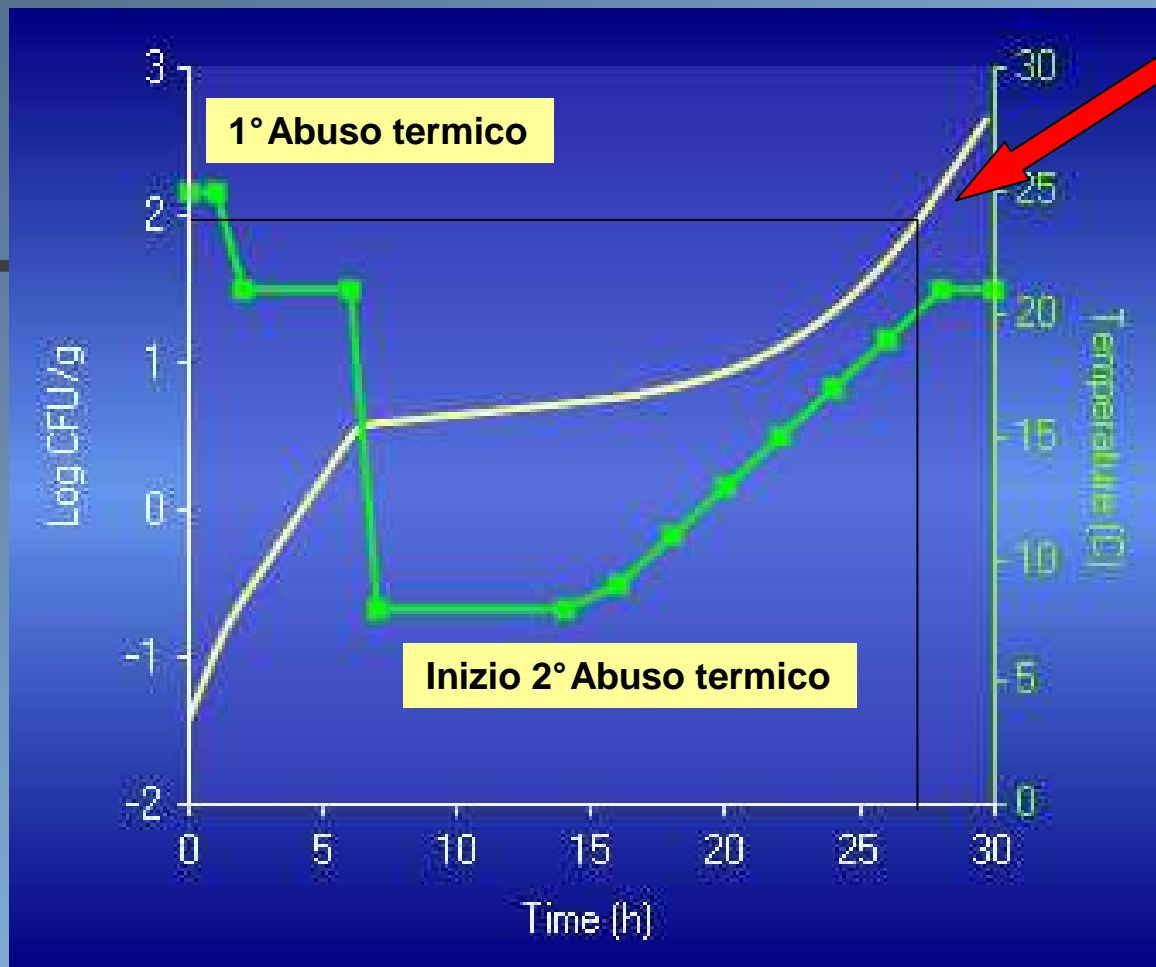
[About ComBase Predictor](#)

[ComBase Predictor Help](#)

[ComBase Predictor FAQs](#)



27 h 100 ufc/g





Strumenti di microbiologia predittiva disponibili

Pathogen Modeling Programme (USA)

- > 40 modelli di crescita, sopravvivenza ed inattivazione
- Aggiornato regolarmente (PMP vers. 7)
- Modelli and guide disponibili online

ComBase (UK, USA) – www.combase.cc

- ComBase Predictor (in precedenza Growth Predictor and Food MicroModel)
Modelli di crescita o inattivazione di 13 patogeni alimentari
- ComBase Browser
- Dati di crescita, sopravvivenza o inattivazione di microrganismi patogeni e alteranti
- ~40000 curve crescita/inattivazione

Opti-Form Listeria control model 2007 (PURAC)

- http://www.purac.com/purac_com/d9ed26800a03c246d4e0ff0f6b74dc1b.php
- Effetto di acidi organici, temperatura, pH sulla crescita di *L. monocytogenes*



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Strumenti di microbiologia predittiva disponibili

Seafood Spoilage and Safety Predictor (DK) – www.difres.dk/micro/sssp/

- *Listeria monocytogenes* e produzione di istamina

Refrigeration index calculator (Australien) – www.mla.com.au/publications

- Crescita di *E. coli* durante il raffreddamento della carne

Perfringens Predictor (UK) - www.ifr.ac.uk/Safety/GrowthPredictor/

- Growth of *Clostridium perfringens* during chilling of food

Process Lethality Determination spreadsheet (AMI Foundation, USA)

www.amif.org/FactsandFigures/AMIF-Process-ProcessLethality.htm

- Calcolo dei tempi di inattivazione termica



Negli ultimi dieci anni sono stati elaborati un significativo numero di modelli per la previsione della crescita dei principali batteri alteranti e patogeni...



Organismi patogeni

Aeromonas hydrophila, sobria, caviae
Bacillus cereus (spores and veg)
Escherichia coli (also NPEC)
Listeria monocytogenes/innocua
Staphylococcus aureus
Shigella flexneri
Salmonelle
Yersinia enterocolitica

Microrganismi alteranti

Pseudomonas spp.
Lattobacilli
Enterobatteri
Brochothrix thermosphacta



.... ma non trovano ancora vasta applicazione nell'industria



I motivi?

- Lo sviluppo dei modelli è basato su osservazioni in laboratorio. Condizioni sperimentali strettamente controllate. Le predizioni basate su questi modelli non sono necessariamente valide in sistemi alimentari complessi come i prodotti a base di carne, per esempio: matrice, interazione tra microrganismi
- I modelli sono indirizzati allo studio degli effetti dei parametri ambientali sul massimo tasso di crescita specifico, senza tener conto della fase lag
- Molti modelli sono sviluppati e validati sotto condizioni di temperatura statica.

Error of prediction in the growth region

Primary error:
ca 10%

Model
prediction

Broth data sets.
Some of them (filled
circles) are used to create
the model.

Overall error:
ca 50%

Increasing (1) heterogeneity,
(2) variability and (3) uncertainty

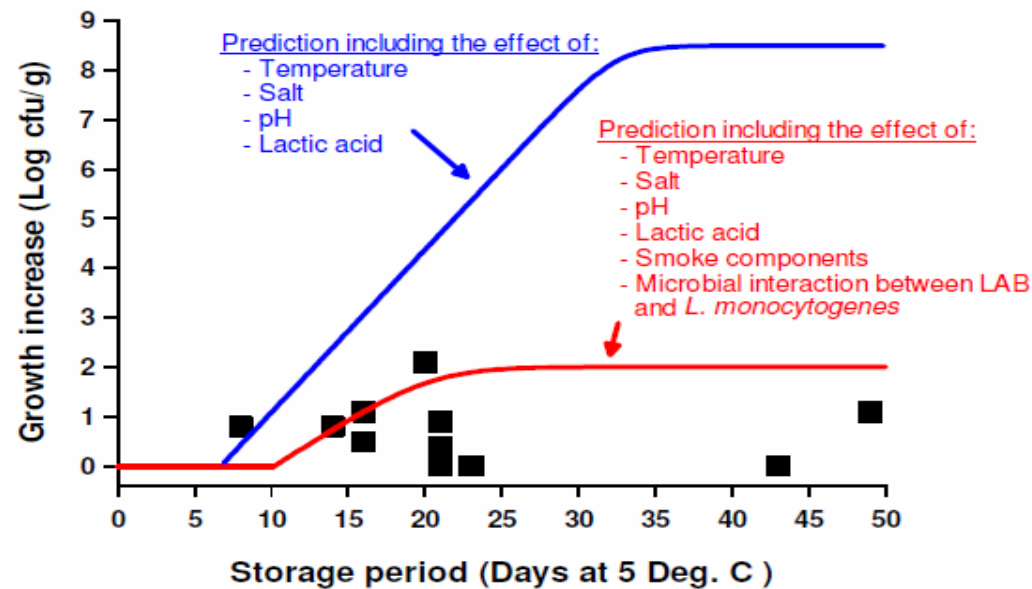
Observations
in natural food



Evaluation of *Listeria monocytogenes* growth models (seafood example)



- Complexity of a growth model must match the complexity of food where predictions are needed
- Example with growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated vacuum packed cold-smoked salmon





ALLEGATO II

Gli studi di cui all'articolo 3, paragrafo 2, comprendono:

