

Corso ecm: Shelf-life e campionamento ufficiale di alimenti
per analisi microbiologiche
Pisa, 13 dicembre 2012

Shelf-life e fattori di contenimento della crescita microbica



Dr Roberto Fischetti - Istituto Zooprofilattico
Lazio e Toscana – Sezione di



Quanto previsto in parte nel piano regionale di campionamento è scaturito da studi effettuati nell'IZS Lazio e Toscana ai quali la Sezione di Pisa ha contribuito con 3 ricerche correnti del Mistero della Salute.

Tre dirigenti di tre diverse sezioni hanno provveduto a preparare, nelle fasi iniziali, quello che sarebbe dovuto diventare il piano regionale di campionamento.

Valutazione dei rischi relativi a prodotti alimentari tradizionali pronti, anche a filiera corta. Studio del contenimento dei rischi secondo le indicazioni recenti: Regolamenti CE

..... Tra le principali novità contemplate nel Regolamento CE 2073/2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari vi è senz' altro il superamento di una visione statica dei criteri microbiologici, che ha pervaso tutte le norme precedenti, a favore di un aspetto dinamico della valutazione di tali criteri in rapporto al tipo di prodotto ed eventuale processo associato.

In particolare: si tratta dell'art.3 punto 2: se necessario, gli operatori del settore alimentare effettuano studi (anche in collaborazione tra loro), in conformità all'allegato II, per verificare se i criteri sono rispettati per l'intera durata del periodo di conservabilità. L'allegato I prevede il ricorso all'art.3 in tre punti: 1.2 (Listeria) , 1.8 (Salmonella, prodotti di carne) e 1.11 (Salmonella, formaggi non pastorizzati)

L'effettuazione di questi studi è onerosa per le aziende che producono alimenti tradizionali, aziende spesso a carattere familiare.

Il documento SANCO 1628/2008 prevede che **i risultati degli studi effettuati su un prodotto possano essere trasferiti ad altri simili**, con le dovute considerazioni.

Il progetto si propone di definire **la salubrità e la durata commerciale dei prodotti (shelf-life)** effettuando studi in conformità all'allegato II del Regolamento CE 2073/2005 compresa l'inoculazione sperimentale delle matrici alimentari (challenge test) secondo le linee guida europee AFSSA 2007 e statunitensi NACMCF 20 marzo 2009.

Estratto : Ricerca corrente Ministero della salute LT 11/10

Valutazione del rischio microbiologico nella filiera agroalimentare tradizionale del pecorino a latte crudo

..... . Da questo punto di vista le produzioni agroalimentari tipiche o tradizionali rappresentano spesso una realtà economica e sociale estremamente importante per la sopravvivenza di piccole industrie locali. Per questi prodotti, le cui metodiche di lavorazione, conservazione e stagionatura risultano consolidate nel tempo, praticate sul territorio in maniera omogenea e secondo le regole tradizionali, è possibile accedere a delle deroghe alla normativa igienico sanitaria (art. 4 del D.M. 350/99, Regolamento CE 2074/2005 e Intesa tra il Governo e le Regioni e le Province autonome di Trento e di Bolzano del 25 gennaio 2007) se necessario al mantenimento delle caratteristiche di tradizionalità e fatto salvo l'assenza di eventuali rischi per i consumatori. **Il Lazio e la Toscana vantano un numero consistente ed eterogeneo di prodotti alimentari tipici e tradizionali**, molti dei quali sono ottenuti dalla lavorazione del latte.

Scopo del presente progetto di ricerca è valutare il rischio alimentare in formaggi di tipo pecorino e a base di latte crudo della tradizione, al fine di verificare e valorizzare suddette produzioni e agevolare un possibile intervento dei “risk managers” nella gestione del rischio identificato.

Metodiche di recente introduzione per la valutazione della sicurezza degli alimenti. Microbiologia predittiva e challenge test

Altri dati utili per predire la crescita microbica e per arricchire data base relativi a programmi predittivi riguardano la numerazione della flora lattica e la misurazione di aw e ph.

