

La sperimentazione sulla sicurezza dei prodotti tradizionali fermentati:

Il salame



Dr Matteo Senese - Istituto Zooprofilattico Lazio e Toscana - Sezione di Pisa

Nell'ambito della ricerca corrente LT 06/09
sono state effettuate di Laboratorio Alimenti della Sezione di Pisa dell'IZSLT
due sperimentazione su prodotti fermentati a base di carne



Prodotti ideali per varie ragioni

- Prodotti tradizionali
- Stagionatura breve (da 20 a 30 gg)
- Fermentazione naturale



Sperimentazione 1

- Salame tradizionale prodotto da ditta di medie dimensioni



Sperimentazione svolta per definire se il prodotto fosse favorevole o meno alla crescita di *Listeria monocytogenes*



Il nostro studio

•Analisi dati storici → SANCO/1628/2008 ver. 9.3

- valutazione caratteristiche intrinseche del prodotto

2.1. Caratteristiche del prodotto

Devono essere descritte le caratteristiche del prodotto alla fine della produzione e queste devono essere rappresentative della variabilità delle caratteristiche dell'alimento. Queste caratteristiche dovrebbero comprendere sia le proprietà intrinseche sia quelle estrinseche:

- caratteristiche fisico-chimiche, come il pH, a_w , contenuto di sale, concentrazione del conservante;
- microflora associata (conteggio totale) o microflora specifica (ad esempio, batteri lattici, *Pseudomonas*, ...)
- le condizioni di confezionamento (aria, sottovuoto, in atmosfera modificata).

Linee guida
afssa
Versione 2 –
Novembre
2008

Su 3 lotti differenti, pronti per la vendita, prelevare 3 salami su cui effettuare:

A_w , pH, flora lattica, dosaggio acido lattico e quantificazione *Listeria monocytogenes*

Ultimo lotto da prelevare in tre fasi: - appena prodotto

- a fine stufatura

- a fine stagionatura



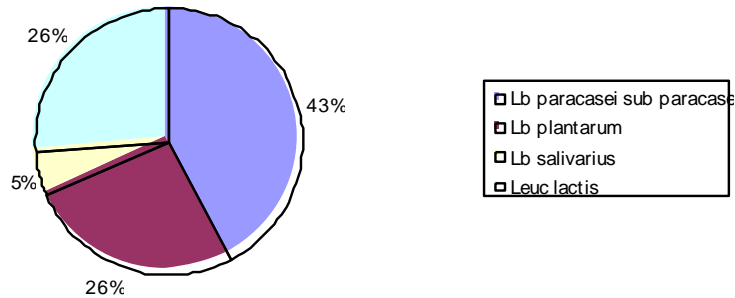
Caratteristiche intrinseche prodotto Lotto 1