- *prove per determinare le caratteristiche fisico-chimiche del prodotto, quali pH, aw, contenuto salino, concentrazione di conservanti e tipo di sistema di confezionamento, tenendo conto delle condizioni di lavorazione e di conservazione, delle possibilità di contaminazione e della conservabilità prevista,*
- *consultazione della letteratura scientifica disponibile e dei dati di ricerca sulle caratteristiche di sviluppo e di sopravvivenza dei microrganismi in questione.*

Se necessario, in base agli studi summenzionati, l'operatore del settore alimentare effettua studi ulteriori, che possono comprendere:

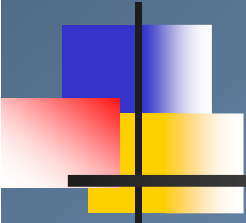
- *modelli matematici predittivi stabiliti per il prodotto alimentare in esame, utilizzando fattori critici di sviluppo o di sopravvivenza per i microrganismi in questione presenti nel prodotto,*
- *prove per determinare la capacità dei microrganismi in questione, debitamente inoculati, di svilupparsi o sopravvivere nel prodotto in diverse condizioni di conservazione ragionevolmente prevedibili,*
- *studi per valutare lo sviluppo o la sopravvivenza dei microrganismi in questione che possono essere presenti nel prodotto durante il periodo di conservabilità, in condizioni ragionevolmente prevedibili di distribuzione, conservazione e uso.*

Gli studi summenzionati tengono conto della variabilità intrinseca in funzione del prodotto, dei microrganismi in questione e delle condizioni di lavorazione e conservazione



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Consultazione letteratura



Banche dati bibliografiche

Combase



- About ComBase
- Access ComBase
- Modelling Toolbox
- Submit Data
- Support
- Training
- FAQs
- Links

HOME > [Browser Home](#) > [Search Options](#) > [Search](#)

SEARCH STATIC DATA BY CRITERIA

[Search Static Data by Source or Key](#) | [Search Dynamic Data by Criteria](#)

Please select search terms and define ranges for temperature, pH, and either water activity or NaCl (the two are linked by assuming NaCl solution in water).

Search Criteria

- Food Type
- Organisms
- Conditions

	Min	Max	
temperature	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="40"/>	(°C)
pH	<input type="text" value="4.0"/>	<input type="text" value="7.5"/>	<input checked="" type="checkbox"/> Include where unspecified
water activity	<input type="text" value="0.73"/>	<input type="text" value="1.00"/>	<input checked="" type="checkbox"/> Include where unspecified
NaCl	<input type="text" value="0"/>	<input type="text" value="30"/>	(%) <input checked="" type="checkbox"/> Include where unspecified

Search

Switch to NaCl

Retrieved records: 32801 Matches

Selection	Matching Records	Combined with Previous
All records	40740	40740
Food type	40740	40740
Organism	40740	40740
Temperature	35079	35079
pH	38480	33146
Water activity	40283	32801
Conditions	40740	32801

Please narrow your search to 500 or less records to view details or summaries.

Please narrow your search to 500 or less records to download to CSV, or download individual records from the View Details page.

Warning!

This database was designed as a research and instructional tool for estimating the effects of multiple variables on the growth, survival and inactivation of foodborne pathogens.



- About ComBase
- Access ComBase
- Modelling Toolbox
- Submit Data
- Support
- Training
- FAQs
- Links

HOME > [Browser Home](#) > [Search Options](#) > [Search](#)

SEARCH STATIC DATA BY CRITERIA

[Search Static Data by Source or Key](#) | [Search Dynamic Data by Criteria](#)

Please select search terms and define ranges for temperature, pH, and either water activity or NaCl (the two are linked by assuming NaCl solution in water).

Search Criteria

- Food Type
 - Beef (2551)
 - Bread (236)
 - Cheese (551)
 - Culture medium (26923)
 - Dessert food (258)
 - Egg or egg product (665)
 - Infant_food (203)
 - Juice, beverage (118)
 - Milk (1226)
 - Other or unknown type of dairy (526)
 - Other or unknown type of meat (510)
 - Other, mixed, uncategorised or unknown type of food (1233)
 - Pork (1425)
 - Poultry (1528)
 - Sauce/Dressing (76)
 - Sausage (600)
 - Seafood (1050)
 - Vegetable or fruit and their products (939)
 - Water (122)
- Organisms
- Conditions

Retrieved records: 32801 Matches

Selection	Matching Records	Combined with Previous
All records	40740	40740
Food type	40740	40740
Organism	40740	40740
Temperature	35079	35079
pH	38480	33146
Water activity	40283	32801
Conditions	40740	32801

Please narrow your search to 500 or less records to view details or summaries.

Please narrow your search to 500 or less records to download to CSV, or download individual records from the View Details page.

temperature (°C)



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

- Sausage (600)
- Seafood (1050)
- Vegetable or fruit and their products (939)
- Water (122)
- Organisms
 - aerobic total spoilage bacteria (519)
 - Aeromonas caviae (432)
 - Aeromonas hydrophila (2636)
 - Aeromonas sobria (576)
 - Bacillus cereus (2639)
 - Bacillus licheniformis (327)
 - Bacillus pumilus (0)
 - bacillus spoilage bacteria (65)
 - Bacillus subtilis (1054)
 - Brochothrix thermosphacta (758)
 - Campylobacter (506)
 - Clostridium botulinum (non-prot.) (357)
 - Clostridium botulinum (prot.) (367)
 - Clostridium perfringens (1171)
 - enterobacteriaceae (550)
 - Enterococci (0)
 - Escherichia coli (5360)
 - halophilic bacteria (604)
 - lactic acid bacteria (860)
 - Listeria monocytogenes/innocua (9420)
 - micrococci (30)
 - mould (0)
 - non-proteolytic psychrotrophic clostridia (0)
 - Paenibacillus odorifer (43)
 - Paenibacillus polymyxa (0)
 - Photobacterium phosphoreum (80)
 - pseudomonads (1146)
 - psychrotrophic bacteria (134)
 - salmonella spp (5495)
 - Shewanella putrefaciens (57)
 - Shigella flexneri and relatives (895)
 - spoilage yeast (44)

Please narrow your search to 500 or less records to download to CSV, or download individual records from the View Details page.



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

- Spoilage yeast (44)
- Staphylococcus aureus (1947)
- Staphylococcus xylosum (0)
- vibrio spp. (466)
- yeast (0)
- Yersinia enterocolitica (2202)
- [-] Conditions
 - Atmosphere
 - Anaerobic environment (2263)
 - Carbon-dioxide in the environment (2539)
 - Modified atmosphere environment (293)
 - Nitrogen in the environment (2256)
 - Oxygen (aerobic conditions) in the environment (1228)
 - Pressure controlled (81)
 - Vacuum-packed (1818)
 - Preparation
 - Microbial flora
 - Additives
 - Other

	Min	Max	
temperature	4	4	(°C)
pH	6.5	7.0	<input checked="" type="checkbox"/> Include where unspecified
water activity	0.96	0.98	<input checked="" type="checkbox"/> Include where unspecified
NaCl	4	4	(%) <input checked="" type="checkbox"/> Include where unspecified

Warning!

This database was designed as a research and instructional tool for estimating the effects of multiple variables on the growth, survival and inactivation of foodborne pathogens.

Although every care has been taken in the collection of these microbiology data, the final conditions of their use are outside the control of ARS-ERRC, FSA and IFR. Expert interpretation is required and users must determine if they have the necessary skills for

[About ComBase](#)[Access ComBase](#)[Modelling Toolbox](#)[Submit Data](#)[Support](#)[Training](#)[FAQs](#)[Links](#)[HOME](#) > [Browser Home](#) > [Search Options](#) > [Search](#)

SEARCH STATIC DATA BY CRITERIA

[Search Static Data by Source or Key](#) | [Search Dynamic Data by Criteria](#)

Please select search terms and define ranges for temperature, pH, and either water activity or NaCl (the two are linked by assuming NaCl solution in water).

Search Criteria

- Food Type
 - Beef (2551)
 - Bread (236)
 - Cheese (551)
 - Culture medium (26923)
 - Dessert food (258)
 - Egg or egg product (665)
 - Infant_food (203)
 - Juice, beverage (118)
 - Milk (1226)
 - Other or unknown type of dairy (526)
 - Other or unknown type of meat (510)
 - Other, mixed, uncategorised or unknown type of food (1233)
 - Pork (1425)
 - Poultry (1528)
 - Sauce/Dressing (76)
 - Sausage (600)
 - Seafood (1050)
 - Vegetable or fruit and their products (939)
 - Water (122)
- Organisms
 - aerobic total spoilage bacteria (519)
 - Aeromonas caviae (432)
 - Aeromonas hydrophila (2636)
 - Aeromonas sobria (576)

Retrieved records: 12 Matches

Selection	Matching Records	Combined with Previous
All records	40740	40740
Food type	1425	1425
Organism	9420	615
Temperature	2229	108
pH	13158	12
Water activity	23969	12
Conditions	1818	12

[View Summary](#) [View Details](#)[Download to CSV](#)



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

ComBase Browser - Result Details - Windows Internet Explorer

http://combase.arserrc.gov/ResultDetails.aspx?Q=24274

Google Effettua la ricerca Segnalibri Controllo Traduci Entra

ComBase Browser - Result Details

COMBASE SEARCH RESULT DETAILS FOR RECORD ID: GMW_0352 [View Summary](#)