Per gli alimenti tradizionali quindi è necessario integrare dati già in parte da noi raccolti attraverso nostre analisi, con ulteriori dati, in particolare: conteggio *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* e flora lattica, misura aw e ph ed eventualmente dosaggio acido lattico (salumi e formaggi) e nitriti (salumi); programmi di microbiologia predittiva come ComBase richiedono tutte queste informazioni. Se necessario in alcuni casi, ad integrazione, si può procedere all'effettuazione del challenge test.

Il presente progetto, inoltre, si può considerare correlato con una Ricerca corrente ancora in corso (RC 2009), di cui il richiedente è responsabile, con la quale sono già stati chiariti alcuni aspetti relativi ai prodotti tradizionali.

Negli ultimi tempi si è nuovamente presentato, anche grazie al piano di controllo europeo *Listeria monocytogenes*, il problema della sicurezza del salmone affumicato riguardo a *Listeria monocytogenes*. Questo prodotto si presenta spesso positivo per *Listeria monocytogenes* con cariche elevate.

Grazie ai dati storici, alcuni acquisiti recentemente dalla routine, altri ottenuti dalla ricerca, si può meglio valutare il rischio, anche con l'ausilio del programma danese di microbiologia predittiva SSSP, specifico per i prodotti ittici processati, quali il salmone affumicato. Nel caso del salmone affumicato quindi, il criterio di sicurezza target è *Listeria monocytogenes*.

Infine per una più accurata predizione, con il suddetto programma, è necessario integrare l'analisi con le misure di aw e pH, nonché con il conteggio dei batteri lattici che anche in questo caso rivestono un ruolo fondamentale nel contrastare la proliferazione di *Listeria monocytogenes*. I risultati della ricerca potrebbero consentire una migliore definizione della durata del prodotto, in Italia di 60 giorni, che dalle conoscenze attuali risulta eccessiva.

7. Come per la precedente ricerca in corso quanto acquisito viene trasmesso agli operatori del controllo ufficiale, ai laboratori pubblici ed alle ditte per mezzo di corsi o seminari;

I risultati sono trasferiti nel piano regionale degli alimenti per essere eventualmente rimodulato, con cadenza annuale.

8. Obiettivi ed indicatori

Gli obiettivi generali sono: dimostrare o meno la sicurezza di particolari prodotti attraverso un piano di campionamento e di analisi e preservare le produzioni tradizionali/tipiche.

In particolare:

Trasferimento delle conoscenze agli operatori del controllo ufficiale, ai laboratori pubblici ed alle ditte produttrici. I risultati saranno trasferiti alle Regioni ed alle ASL interessate alla tipologia dei prodotti tradizionali studiati per mezzo di meeting o corso. ed **incremento del numero di dati.**

Valutazione diretta della **sicurezza dei prodotti tradizionali o ricategorizzazione di prodotti tradizionali rispetto ai criteri Listeria monocytogenes e Salmonella.** Indicatore: **formulare una predizione per ogni tipologia di prodotto** e/o uno studio di challenge test.

... **Verifica della shelf-life del salmone affumicato.**

Cos'è la microbiologia?

Studia forme viventi : nascita, vita, morte.

Perché studiare l'evoluzione dei microbi?

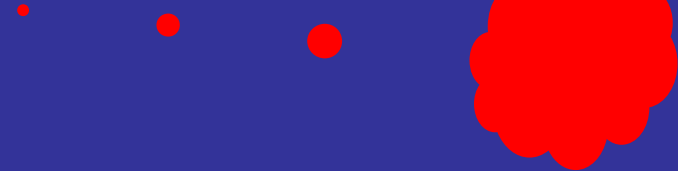
- **Per favorire la nascita o la sopravvivenza : produzioni alimentari, difesa dell'apparato digerente.**
- **Per determinare il contenimento o l'eliminazione: germi patogeni o germi alteranti gli alimenti.**

Ci occupiamo oggi di quest'ultimo punto che si può sintetizzare con **la durata del prodotto** che viene sempre più spesso indicato col termine internazionale di **SHELF-LIFE**.

La durata del prodotto

Shelf-life

La durata degli alimenti deperibili è condizionata dalla proliferazione microbica.