Mediana Aw 1°lotto → 0.939

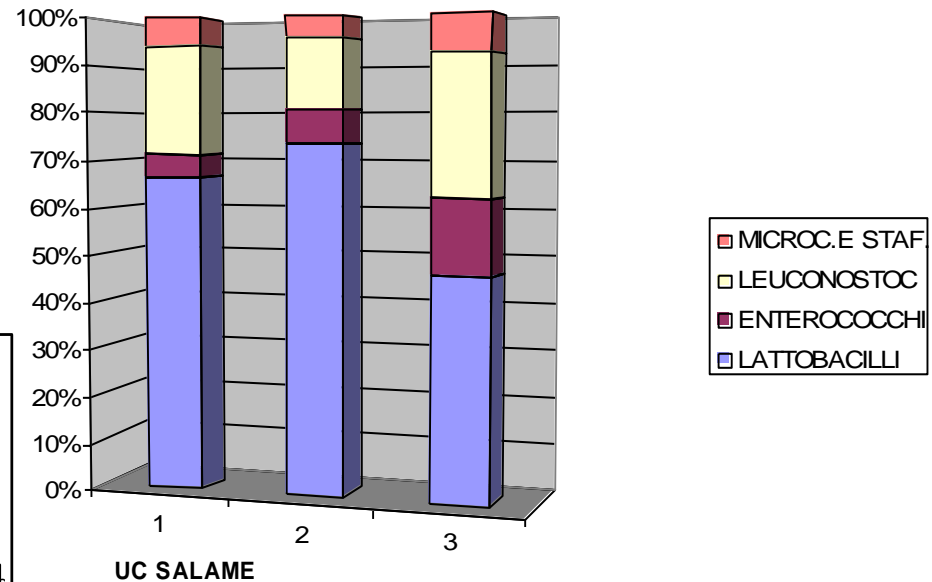
Mediana ph 1°lotto → 5.34

Mediana acido lattico 1° lotto →
9100 ppm

COMPOSIZIONE DEI LATTOBACILLI

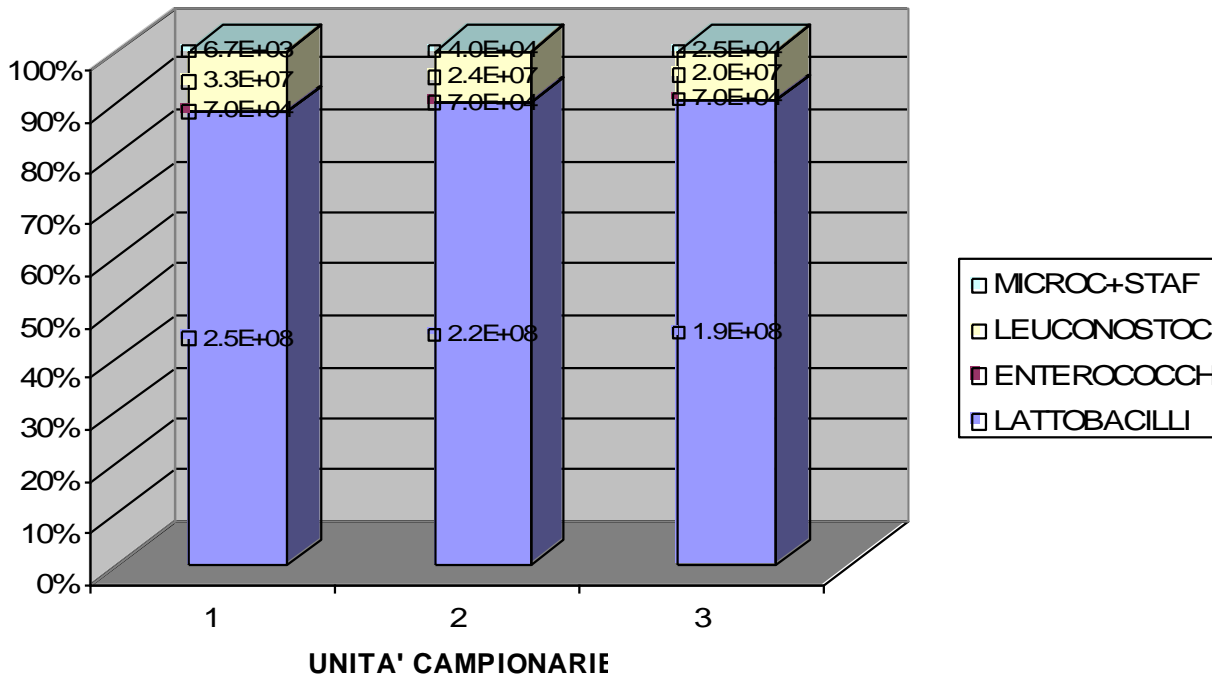


FLORA NATURALE SALAME I LOTTO



Caratteristiche intrinseche prodotto Lotto 2

FLORA NATURALE SALAME II LOTTO



Mediana aw 2° lotto → 0.943

Mediana ph 2° lotto → 5.40

Mediana acido lattico 2° lotto → 10600 ppm

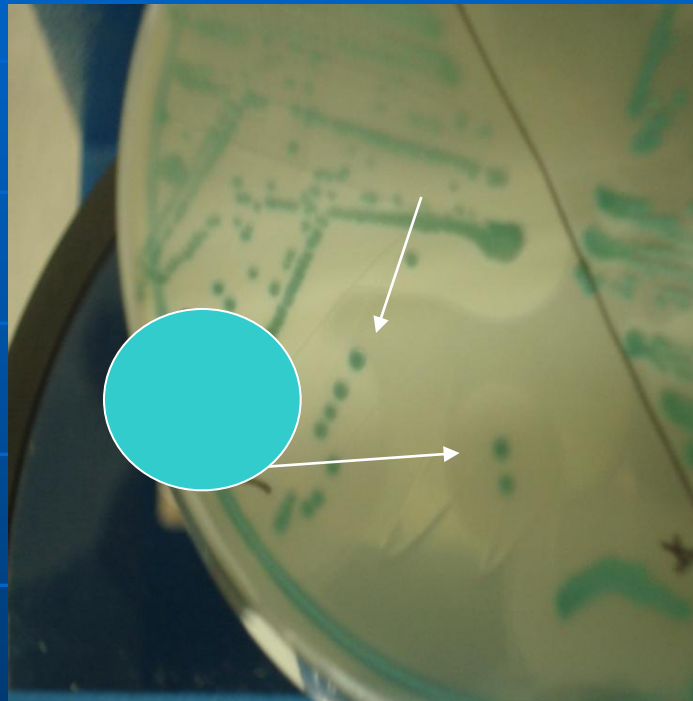


L. monocytogenes**Iso 11290/2**

- uc 1 → 60 ufc/g
- uc 2 → 20 ufc/g
- uc 3 → 10 ufc/g

MPN USDA

- uc 1 → >11 mpn/g
- uc 2 → >11 mpn/g
- uc 3 → >11 mpn/g

**L. innocua****Iso 11290/2**

- uc 1 → <10 ufc/g
- uc 2 → <10 ufc/g
- uc 3 → <10 ufc/g

MPN USDA

- uc 1 → 0.29 mpn/g
- uc 2 → 0.43 mpn/g
- uc 3 → 0.43 mpn/g



contaminato naturalmente



CHALLENGE TEST

(durability)

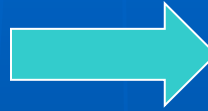


VERIFICA LIVELLI LISTERIA durante
shelf life



CHALLENGE TEST SU SALAME NATURALMENTE CONTAMINATO

ISO 11290-2



BASSA SENSIBILITA' (10 UFC/g)

- SCELTA METODO ANALISI
(condizionato da livello iniziale contaminazione)

MPN USDA A 3 PROVETTE E 4 DILUIZIONI



ALTA SENSIBILITA' (0.03 MPN/g)