First Back 10 Previous Next Forward 10 Last [1/12 matches] [Download GMW_0352 to CSV](#)

Record Details

Organism: *Listeria monocytogenes/innocua*
Food type: Pork (In: smoked-cooked ham)
Temperature: 4 °C
pH: Not reported
Water activity: Not reported
NaCl: Not reported
Maximum Rate (log₁₀(CFU/h)): See data
Conditions: Vacuum-packed

Record Data (GMW_0352)

Time (h)	log cell/g
0.00	1.000
168.00	1.000
336.00	1.000
672.00	1.000
1008.00	1.800
1344.00	1.400
1680.00	6.000
2016.00	6.700
2352.00	6.700
2688.00	5.000
3024.00	6.600

Concentration (log cell/g)

Time (h)

■ *Listeria monocytogenes/innocua* (log cell/g)

[Compare with Prediction](#) [Fit the Data](#)

Source: Seman (et al.), 2002: Modeling the growth of *Listeria monocytogenes* in cured ready-to-eat processed meat products by manipulation of sodium chloride, sodium diacetate, potassium lactate and product moisture content. *J Food Prot.* 65: 651

Further Specifications: Species: *L.monocytogenes*, Strain(s): LCDC861 F2399 NFPA83 MAD225 MAD328. Mixed_strains. Measurement by colony counts.

Internet 100% 10.44



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

Input your data in the textbox below.

```
0.00 1.00
168.00 1.00
336.00 1.00
672.00 1.00
1008.00 1.80
1344.00 1.40
1680.00 6.00
2016.00 6.70
2352.00 6.70
2688.00 5.00
```

Show me how!

Choose a model:

Baranyi and Roberts

Linear, biphasic or trilinear models

Complete model

Trilinear

No lag

Biphasic (No lag)

No asymptote

Biphasic (No asymptote)

Linear

Display data

Fit

Convergence

R-square 0.9476

SE of Fit 0.6097

Estimated parameters and standard errors

Initial value

1.1600 0.2727

Lag/ shoulder

1372.3323 113.1205

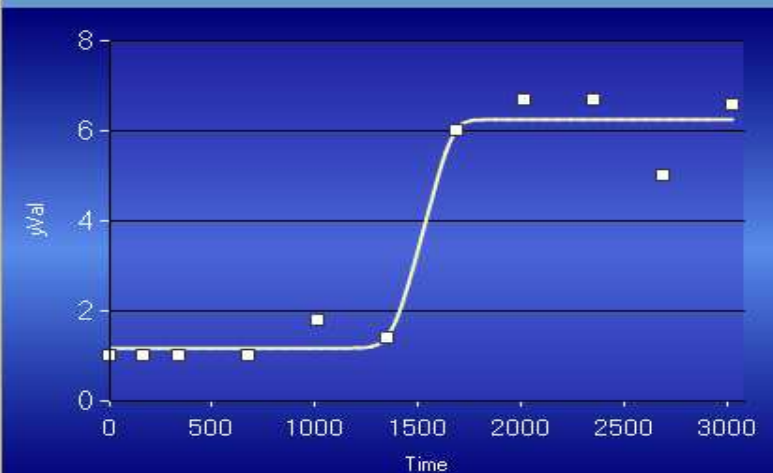
Maximum rate

0.0173 0.0087

Final value

6.2500 0.3048

```
time fitted value
0.00 1.16
60.48 1.16
120.96 1.16
181.44 1.16
241.92 1.16
302.40 1.16
362.88 1.16
423.36 1.16
483.84 1.16
544.32 1.16
604.80 1.16
665.28 1.16
725.76 1.16
786.24 1.16
```



How to use DMFit

How to input your data

About the models



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

ComBase Browser - Result Details - Windows Internet Explorer

http://combase.arserrc.gov/ResultDetails.aspx?Q=24274

Google Effettua la ricerca Segnalibri Controllo Traduci Entra

ComBase Browser - Result Details

COMBASE SEARCH RESULT DETAILS FOR RECORD ID: GMW_0352 [View Summary](#)

First Back 10 Previous Next Forward 10 Last [1/12 matches] [Download GMW_0352 to CSV](#)

Record Details

Organism: *Listeria monocytogenes/innocua*
Food type: Pork (In: smoked-cooked ham)
Temperature: 4 °C
pH: Not reported
Water activity: Not reported
NaCl: Not reported
Maximum Rate (log₁₀(CFU/h)): See data
Conditions: Vacuum-packed

Record Data (GMW_0352)

Time (h)	log cell/g
0.00	1.000
168.00	1.000
336.00	1.000
672.00	1.000
1008.00	1.800
1344.00	1.400
1680.00	6.000
2016.00	6.700
2352.00	6.700
2688.00	5.000
3024.00	6.600

Concentration (log cell/g)

Time (h)

Listeria monocytogenes/innocua (log cell/g)

[Compare with Prediction](#) [Fit the Data](#)

Source: Seman (et al.), 2002: Modeling the growth of *Listeria monocytogenes* in cured ready-to-eat processed meat products by manipulation of sodium chloride, sodium diacetate, potassium lactate and product moisture content. *J Food Prot.* 65: 651

Further Specifications: Species: *L.monocytogenes*, Strain(s): LCDC861 F2399 NFPA83 MAD225 MAD328. Mixed_strains. Measurement by colony counts.

Internet 100% 10.44

Record details

ComBase ID	GMW_0352	Microorganism	<i>Listeria monocytogenes/innocua</i>
------------	----------	---------------	---------------------------------------

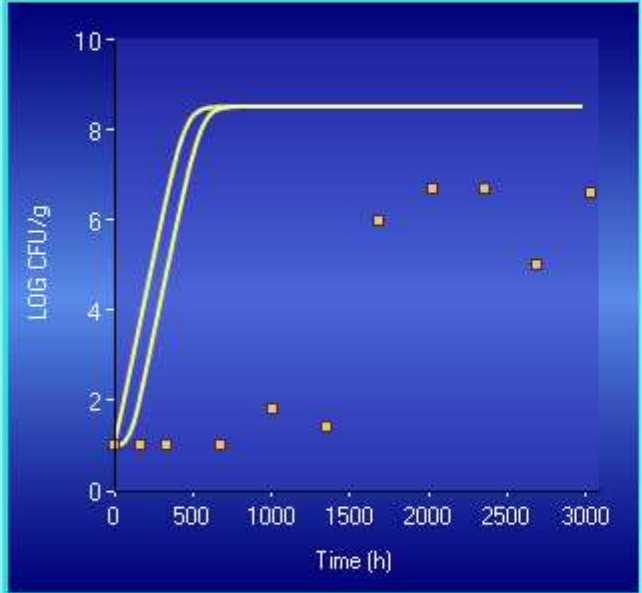
Environmental conditions

C)	pH	NaCl (%)	Aw	Assumed	Nitrite (ppm)	CO2 (%)	oregano (%)	sorbic (ppm)	acetic (ppm)	lactic (ppm)	propionic (ppm)	citric (ppm)	ascorbic (ppm)

Predictions are performed with the models from *ComBase Predictor*, according to the environmental conditions reported for this record. [Click here](#) for further information on predictions.

Predicted specific growth rate 0.0385 (1/h)
 = Rate on log10 scale 0.0167 (log10 cell conc./ h)

Log counts	Predictions no lag	Predictions lag
0.00 1.00	0.00 1.00	0.00 1.00
168.00 1.00	0.00 1.00	0.00 1.00
336.00 1.00	60.48 1.07	60.48 2.01
672.00 1.00	120.96 1.49	120.96 3.03
1008.00 1.80	181.44 2.35	181.44 4.04
1344.00 1.40	241.92 3.35	241.92 5.05
1680.00 6.00	302.40 4.36	302.40 6.04
2016.00 6.70	362.88 5.36	362.88 6.98
2352.00 6.70	423.36 6.35	423.36 7.76
2688.00 5.00	483.84 7.25	483.84 8.24
3024.00 6.60	544.32 7.95	544.32 8.44
	604.80 8.32	604.80 8.50
	665.28 8.47	665.28 8.52





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
della Lombardia e dell'Emilia Romagna

AIVI

XIX Convegno Nazionale



**SVILUPPO DI *Listeria innocua* IN COPPA DI
TESTA NATURALMENTE CONTAMINATA**

**Bardasi L.¹, Bonilauri P.¹, Rugna G.¹, Galletti G.¹, Fedrizzi G.¹,
Santandrea G.², Gandolfi P.², Vecchi G.³, Merialdi G.¹**

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

² AUSL Bologna Servizio Veterinario Area Sud

³ Libero professionista

Perugia, 24-26 giugno 2009



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
della Lombardia e dell'Emilia Romagna