La misura della shelf-life è quindi fondamentale per stabilire una scadenza del prodotto alimentare entro margini che garantiscano sicurezza e qualità per il consumatore.

Per molti anni (in alcuni casi secoli) la durata dell'alimento è stata ricavata empiricamente.

La durata del prodotto

Shelf-life

SITUAZIONE ATTUALE

Sviluppo di nuovi prodotti . LE RAGIONI:

- concorrenza commerciale
- esigenza di prodotti con trattamenti sempre più blandi



Necessità di definire la durata del prodotto con metodi non più empirici:

definiti metodi specifici e complessi (analisi dati, microbiologia predittiva, challenge test).

Le conoscenze devono essere estese a tutti gli attori, dalla produzione alla vigilanza , anche se a livelli di approfondimento diversi.

E' necessario perciò precisare gli aspetti principali della microbiologia che fanno parte del bagaglio necessario per lo studio della durata microbiologica degli alimenti.

Affrontiamo quindi specificamente i principali fattori di contenimento della proliferazione microbica.

Principali fattori agenti sul “controllo” dei microrganismi

☐ TEMPO e fattori legati:

- ☐ Temperatura
- ☐ Aw
- ☐ pH
- ☐ Flora lattica
- ☐ Agenti conservanti
- ☐ Atmosfera di confezionamento

➤ Stato fisico

➤ Modalità di preparazione

Modalità di preparazione

Lavaggio

Manipolazione

Cottura

Stato fisico

Macinatura rispetto a pezzo intero

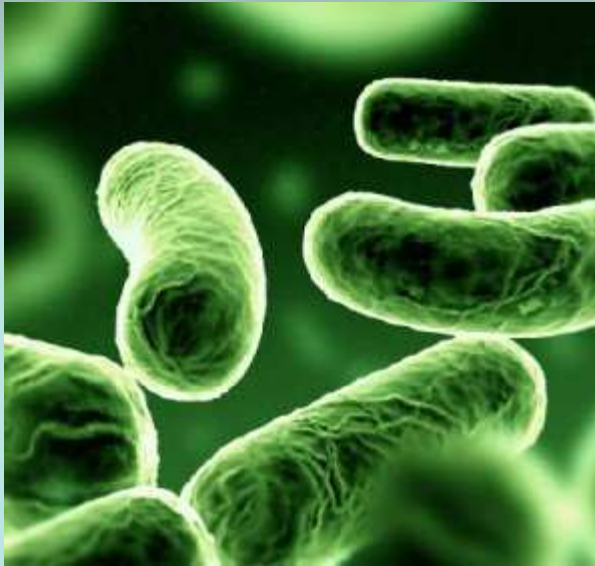
Tipo macinatura



Negli alimenti deperibili l'azione di qualsiasi fattore sulla proliferazione microbica è in funzione del tempo :



Agenti conservanti



I conservanti negli alimenti altamente deperibili sono in genere usati in quantità tale da influire solo parzialmente sulla crescita di molti germi

Atmosfera di confezionamento

La riduzione o l'eliminazione dell'ossigeno nelle confezioni



ALIMENTI ALTAMENTE DEPERIBILI

ostacolo alla proliferazione
della **flora microbica
aerobica**



ALIMENTI NORMALMENTE DEPERIBILI

ostacolo anche alla
proliferazione delle **muffe**



Aw e pH

Aw (activity water)

E' l'acqua contenuta nell'alimento, non legata, per cui è libera per il metabolismo microbico

pH

Indica il valore dell'acidità dell'alimento

Azione sinergica tra aw , pH e temperatura sull'inibizione della crescita microbica.