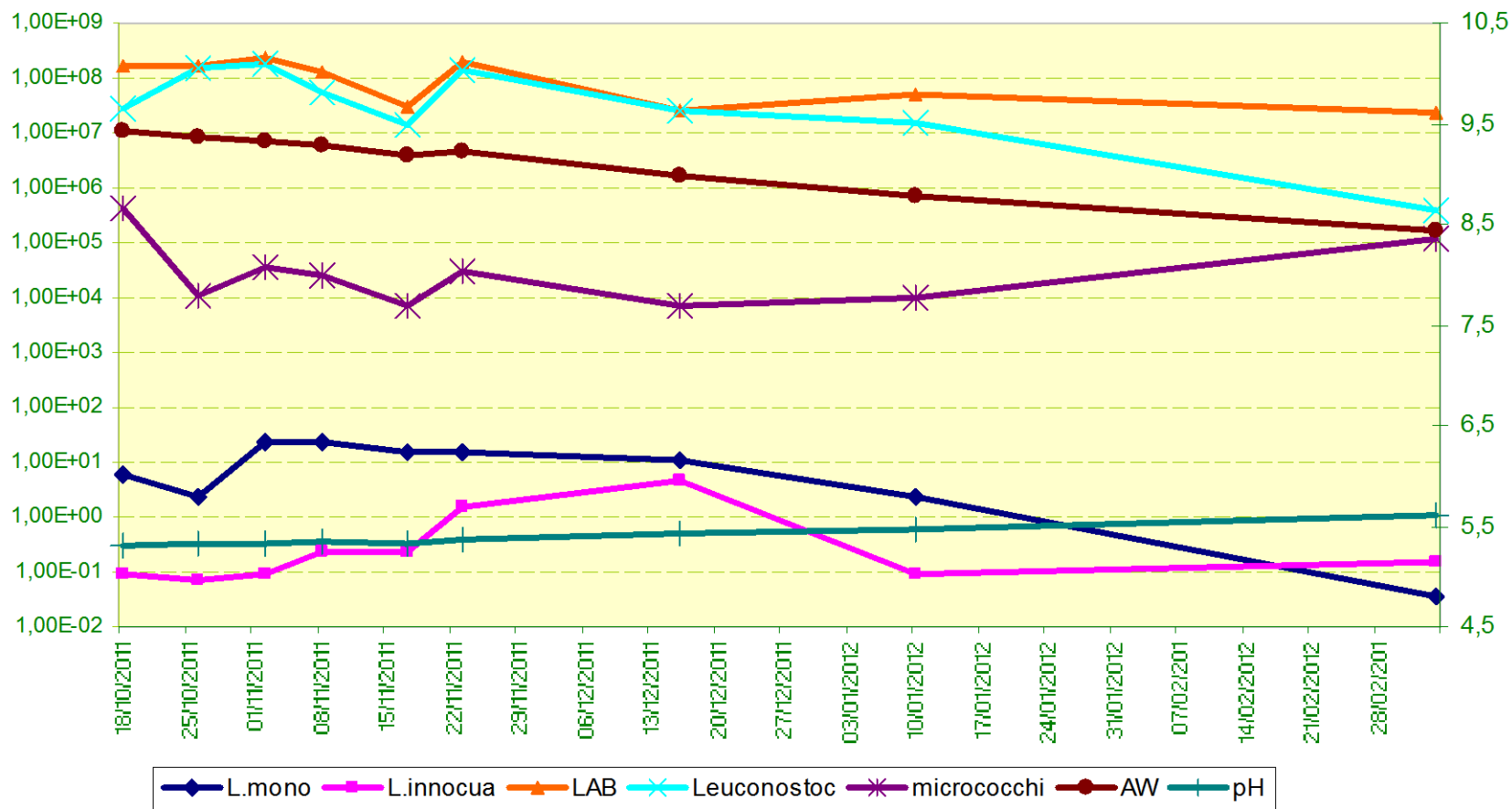
CHALLENGE TEST SU SALAME NATURALMENTE CONTAMINATO

- METODO ANALISI per *Listeria* → MPN USDA a 3 provette e 4 diluizioni
- N° OSSERVAZIONI → 9 (da T₀ a T₅ con cadenza settimanale, T₆ dopo 15 gg da T₅; T₇ a 30 gg da T₆ e T₈ a 150 gg dall'immissione in commercio)
- numerosità campionaria → per ogni campionamento tranne il T₀ (10 uc) e T₉ (18 salami), prelevati, tramite Simple Random Sampling, 5 salami.
- condizioni di stoccaggio → in cella stagionatura della ditta a 14°C
n° 16 salami stoccati presso il lab. a 4°C
- in totale analizzati 77 salami
- per ogni osservazione effettuate analisi per valutare andamento flora lattica, aw e ph