INTRODUZIONE

Materie prime: spolpo di testa suina, con lingua di maiale, cotenna, spezie



Stoccaggio delle carni scelte in cella

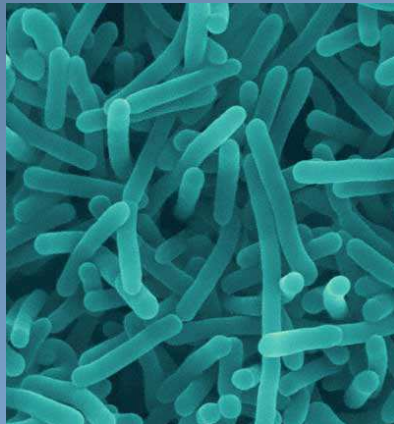
Cottura 97°C x 5h

Pesatura e concia

Insaccatura ed etichettatura

Lavaggio

Raffreddamento in cella



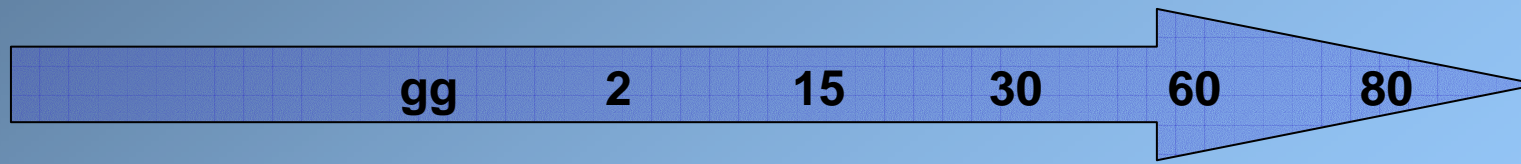


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
della Lombardia e dell'Emilia Romagna

Materiali e metodi

DISEGNO SPERIMENTALE

3 lotti di produzione



Lotto 1 (n=25)	5	5	5	5	5
Lotto 2 (n=25)	5	5	5	5	5
Lotto 3 (n=25)	5	5	5	5	5



Materiali e metodi

DETERMINAZIONI ANALITICHE

Ricerca <i>Listeria monocytogenes/spp.</i>
Numerazione <i>Listeria monocytogenes/spp.</i>

5 campioni x lotto x t

Determinazioni microbiologiche

pH
Attività dell'acqua (A_w)

Determinazioni chimico-fisiche

Pool di 5 campioni x lotto x t

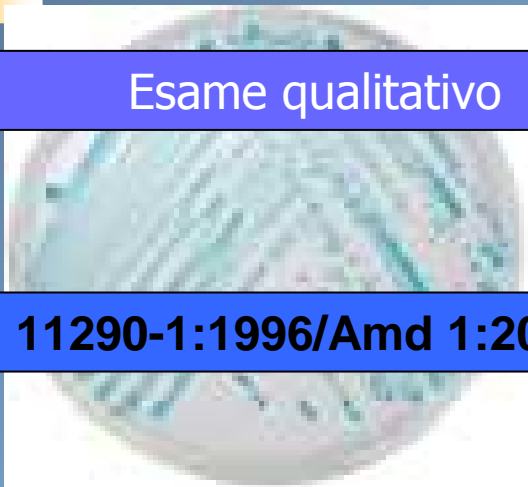


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
della Lombardia e dell'Emilia Romagna

Materiali e metodi

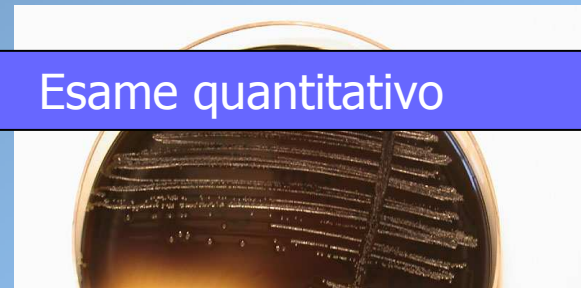
Determinazioni microbiologiche

Esame qualitativo



ISO 11290-1:1996/Amd 1:2004

Esame quantitativo



Numerazione di *Listeria* spp.

- Su Listeria Selective Oxford Agar
- Incubazione 37°C x 48h
- Lettura per valutare la presenza di colonie riferibili a *Listeria* spp. e conteggio
- Test di conferma *Listeria innocua*



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
della Lombardia e dell'Emilia Romagna

Materiali e metodi

Determinazioni microbiologiche

Esame qualitativo

Positivo

Positivo

Negativo

Esame quantitativo

Carica rilevabile

Negativo (<l.r. UFC/g)

Negativo (<l.r. UFC/g)

Carica rilevata

Media tra l. r. qual. (0,04 UFC/g) e l.r. quant.

Media tra 0 UFC/g e 0,04 UFC/g (l.r. del metodo qualitativo)



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
della Lombardia e dell'Emilia Romagna

Materiali e metodi

ESPRESSIONE DEI RISULTATI MICROBIOLOGICI

Cariche batteriche

Risultati traformati in **Log (UFC/g)**

Per ogni t e per ogni lotto risultato = **media aritmetica di 5 campioni**



Software Microfit 1.0

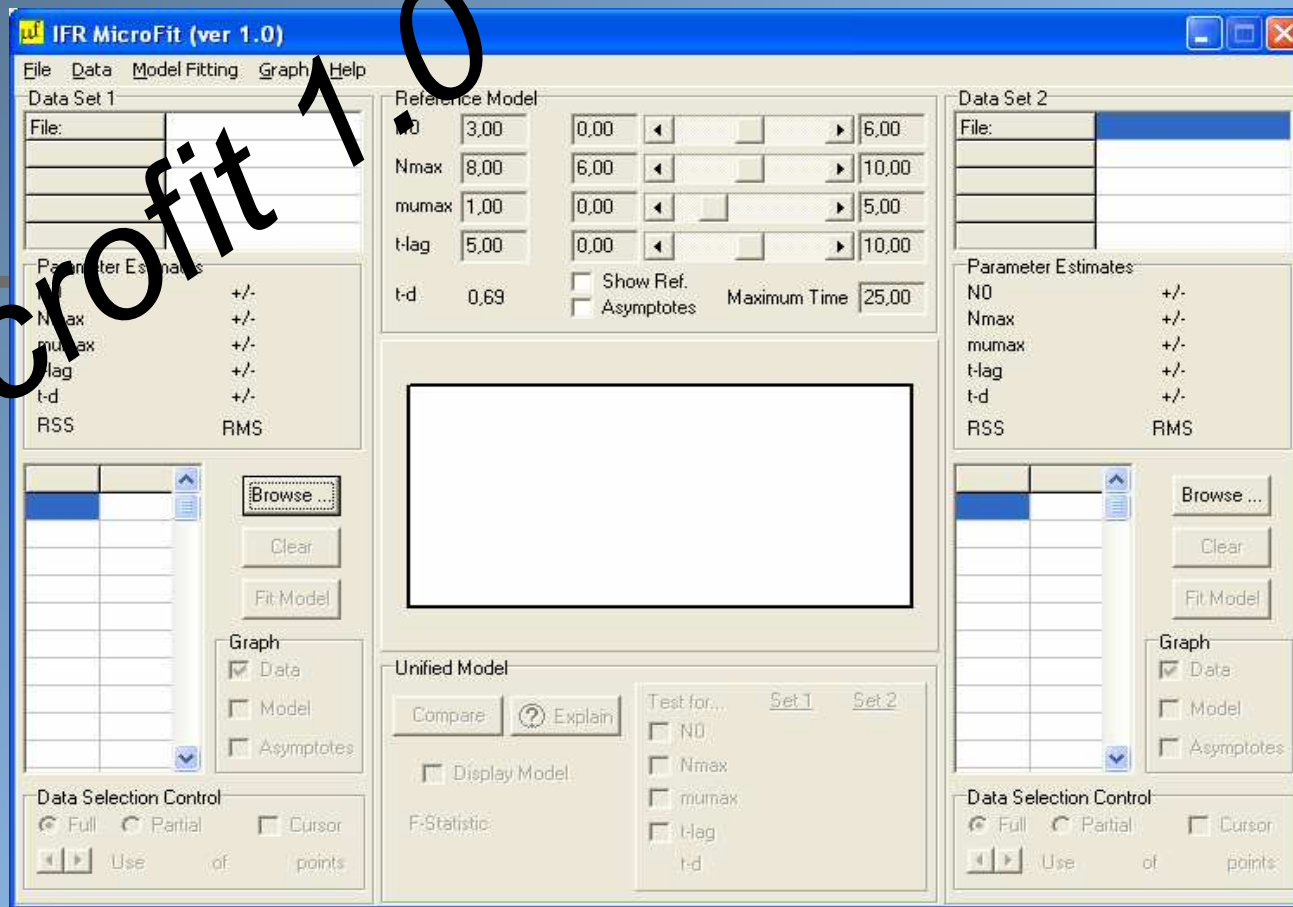


μ_{\max} (Tasso massimo di crescita) **t-d** (tempo di duplicazione) **durata della fase lag**



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

<http://www.ifr.ac.uk/MicroFit/>



Modello di Baranyi & Roberts



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
della Lombardia e dell'Emilia Romagna

Materiali e metodi

DATI
SPERIMENTALI



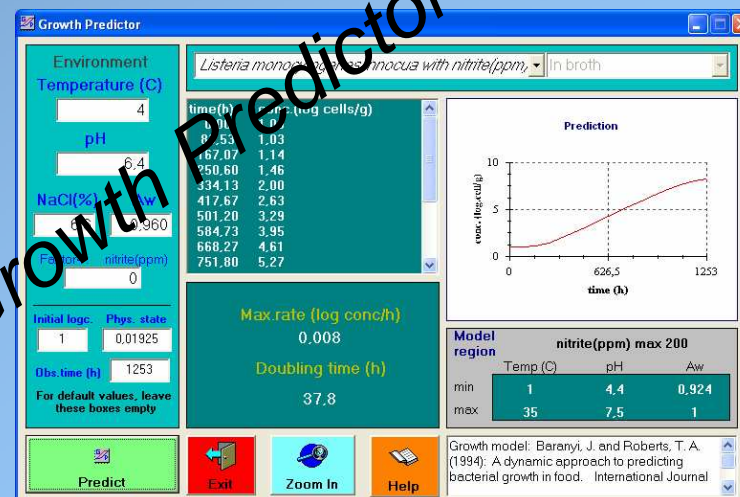
PROIEZIONI
MICROBIOLOGIA PREDITTIVA

Software Growth Predictor

Sviluppo di
L.monocytogenes/innocua

Parametri:

Temperatura	4°C
pH	6.4
Aw	0.96
[nitriti]	0 ppm.