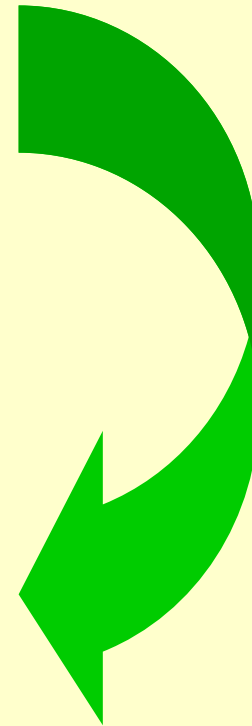
Non sull'inattivazione col calore

diminuzione a_w

e / o

abbassamento pH

progressivo aumento della
stabilità microbiologica
degli alimenti



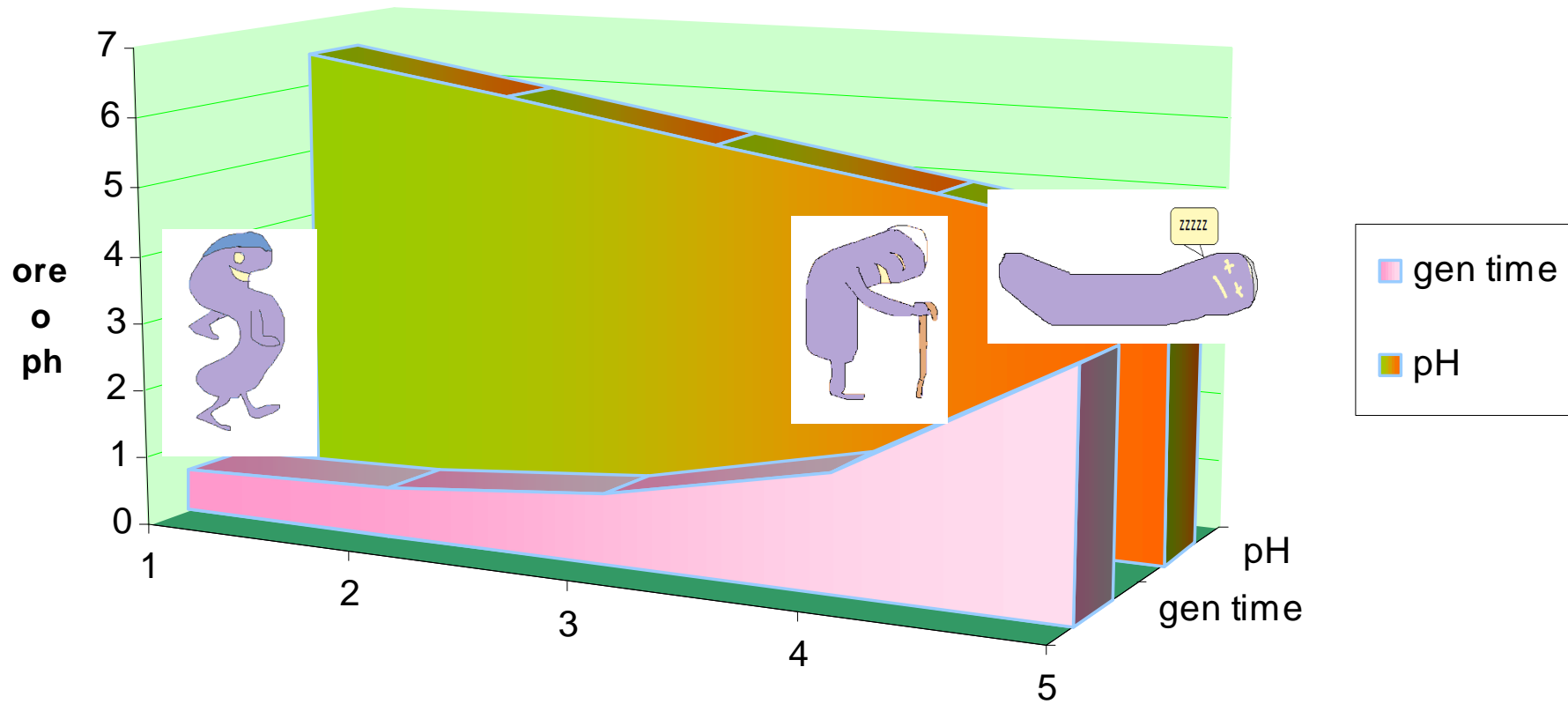
Aw, pH ed eventualmente i conservanti determinano la conservabilità intrinseca dell'alimento.