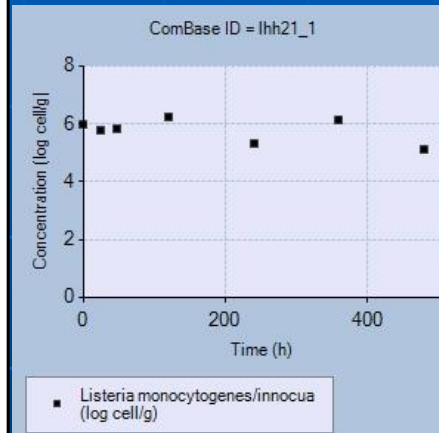
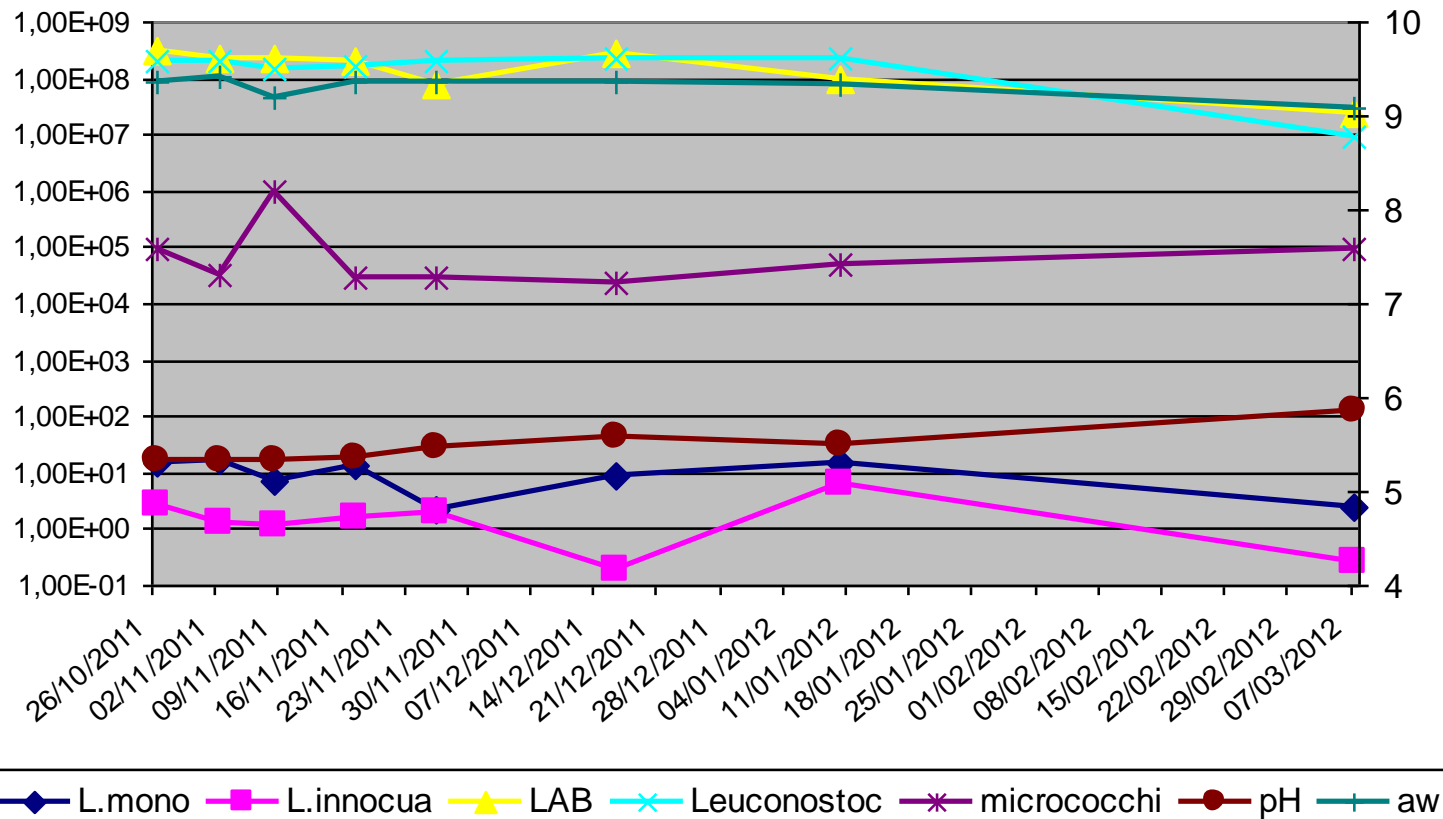
Risultati Salami 14°