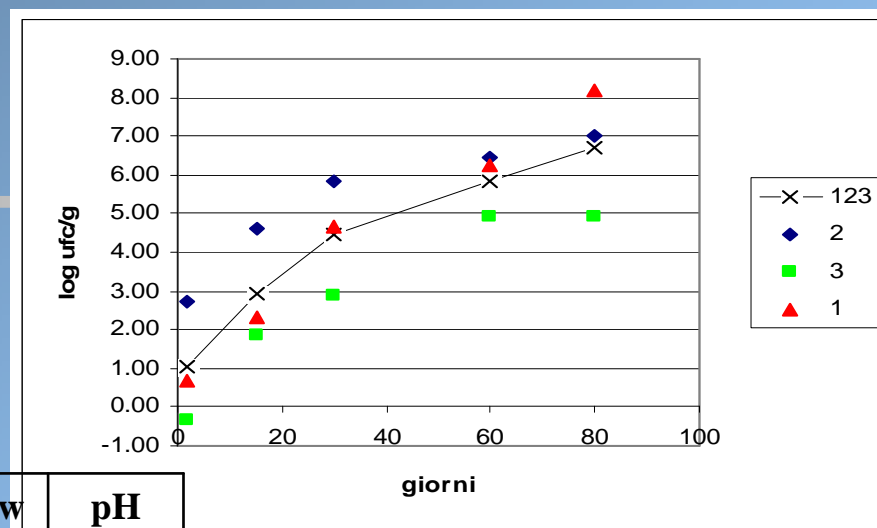


<http://www.ifr.ac.uk/safety/growthpredictor/>



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

RISULTATI



giorni	Lotto				Aw	pH
	1	2	3	U		
2	0.70 ± 0.00	2.74 ± 0.26	-0.34 ± 1.86	1.03 ± 1.66	-	6.5
15	2.33 ± 1.27	4.62 ± 0.43	1.88 ± 0.40	2.95 ± 1.45	-	6.4
30	4.68 ± 1.36	5.84 ± 0.55	2.87 ± 2.56	4.46 ± 2.02	0.96	6.5
60	6.22 ± 1.80	6.45 ± 0.45	4.92 ± 1.76	5.86 ± 1.53	0.96	6.3
80	8.17 ± 3.22	7.03 ± 0.11	4.90 ± 1.84	6.70 ± 2.21	0.96	6.3



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
della Lombardia e dell'Emilia Romagna

Risultati

MicroFit 1.0 vs Growth Predictor

Lotto	μ_{\max} (ln ufc/g)	t-d (gg)	Nmax (log ₁₀ ufc/g)	RSS-RMS
1	0.20	3.48	8.17	0.84-0.41
2	0.22	3.18	7.03	0.19-0.20
3	0.22	3.09	4.90	0.17-0.19
U	0.24	2.87	6.70	0.35-0.26

MicroFit 1.0

Growth Predictor

t-d = 37,8 h = 1,6 giorni

μ_{\max} di 0,44



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
della Lombardia e dell'Emilia Romagna

Conclusioni



μ_{\max} osservata sperimentalmente è risultata riproducibile nei 3 lotti esaminati

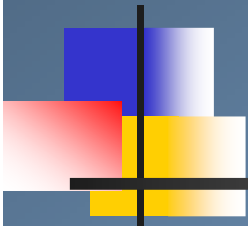
- Livelli di contaminazione inizialmente contenuti possono dare origine durante il periodo di conservazione ad elevate concentrazioni
- Il prodotto è stato mantenuto ad una temperatura costante di $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$
- Abuso termico?

Risulta pertanto particolarmente importante seguire comportamenti ineccepibili dal punto di vista igienico nelle fasi successive al trattamento termico



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
della Lombardia e dell'Emilia Romagna

Conclusioni

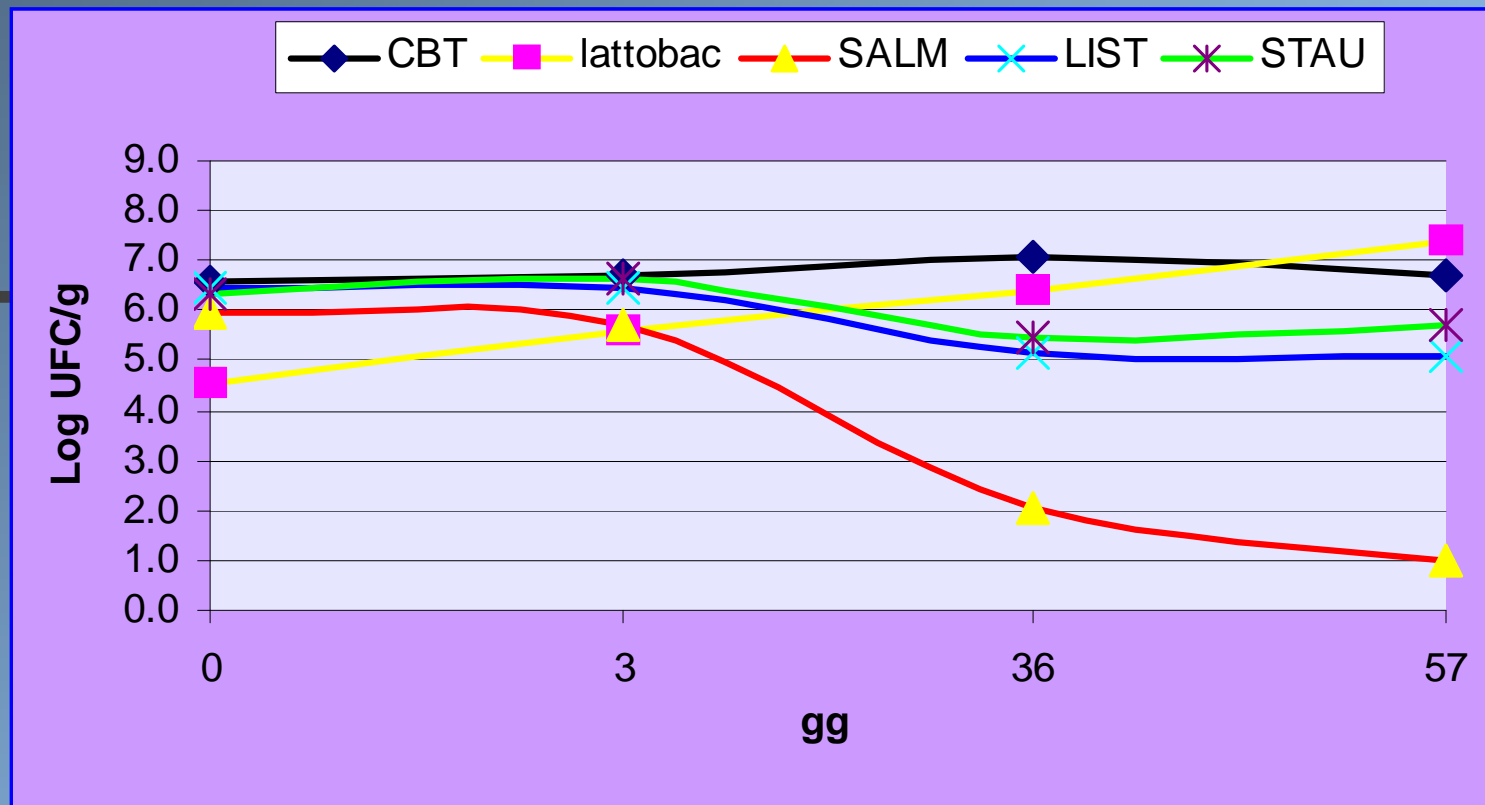


μ_{\max} individuata con Growth Predictor è circa doppia di quella osservata
sperimentalmente:

- Caratteristiche intrinseche del prodotto
- Azione di flora concomitante competitiva (*Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus fermentum*)