Avvicinandoci ai limiti di crescita batterica per qualunque fattore considerato, la velocità di moltiplicazione diminuisce drasticamente. **L'effetto è ancora complementare**

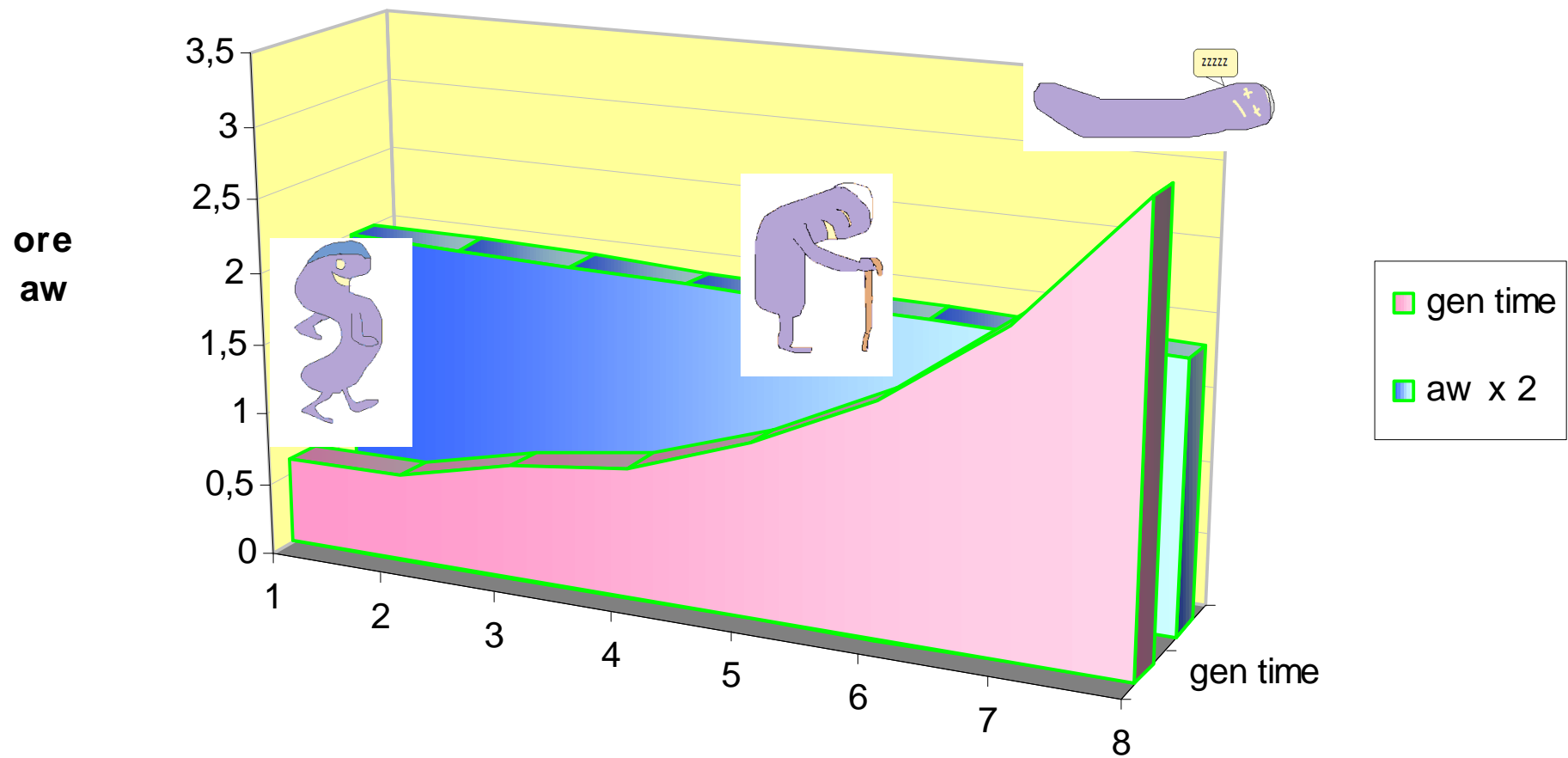
Il **limite per la produzione di tossine** da parte dei microrganismi è situato, per qualsiasi fattore considerato, in condizioni generalmente molto più favorevoli di quello per la moltiplicazione.