Studio 5. Andamento Listeria salame nostrale a 14°C

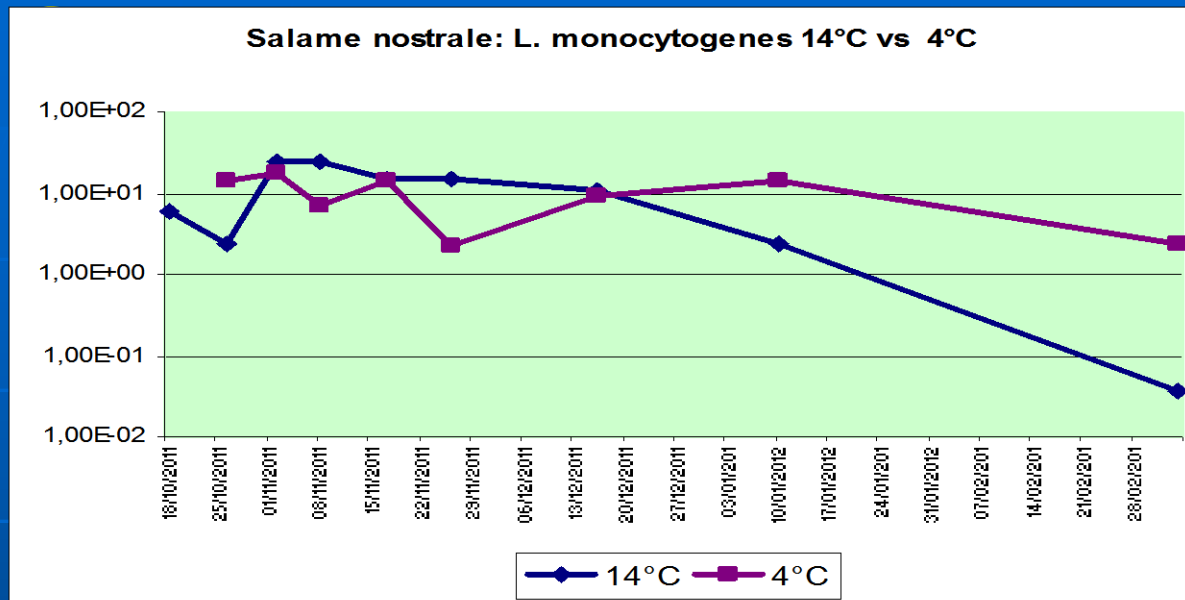


Risultati

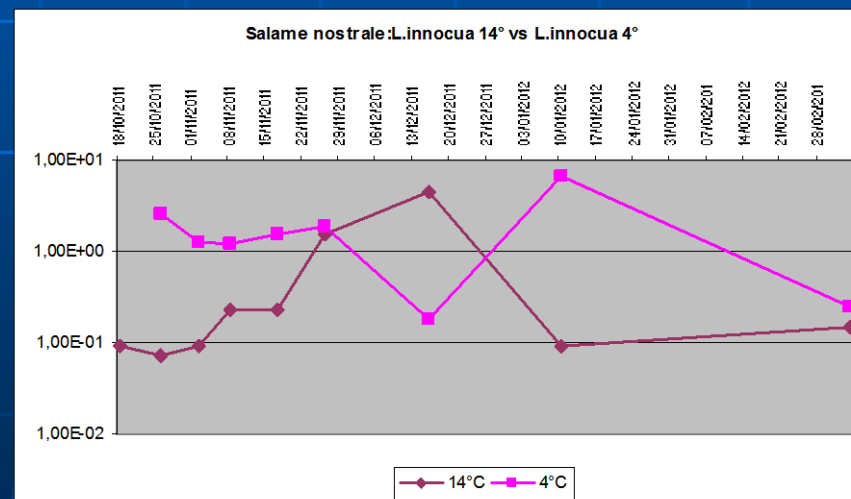
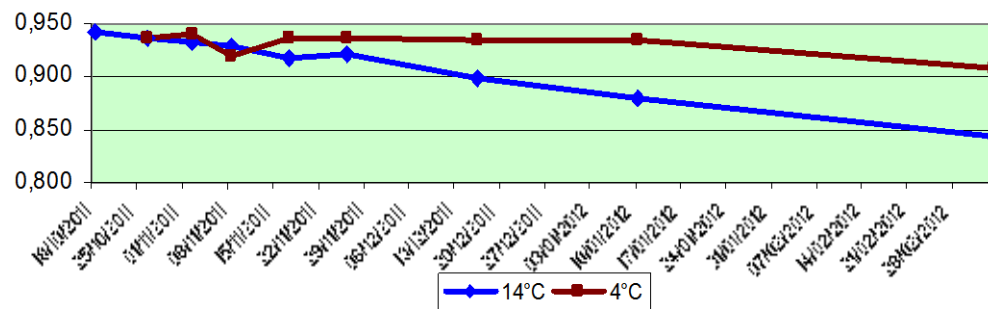
Andamento *Listeria* salame nostrale a 4°C



1°



Studio 5. Salame nostrale: aw 14°C vs 4°C



Valutazione risultati

- *Listeria monocytogenes* ha mantenuto livelli sostanzialmente costanti durante tutto il periodo di osservazione, con tendenza alla diminuzione nel secondo periodo
- la flora lattica ha mantenuto livelli elevati e costanti sia a 4° che a 14° (fattore limitante iniziale)
- Aw fattore limitante crescita
- Andamento *Listeria innocua* 14°C simile a quello di *Listeria monocytogenes* 14°C
(utilizzo come surrogato in Challenge Test)

alla luce dei risultati sinora ottenuti, pur mancando l'ultima osservazione, è possibile già da subito riclassificare il prodotto come NON FAVOREVOLE alla crescita di *L. monocytogenes*