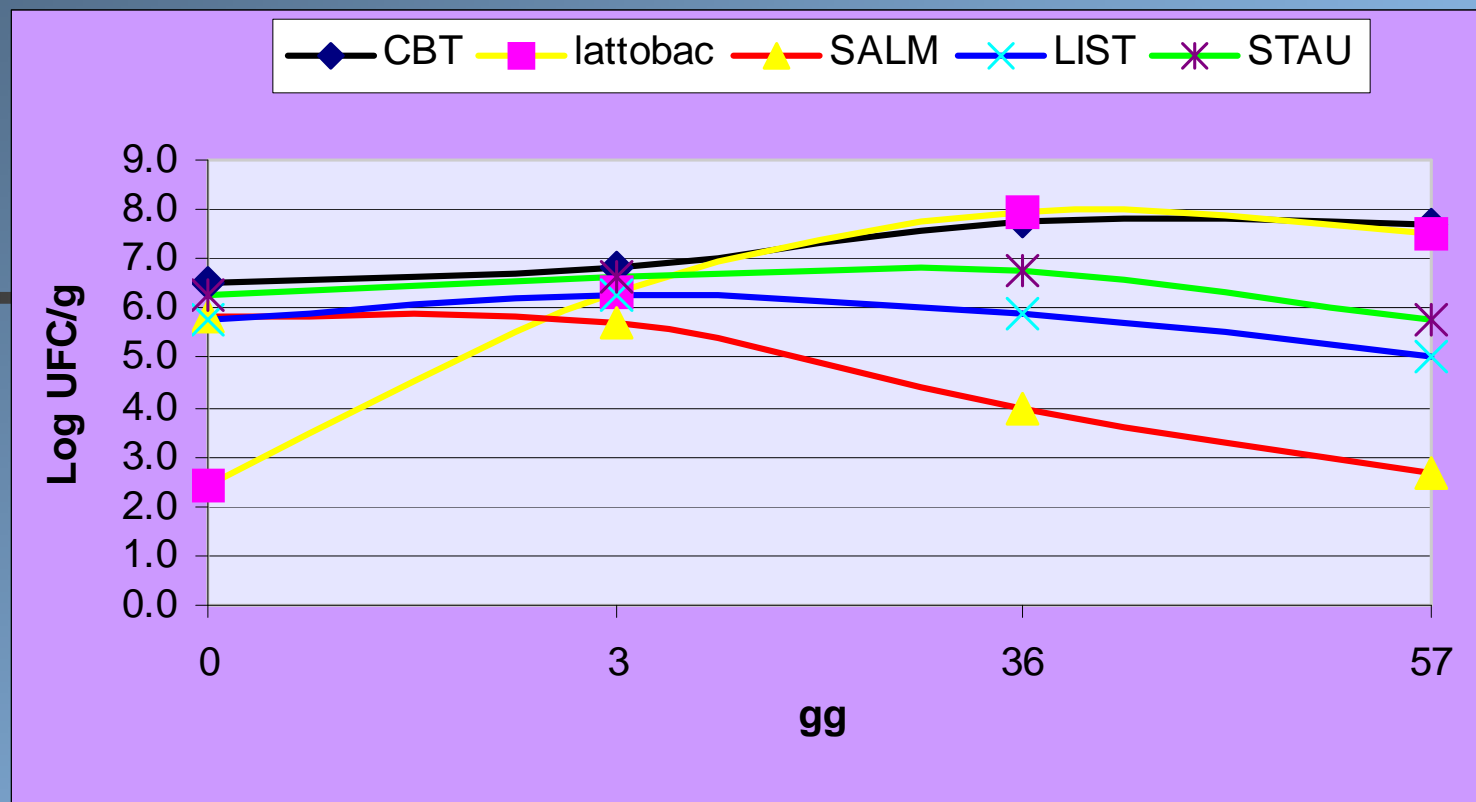


Salame in Budello naturale grana grossa





Salame in budello sintetico grana fine





Salmonella predictor

10 15°C
aw 0.974 Ø10
pH da 6.3 a 5

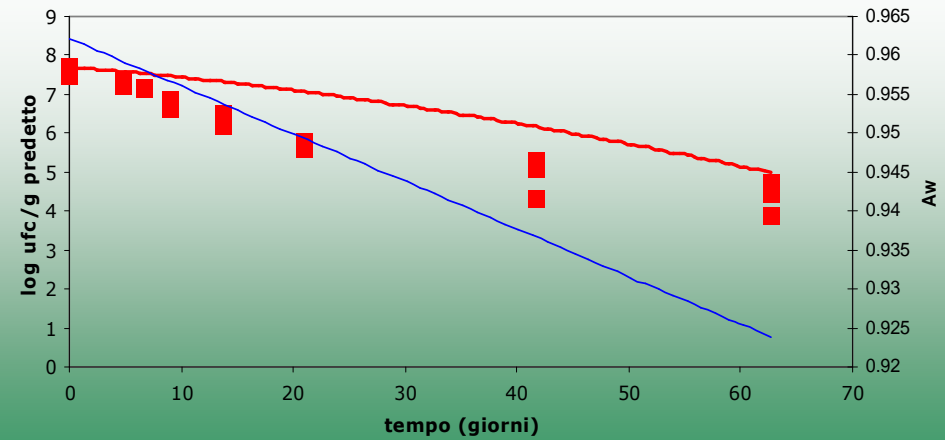
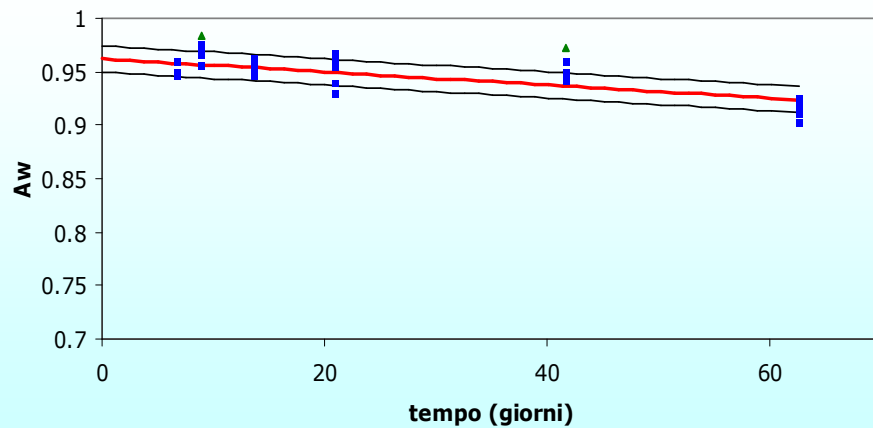
logD=Log(-1/rate)
Bw=√(1-aw)
Adjusted square
R=0.69

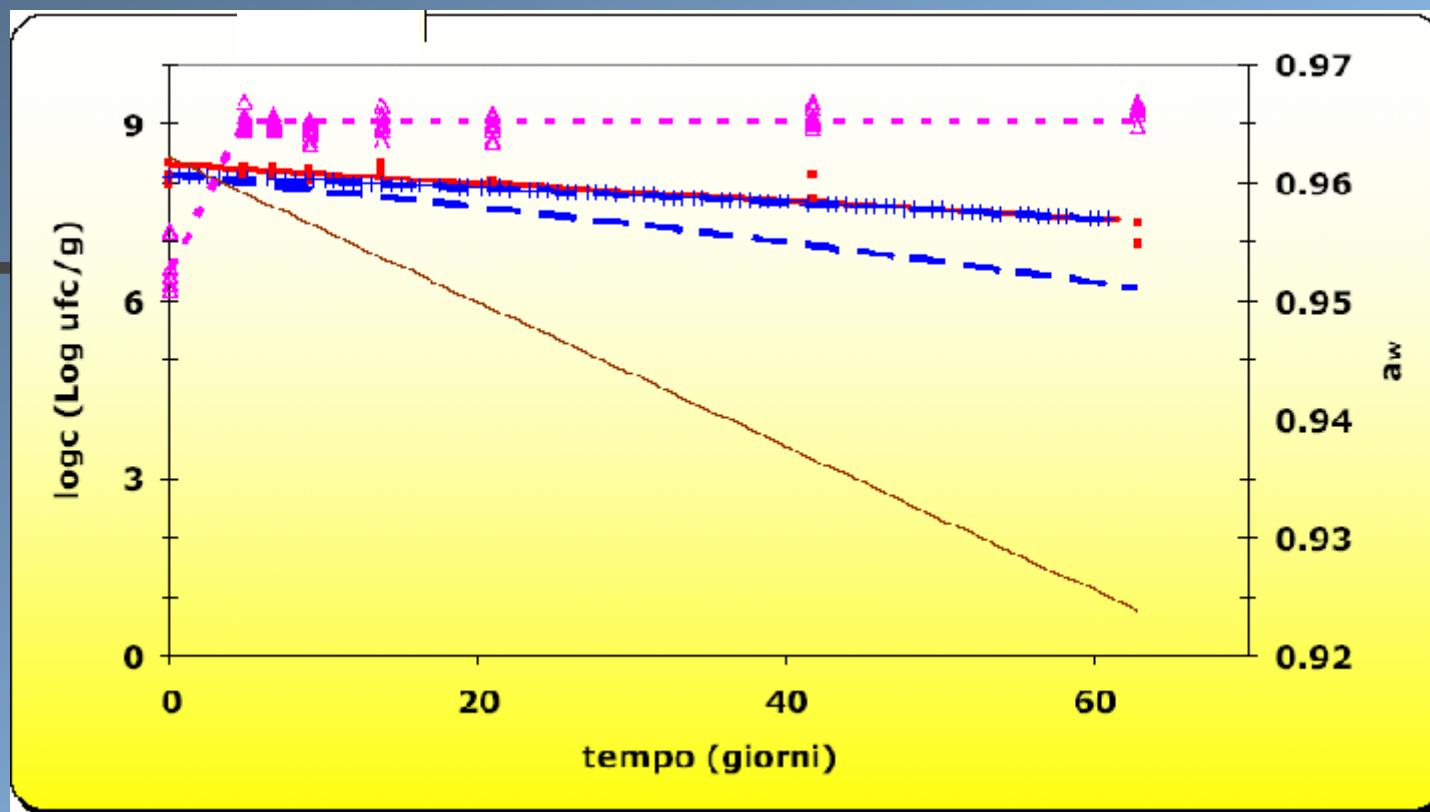
**LogD=-10.38-0.34*TEMP + 7.35*PH-0.44*BW + 0.07*(TEMP*PH) + .44*(TEMP*BW)
+ 3.75 *(PH*BW) - 0.0066 *(TEMP^2-0.79*(PH^2) + 25.15*(BW^2) +/-0.17**

Elena Cosciani Cunico - 2005 Industrie Alimentari (44), 443 pag.1-10.



