

Corso ecm: Valutazione critica dei risultati delle analisi
microbiologiche sugli alimenti :
interazione tra laboratori di analisi, produttori e autorità sanitaria

Verifica Shelf life rispetto a *Listeria monocytogenes* in un salame tradizionale toscano



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



Nell'ambito della ricerca corrente LT 06/09
richiesta collaborazione da parte salumificio di medie dimensioni per eventuale
challenge test da effettuare su salame tradizionale



Mortadella nostrale

- salume tipico della zona delle Alpi Apuane
- areale di produzione limitato alle province di Lucca (versilia) e Massa Carrara

• *Salume insaccato in budello naturale, di forma cilindrica (diametro di circa 7-8 cm e tagli dai 500 g ai 3 kg), con tipiche legature trasversali. Il colore in superficie cambia dal rosso marrone nell'insaccato giovane a bianco grigio, per la presenza di muffe, nel prodotto stagionato.*

Al taglio il salume ha un bel colore rosso vivo, a volte più bruno (nelle carni senza antiossidanti e conservanti); la grana è piuttosto grossolana, poco omogenea, in sezione sono ben evidenti i lardelli di grasso. Il profumo è speziato, delicato, il sapore è fresco e deciso.



Prodotto ideale per varie ragioni

- Prodotto tradizionale
- Stagionatura breve (da 18 a 30 gg)
- Fermentazione naturale
- Valori aw e ph all'immissione in commercio
Tali da far rientrare il prodotto tra i favorevoli alla crescita di
L. 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



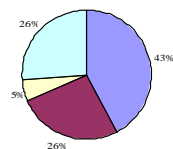
Caratteristiche intrinseche prodotto Lotto 1

Mediana A_w 1° lotto → 0.939

Mediana pH 1° lotto → 5.34

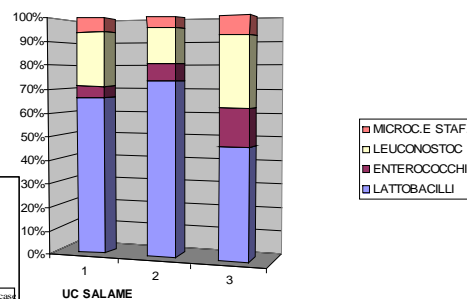
Mediana acido lattico 1° lotto →
9100 ppm

COMPOSIZIONE DEI LATTOBACILLI

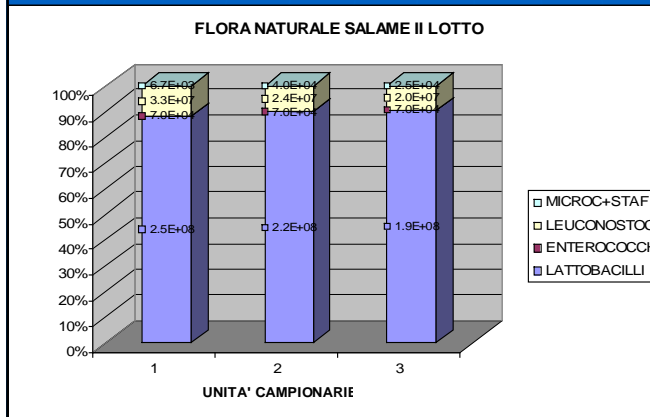


■ *Lb. paracasei* sub *paracasei*
■ *Lb. plantarum*
■ *Lb. salivarius*
■ *Lact. lactis*

FLORA NATURALE SALAME I LOTTO



Caratteristiche intrinseche prodotto Lotto 2



Mediana aw 2° lotto → **0.943**

Mediana ph 2° lotto → **5.40**

Mediana acido lattico 2° lotto → **10600 ppm**



ISO 11290-2

LOTTO 2

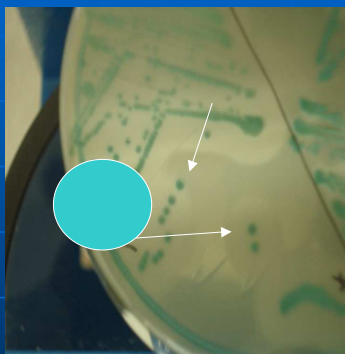
L. monocytogenes

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



Salame contaminato naturalmente!!