Sperimentazione 2

- Salame tradizionale prodotto da macelleria con annesso laboratorio



Sperimentazione svolta per definire se il prodotto fosse favorevole o meno alla crescita di *Salmonella* spp

Challenge test per *Salmonella* spp

Scelta ceppi da utilizzare

1 ceppo ATCC E 4 ceppi di campo isolati da matrici simili, provenienti dalla collezione del Laboratorio alimenti

preparazione inoculo

I ceppi sono stati inoculati in BHI e fatti crescere fino alla fase stazionaria. Il pool è stato creato prelevando 1 ml da ciascuna provetta; si è poi proceduto alla diluizione 1:100 in BHI (concentrazione teorica inoculo 10^7 ufc/ml).



Challenge test per *Salmonella* spp

inoculazione impasto e preparazione salami

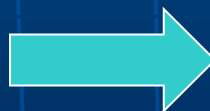


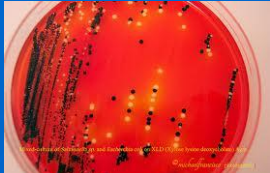
Contaminazione impasto con una dose di pool di Salmonelle pari ad 1:100 del peso totale (concentrazione teorica in impasto 10^5 ufc/g)

MISCELAZIONE MANUALE
PER 30'



INSACCO





Challenge test per *Salmonella* spp



- **METODO ANALISI per *Salmonella*** → metodo interno conteggio in piastra (sensibilità 10 ufc/g)
- **N° OSSERVAZIONI** → 12: ogni 6 ore nelle prime 24 ore, poi allargando i tempi fino ad arrivare a 60 giorni (fine stagionatura)
- **NUMEROSITA' CAMPIONARIA** → per ogni campionamento prelevati, tramite Simple Random Sampling, 2 salami.
- **CONDIZIONI DI STOCCAGGIO** → in frigo termostato seguendo le indicazioni della ditta riguardo tempo, temperatura ed umidità
- per ogni osservazione effettuate analisi per valutare andamento flora lattica, aw e ph, inoltre effettuati 3 prelievi (inizio, metà e fine test), per valutare il livello di nitriti e acido lattico
- a fine stagionatura effettuato confronto con salame prodotto dalla ditta per verificare livelli lattobacilli e aw e ph