Salmonella predictor







ALLEGATO II

Gli studi di cui all'articolo 3, paragrafo 2, comprendono:

- *prove per determinare le caratteristiche fisico-chimiche del prodotto, quali pH, aw, contenuto salino, concentrazione di conservanti e tipo di sistema di confezionamento, tenendo conto delle condizioni di lavorazione e di conservazione, delle possibilità di contaminazione e della conservabilità prevista,*
- *consultazione della letteratura scientifica disponibile e dei dati di ricerca sulle caratteristiche di sviluppo e di sopravvivenza dei microrganismi in questione.*

Se necessario, in base agli studi summenzionati, l'operatore del settore alimentare effettua studi ulteriori, che possono comprendere:

- *modelli matematici predittivi stabiliti per il prodotto alimentare in esame, utilizzando fattori critici di sviluppo o di sopravvivenza per i microrganismi in questione presenti nel prodotto,*
- *prove per determinare la capacità dei microrganismi in questione, debitamente inoculati, di svilupparsi o sopravvivere nel prodotto in diverse condizioni di conservazione ragionevolmente prevedibili,*
- *studi per valutare lo sviluppo o la sopravvivenza dei microrganismi in questione che possono essere presenti nel prodotto durante il periodo di conservabilità, in condizioni ragionevolmente prevedibili di distribuzione, conservazione e uso.*

Gli studi summenzionati tengono conto della variabilità intrinseca in funzione del prodotto, dei microrganismi in questione e delle condizioni di lavorazione e conservazione



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Shelf-life

Gli studi di cui parla l'allegato II si possono ricondurre allo studio della
shelf-life.

SANCO/1628/2008 ver. 9.3 (26112008)

GUIDANCE DOCUMENT on *Listeria monocytogenes* shelf-life studies for ready-to-eat foods, under Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs

AFSSA

WORKING DOCUMENT Version 2 – November 2008

TECHNICAL GUIDANCE DOCUMENT On shelf-life studies for *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Shelf-life

Cosa è?

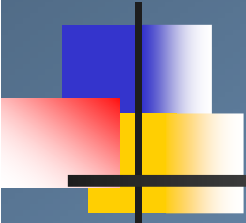


Periodo di tempo durante il quale il prodotto rimane sicuro dal punto di vista sanitario e conserva le sue caratteristiche qualitative in condizioni attese di conservazione e di uso



Shelf-life

Quando?

- 
- Sviluppo di un nuovo prodotto o modifica del prodotto
 - Sviluppo di un nuovo processo o modifica di uno esistente
 - Nuovo tipo di confezionamento
 - Nessuno studio di shelf-life precedente



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Shelf-life

Attenzione: prevedibili condizioni di distribuzione, conservazione ed uso



Importanza della Temperatura

Shelf-life a T° bassa = sottostima della crescita = sovrastima della sicurezza

L'OSA deve giustificare la T° scelta per lo studio

Quando non è conosciuta la reale temperatura di conservazione – utilizzare 8-12°C



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

14 nov 2008 ultima versione



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS



EU COMMUNITY REFERENCE LABORATORY FOR
LISTERIA MONOCYTOGENES

WORKING DOCUMENT

Version 2 – November 2008

TECHNICAL GUIDANCE DOCUMENT

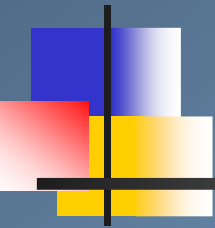
On shelf-life studies for *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods

Annie BEAUFORT, Marie CORNU, Hélène BERGIS, Anne-Laure LARDEUX, Unit Quantitative
Microbiology and Risk Assessment, Bertrand LOMBARD, CRL Coordinator
AFSSA-LERQAP, CRL for *Listeria monocytogenes*, Maisons-Alfort, France



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Technical guidance document on shelf-life studies for *L. monocytogenes* in ready-to-eat foods – version 2- Nov 2008



Contengono **informazioni pratiche** e raccomandazioni su come selezionare, implementare e condurre **Microbial Challenge Test** e studi di conservabilità (**durability test**) per *Listeria monocytogenes* in alimenti RTE.



AFSSA

Technical guidance document on shelf-life studies for
L. monocytogenes in *ready-to-eat* foods

version 2- Nov 2008

Durability Test

- Prova più realistica del challenge test
- Difficile interpretazione
- Bassa probabilità di testare campioni contaminati
- Contaminazione fuori controllo

Challenge Test

Growth Potential (δ)

- Al cambiare delle condizioni necessario rifare test
- E' possibile calcolare il valore massimo ammesso al t_0

Challenge Test

Maximum Growth Rate

- Prova sperimentale+microbiologia predittiva – più complessa ma permette di estrapolare i dati al cambiare delle condizioni
- E' possibile calcolare la concentrazione del microorganismo in ogni t_n



Challenge test per la valutazione del growth potential (δ)

• **Caratteristiche del prodotto in esame**

- Numero di lotti
- Scelta dei ceppi da inoculare
- Preparazione dell'inoculo
- Numero di unità da testate per lotto
- Modalità di contaminazione
- Condizioni di conservazione delle unità contaminate
- Misurazione dei parametri fisico-chimici
- Analisi microbiologiche: metodi di rilevazione e di numerazione
- Calcolo del potenziale di crescita (δ)



Caratteristiche del prodotto in esame

- Parametri fisico-chimici (pH, Aw)
- Microflora specifica
- Condizioni di conservazione (packaging)
- Shelf-life



Challenge test per la valutazione del growth potential (δ)

- Caratteristiche del prodotto in esame
- **Numero di lotti**
- Scelta dei ceppi da inoculare
- Preparazione dell'inoculo
- Numero di unità da testate per lotto
- Modalità di contaminazione
- Condizioni di conservazione delle unità contaminate
- Misurazione dei parametri fisico-chimici
- Analisi microbiologiche: metodi di rilevazione e di numerazione
- Calcolo del potenziale di crescita (δ)



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Numero di lotti

3

➤ Devono essere testati **almeno** 3 lotti di produzione



Challenge test per la valutazione del growth potential (δ)

- Caratteristiche del prodotto in esame
- Numero di lotti
- **Scelta dei ceppi da inoculare**
- Preparazione dell'inoculo
- Numero di unità da testate per lotto
- Modalità di contaminazione
- Condizioni di conservazione delle unità contaminate
- Misurazione dei parametri fisico-chimici
- Analisi microbiologiche: metodi di rilevazione e di numerazione
- Calcolo del potenziale di crescita (δ)



Scelta dei ceppi da inoculare

➤ Devono essere utilizzati almeno 3 ceppi

1 ceppo di riferimento (ATCC, NCTC)

2 ceppi isolati da matrice identica o simile



Challenge test per la valutazione del growth potential (δ)

- Caratteristiche del prodotto in esame
- Numero di lotti
- Scelta dei ceppi da inoculare
- **Preparazione dell'inoculo**
- Numero di unità da testate per lotto
- Modalità di contaminazione
- Condizioni di conservazione delle unità contaminate
- Misurazione dei parametri fisico-chimici
- Analisi microbiologiche: metodi di rilevazione e di numerazione
- Calcolo del potenziale di crescita (δ)



Preparazione dell'inoculo

- 1 ceppo 2 sottocolture:

La 1° sottocoltura permette di rivitalizzare le cellule e di averle allo stesso stato fisiologico

La 2° sottocoltura va eseguita ad una T°C vicina a quella del prodotto, per adattare le cellule ed evitare stress

- 3 ceppi diluiti singolarmente fino alla concentrazione utile e poi combinati nella stessa quantità



Challenge test per la valutazione del growth potential (δ)

- Caratteristiche del prodotto in esame
- Numero di lotti
- Scelta dei ceppi da inoculare
- Preparazione dell'inoculo
- **Numero di unità da testare per lotto**
- Modalità di contaminazione
- Condizioni di conservazione delle unità contaminate
- Misurazione dei parametri fisico-chimici
- Analisi microbiologiche: metodi di rilevazione e di numerazione
- Calcolo del potenziale di crescita (δ)