**LOTTO ANCORA INTERAMENTE SOTTO IL
CONTROLLO DEL PRODUTTORE**



CHALLENGE TEST



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)

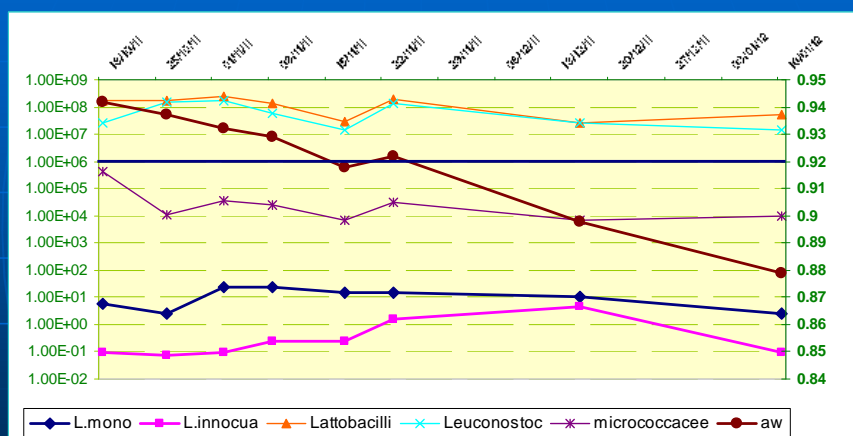


CHALLENGE TEST SU SALAME NATURALMENTE CONTAMINATO

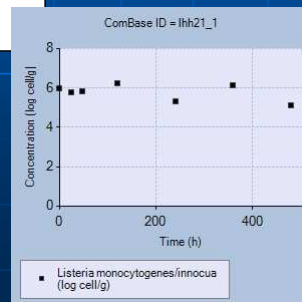
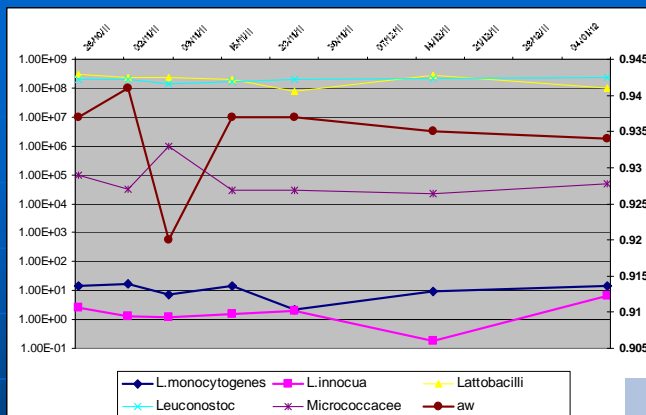
- METODO ANALISI per *Listeria* → MPN USDA a 3 provette e 4 diluizioni
- N° OSSERVAZIONI → 9 (da T₀ a T₅ con cadenza settimanale, T₆ dopo 15 gg da T₅; T₇ a 30 gg da T₆ e T₈ a 150 gg dall'immissione in commercio)
- numerosità campionaria → per ogni campionamento tranne il T₀ (10 uc) e T₉ (18 salami), 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 da analizzare 77 salami
- per ogni osservazione effettuate analisi per valutare andamento flora lattica, aw e ph



Risultati Salami 14°

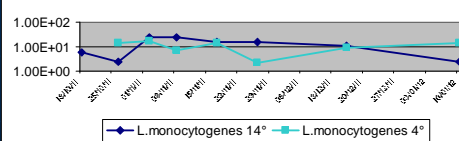


Risultati Salami 4°

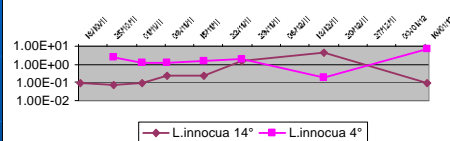


Confronto salami 14° vs 4°

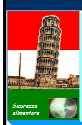
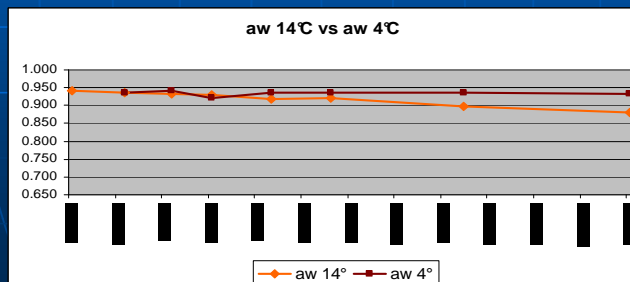
L. mono 14°C vs L.mono 4°C



L.innocua 14°C vs L.innocua 4°C



aw 14°C vs aw 4°C



Valutazione risultati

- *Listeria monocytogenes* ha mantenuto livelli sostanzialmente costanti e la tendenza può essere considerata definitiva dato che i valori di aw a 14°C sono inferiori al limite critico e molto probabilmente lo stesso vale anche a 4°C
- 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* simile a quello di *Listeria monocytogenes* (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*



FUTURI SVILUPPI

- Collaborazione con la stessa ditta per challenge test su altra matrice
- Studio batteriocine prodotte da flora lattica naturale per preparazione starter



Ricadute positive

Fruibilità dello studio effettuato anche da parte di altre ditte



Tutela consumatori, produttori e produzioni locali!!!



Grazie per l'attenzione,
e se avete bisogno.....

....Noi siamo qui!!!!

Laboratorio Microbiologia degli Alimenti

IZSLT Sezione di Pisa

Tel . 050/553563

E-mail pisamicrobiologia@izslt.it