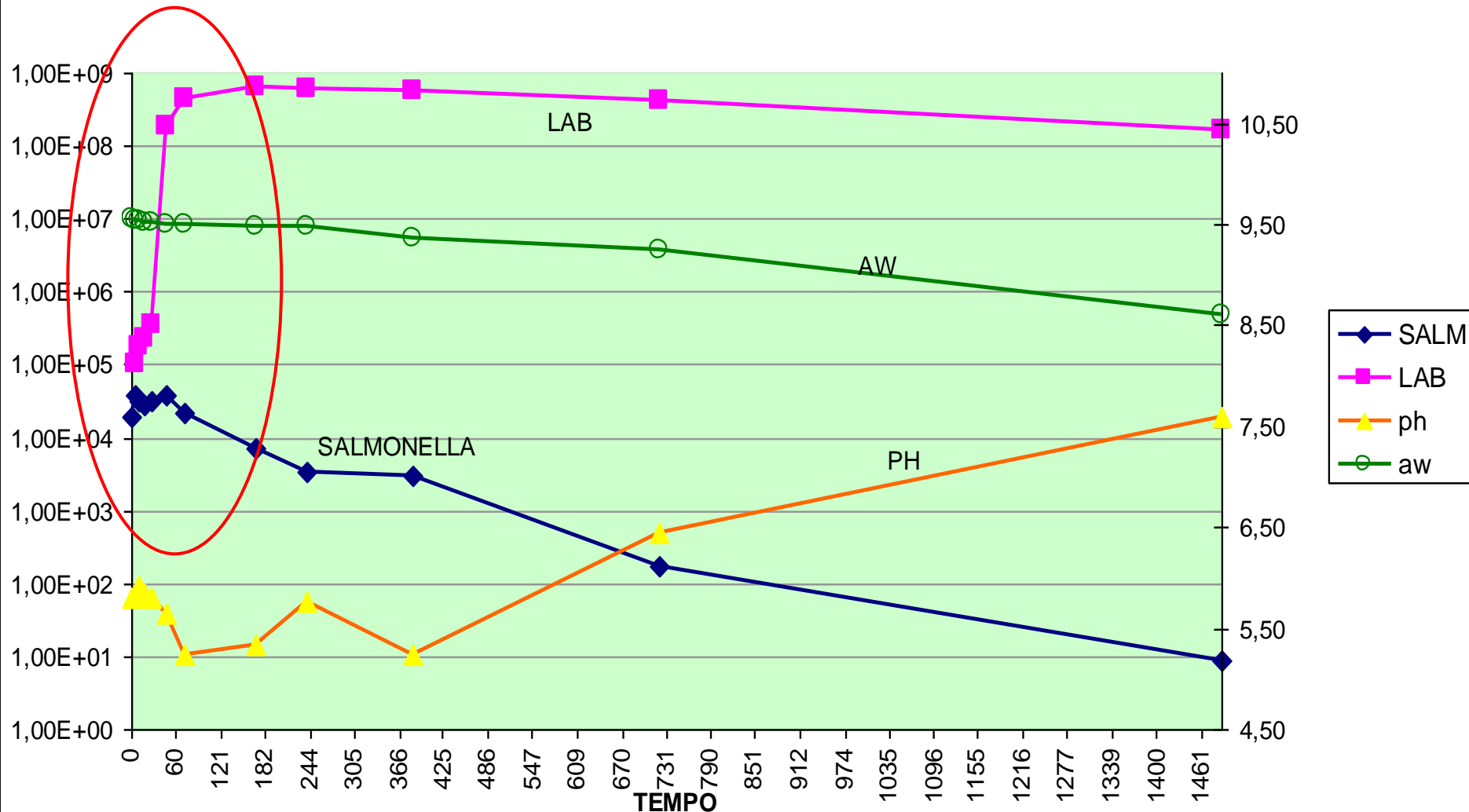
EFFETTUATA INOLTRE PROVA DI CHALLENGE TEST IN VITRO CON CONTAMINAZIONE SOLUZIONE CONTENENTE IMPASTO DI PARTENZA





RISULTATI

Challenge test Salmonella su salame toscano

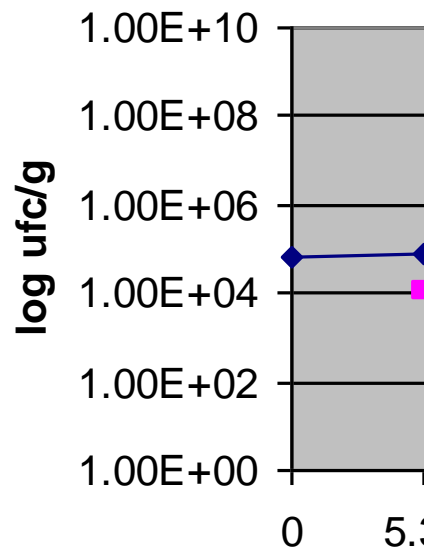


DIMINUZIONE DI 2 LOG IN UN MESE E DI 4 IN 60 GG.....

PRODOTTO NON FAVOREVOLE ALLA CRESCITA DI SALMONELLA

A TRADIMENTO.... ESERCITAZIONE!!!

CHALLENGE TEST VITRO



Prova challenge test in vitro
salame per Salmonella: conoscendo l'effetto
Jameson prenderà il sopravvento
La flora lattica o la Salmonella?

tempo

FUTURI SVILUPPI

- Collaborazione con le stesse ditte per challenge test su altre matrici
- Studio batteriocine prodotte da flora lattica naturale per preparazione starter
- studio su eventuale classificazione salami in base a tipologia fermentazione



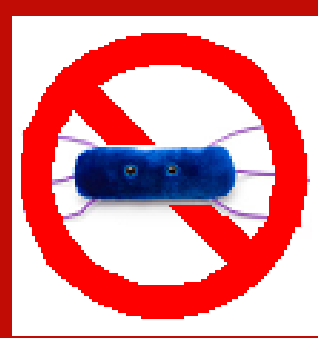
Ricadute positive

Fruibilità dello studio effettuato anche da parte di altre ditte



Tutela consumatori, produttori e produzioni locali!!!





**KEEP
CALM
AND
EAT
SALAMI**