Numero di unità da testare per lotto

	Day ₀	Day _{end}
Determinazione concentrazione <i>L. monocytogenes</i>	3	3
Rilevazione/numerazione di <i>L. m</i> in campioni negativi (opzionale)	3	3
Determinazione delle caratteristiche fisico-chimiche	3*	3*
Determinazione concentrazione microflora associata	3	3



Challenge test per la valutazione del growth potential (δ)

- Caratteristiche del prodotto in esame
- Numero di lotti
- Scelta dei ceppi da inoculare
- Preparazione dell'inoculo
- Numero di unità da testare per lotto
- **Modalità di contaminazione**
- Condizioni di conservazione delle unità contaminate
- Misurazione dei parametri fisico-chimici
- Analisi microbiologiche: metodi di rilevazione e di numerazione
- Calcolo del potenziale di crescita (δ)



Modalità di contaminazione

➤ Superficiale

➤ Profonda

superficiale per simulare contaminazione a
contatto con superfici

Profonda (es. alimenti preparati miscelando
diversi ingredienti)

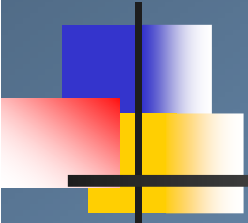


Challenge test per la valutazione del growth potential (δ)

- Caratteristiche del prodotto in esame
- Numero di lotti
- Scelta dei ceppi da inoculare
- Preparazione dell'inoculo
- Numero di unità da testare per lotto
- Modalità di contaminazione
- Condizioni di conservazione delle unità contaminate
- Misurazione dei parametri fisico-chimici
- Analisi microbiologiche: metodi di rilevazione e di numerazione
- Calcolo del potenziale di crescita (δ)



Condizioni di conservazione delle unità contaminate

- 
- T°
 - T
 - packaging

- Se sono note le modalità di conservazione dei prodotti durante la shelf life è necessario ripercorrere fedelmente quanto avviene nella realtà.
- Se tempi e temperature non sono noti o se sono noti in modo approssimativo, è possibile adottare le condizioni riconosciute

Esempio :

AFSSA Gen-08: 1/3 della shelf life a 4°C e 2/3 della shelf life a 8°C

AFSSA Nov-08: 1/3 della shelf life a 8°C e 2/3 della shelf life a 12°C



Challenge test per la valutazione del growth potential (δ)

- Caratteristiche del prodotto in esame
- Numero di lotti
- Scelta dei ceppi da inoculare
- Preparazione dell'inoculo
- Numero di unità da testate per lotto
- Modalità di contaminazione
- Condizioni di conservazione delle unità contaminate
- Misurazione dei parametri fisico-chimici
- Analisi microbiologiche: metodi di rilevazione e di numerazione
- Calcolo del potenziale di crescita (δ)



Misurazione dei parametri fisico-chimici



AW

➤ Metodiche analitiche standard

pH

Analisi microbiologiche

➤ Metodica ISO 11290 (o metodi alternativi autorizzati dall'autorità competente)

➤ Attenzione ai valori al Day₀



Challenge test per la valutazione del growth potential (δ)

- Caratteristiche del prodotto in esame
- Numero di lotti
- Scelta dei ceppi da inoculare
- Preparazione dell'inoculo
- Numero di unità da testate per lotto
- Modalità di contaminazione
- Condizioni di conservazione delle unità contaminate
- Misurazione dei parametri fisico-chimici
- Analisi microbiologiche: metodi di rilevazione e di numerazione
- **Calcolo del potenziale di crescita (δ)**



Calcolo del potenziale di crescita (δ)

Lotto	Giorno	Concentrazione (log UFC/g)	Differenza (δ)
1	D_o	<0.7	0.88
		1.30	
		1.74	
	D_{end}	2.00	
		2.33	
		2.18	
2	D_o	1.78	0.84
		1.48	
		1.70	
	D_{end}	2.40	
		2.54	
		2.59	
3	D_o	1.30	0.32
		1.40	
		1.48	
	D_{end}	1.63	
		1.72	
		1.88	



Calcolo del potenziale di crescita (δ)


$$0.88 \text{ Log (UFC/g)} > 0.5 \text{ Log (UFC/g)}$$

Alimento che supporta la crescita di *L. monocytogenes*

Conc. fine shelf-life = conc. inizio shelf-life + δ

Massima conc. ammessa ad inizio shelf-life = $2 - \delta \log \text{ ufc/g}$



AFSSA

Technical guidance document on shelf-life studies for
L. monocytogenes in *ready-to-eat* foods

version 2- Nov 2008

Durability Test

- Prova più realistica del challenge test
- Difficile interpretazione
- Bassa probabilità di testare campioni contaminati
- Contaminazione fuori controllo

Challenge Test

Growth Potential (δ)

- Al cambiare delle condizioni necessario rifare test
- E' possibile calcolare il valore massimo ammesso al t_0

Challenge Test

Maximum Growth Rate

- Prova sperimentale+microbiologia predittiva – più complessa ma permette di estrapolare i dati al cambiare delle condizioni
- E' possibile calcolare la concentrazione del microorganismo in ogni t_n



Challenge test per la valutazione del maximum growth rate

μ_{\max}

- **Caratteristiche del prodotto in esame**
- Numero di lotti
- Scelta dei ceppi da inoculare
- Preparazione dell'inoculo
- Numero di unità da testate per lotto
- Modalità di contaminazione
- Condizioni di conservazione delle unità contaminate
- Misurazione dei parametri fisico-chimici
- Analisi microbiologiche: metodi di rilevazione e di numerazione
- **Calcolo del μ_{\max}**



Calcolo del μ_{\max}

➤ Regressione non lineare utilizzando software
MicroFit (IFR)

➤ Automaticamente mi calcola $\mu_{\max \text{ ref}}$ e **t-d**

➤ Utilizzo di modello secondario (es Ratkowsky)
per calcolare il μ_{\max} ad un'altra temperatura

$$\mu_{\max} = \mu_{\max \text{ ref}} * \frac{(T - T_{\min})^2}{(T_{\text{ref}} - T_{\min})^2}$$



Reg. 2073/05

apparentemente focalizza l'attenzione sui microrganismi ma in realtà assegna un ruolo determinante a due elementi:

- le procedure di HACCP e le GHP
- gli alimenti, visti come "protagonisti" dell'andamento microbico



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Le analisi microbiologiche sul
prodotto finito da sole non bastano ad
assicurare la sicurezza del prodotto



Approccio preventivo

GHP

2073

HACCP

Controllo della sicurezza alimentare



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

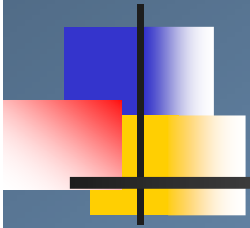
CONCLUSIONE

La condivisione di obiettivi di sicurezza, il confronto tra OSA ed autorità di controllo, la sostenibilità scientifica, sono fattori che possono portare ad una riduzione del rischio



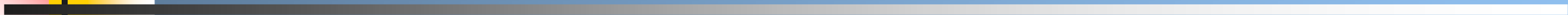
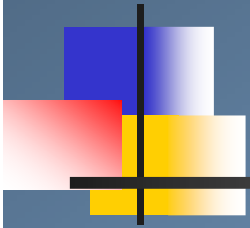
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Grazie per l'attenzione



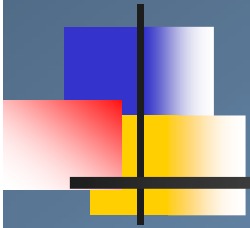


Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna





Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna





Come sono scelti i criteri di igiene del processo?

Sono il frutto **esperienze** pluriennali che hanno portato a definire quale sia il migliore

Qualora non vi siano sufficienti esperienze l'UE emana delle mirate alla ricerca di germi o metaboliti in particolari matrici alimentari.

Una volta in possesso dei dati si scelgono uno o più criteri "indicatori" che soddisfino inoltre le esigenze di:

- Essere sempre presenti nell'alimento considerato
- Essere misurabili con metodiche semplici, rapide e di basso costo



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e
dell'Emilia Romagna

Come sono scelti i valori limite dei criteri di igiene del processo?

I dati raccolti per la scelta dei criteri servono anche per la scelta dei limiti.

In genere si decide con **metodi statistici** di porre come limite il **valore entro il quale ricade la massima parte dei risultati.**



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna

L'OSA, per rispettare i reg. 2073/05, dovrebbe

- Agire sul proprio piano HACCP, GMP e selezione dei fornitori
- Studiare i propri alimenti, per assicurare che non superino i criteri, nella vita commerciale “a condizioni ragionevolmente prevedibili di distribuzione, conservazione e uso”
- Verificare la garanzia di conformità lungo l'intera shelf life (mediante studi)
- Informare il consumatore su rischi e corretto uso (da “consumarsi previa cottura”, “previa accurata cottura”)
- Analizzare i risultati analitici ottenuti (andamenti)
- Svolgere con le modalità richieste e le frequenze richieste/opportune le analisi di laboratorio

Tutto ciò è sufficiente?