Aumento del tempo di generazione con l'abbassamento del pH (da 6.5 a 4.5)

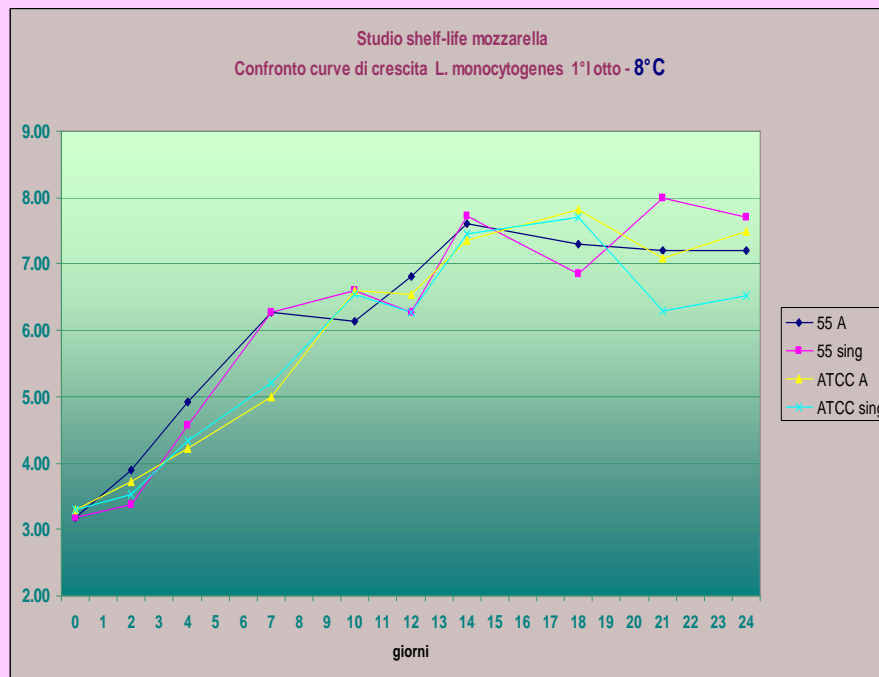


Aumento del tempo di generazione con l'abbassamento dell'**aw** (da 0.997 a 0.930)



Temperatura

Crescita *Listeria monocytogenes*
a 8°C in mozzarella



Crescita *Pseudomonas fluorescens*
a 5°C in mozzarella



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.

(hurdle technology)



Questo effetto è sfruttato regolarmente per produrre alimenti conservabili (con trattamenti delicati), che risultino ancora gradevoli da consumare.

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

	Condizioni ottimali	Fattore o fattori limitanti applicati						
		pH	aw	T°	pH+aw	T°+aw	T°+pH	T°+pH+aw
T°	20	20	20	14,7	20	17,8	16,0	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 in ore	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	54,7	51,2	50,8

Non si può esercitare un contenimento assoluto della proliferazione microbica, in prodotti alimentari che devono rimanere sostanzialmente freschi, specialmente dei microorganismi che riescono a proliferare a temperature di refrigerazione.

Si deve puntare quindi alla massima riduzione possibile della proliferazione

Esempio azione complementare

Salmone affumicato:

Sale, fumo, altri antiproliferativi, temperatura.

Tuttavia a volte alti conteggi di *Listeria monocytogenes*!

Su quale fattore di quelli precedentemente trattati si può agire?



TEMPO

AW

PH

*come fattori di
contenimento
microbico sono
incorporati in una
normativa vigente*

il Regolamento (CE) 2073/2005

Flora lattica

Valori limite di **pH** e **aw** sono previsti nel 2073 poiché si possono determinare agevolmente attraverso misurazioni strumentali.

Uno dei fattori più importanti (**GENERALMENTE IL PRINCIPALE**) di contenimento della crescita di patogeni **NON ESPLICITAMENTE CONTEMPLATO NELLA NORMA** è l'attività dei **batteri lattici**, il cui impatto non è però facilmente prevedibile.

Il Regolamento 2073 prevede però che possa essere preso in considerazione dopo attenti studi.

