

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

Roma 29 Febbraio - 1 Marzo 2012

***L'evoluzione di *Listeria monocytogenes*  
nel salmone affumicato***

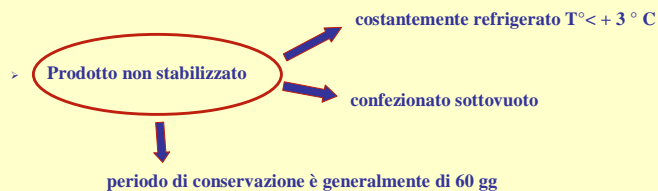
Laura Gasperetti - IZSLT Sezione di Pisa  
1 marzo 2012



**L'evoluzione di *Listeria monocytogenes* nel salmone affumicato**



La possibilità di proliferazione di *L. monocytogenes* viene valutata nel salmone affumicato



> Prevalentemente consumato senza previa cottura



**potenziale pericolo sanitario**  
(possibile ricontaminazione durante il confezionamento)

## L'evoluzione di *Listeria monocytogenes* nel salmone affumicato



### *"Inquadramento normativo"*

Secondo i parametri dell'allegato I al punto 1.2 del Reg. (CE) 2073-1441 (aw; pH e shelf life) il salmone affumicato rientra nella categoria dei "favorevoli alla crescita di *Listeria monocytogenes*....." Tuttavia se il produttore dimostra, in conformità all'allegato II..... l'art.3 par.2..... che l'alimento non supererà il limite delle 100 ufc/g durante il suo periodo di conservabilità può essere applicato tale criterio.....

"se necessario, in base agli studi summenzionati, l'OSA effettua ulteriori studi, 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 (challenge test);
- 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. (Studi di conservabilità).  
Gli studi summenzionati tengono conto della variabilità intrinseca in funzione del prodotto, dei microrganismi in questione e delle condizioni di lavorazione e conservazione)"

## L'evoluzione di *Listeria monocytogenes* nel salmone affumicato



### Microbiologia Predittiva



*E' possibile, grazie alle caratteristiche di composizione del prodotto, far rientrare l'alimento nella categoria dei non favorevoli alla crescita?*

La scelta del programma predittivo è molto importante e non scontata, infatti può portare a risultati e valutazioni molto diverse tra loro.



SIMULAZIONE con due diversi programmi predittivi, accessibili gratuitamente su internet, partendo da un caso reale.

#### ➤ **ComBase Modelling Toolbox Login Form**

Data base on-line per la previsione delle crescite batteriche (Institute of Food Research (IFR)-UK, Stati Uniti Agricolo Research Service (USDA-ARS) e il Centro di Eccellenza Australiano per la sicurezza alimentare (AFSCoE).

#### ➤ **Seafood Spoilage and Safety Predictor (SSSP) software v.3.1**

Software sviluppato da Technical University of Denmark (DTU), National Institute of Aquatic Resources (DTU Aqua) as a collaboration between the research group 'Seafood & Predictive Microbiology' (Paw Dalgaard) and the Section for Software Development (Brian James Cowan).

## L'evoluzione di *Listeria monocytogenes* nel salmone affumicato



**CASO:** salmone affumicato risultato positivo per la ricerca di *L.monocytogenes*:

- analisi qualitativa (metodo EN/ISO 11290-1): PRESENTE in 25 g
- analisi quantitativa (metodo EN/ISO 11290-2): < 10 ufc/g

analisi quantitativa (metodo interno MPN): 0.23 mpn/g

- a) Il produttore all'ASL → documentazione per dimostrare che *Listeria monocytogenes* non avrebbe superato le 100 ufc/g nel suo periodo di conservazione (nota (5) al punto 1.2 dell'allegato I del Regolamento 2073/2005).
- b) Il Laboratorio Alimenti dell'IZS di Pisa all'ASL → PREDIZIONE di crescita per *Listeria monocytogenes* per i valori riscontrati → prodotto al momento dell'analisi ufficiale e sul periodo residuo della sua shelf-life.

## L'evoluzione di *Listeria monocytogenes* nel salmone affumicato



**PREDIZIONE di crescita per *Listeria monocytogenes*:**

- ✓ Periodo residuo della shelf-life dell'alimento → 25 gg su 60 gg di shelf-life totale
- ✓ Valore iniziale ottenuto da un conteggio con metodo MPN (più accurato del conteggio in piastra previsto) 0.23 mpn/g (lim. Sup. 0.94 mpn/g)
- ✓ Condizioni della predizione → "SCENARIO PEGGIORE" (più favorevole alla crescita di *L. monocytogenes*)
- N° listerie iniziali = 0.94 mpn/g (arrotondato ad 1) ("0" in Log per ComBase)
- Batteri lattici (flora competitiva) = 100 ufc/g (inf. al presunto valore reale dopo 35gg)
- Temperatura di conservazione = 4°C
- aw = 0.957 (per ComBase) \* NaCl in fase acquosa = 4.76
- pH = 5.78
- \* Acido lattico in fase acquosa = 8.499 \* Componenti fumo = 5
- \* CO<sub>2</sub> % nello spazio di testa = 0
- \* Diacetato in fase acquosa = 0
- Lag Fase = 0 gg (phys. State = 1, ComBase)
- Periodo di conservazione (residuo) 25 gg (600 h per ComBase)

\*(dati forniti dalla ditta produttrice)

## L'evoluzione di *Listeria monocytogenes* nel salmone affumicato



PREDIZIONE di crescita con: ComBase Modelling Toolbox Login Form

<http://modelling.combase.cc/Default.aspx>



### ComBase Predictor

☒ Growth model
☐ Thermal inactivation model
☐ Non thermal survival model

**Temperature input**  
☒ Static   ☐ Changing temperature

**Water activity**  
☐ NaCl   ☒ Aw

**Observation duration**  
 Time (h) 648.00

Listeria monocytogenes/innocua with lactic(ppm)							
Initial level <=7	Phys.state [0-1]	T (°C) [1-40]	pH [4.4-7.5]	Aw [0.924-1]	lactic(ppm) [0-20000]	Max.rate (log.conc/h)	Dbl.time (h)
0	1	4	5.78	0.957	8499	0.00	63.86

**Predict**  

**Predictions**  

505.44	2.38
518.40	2.45
531.36	2.51
544.32	2.57
557.28	2.63
570.24	2.69
583.20	2.75
596.16	2.81
609.12	2.87
622.08	2.93
635.04	3.00

[Other ComBase Modelling Tools](#)
[About ComBase Predictor](#)
[ComBase Predictor Help](#)
[ComBase Predictor FAQs](#)

## L'evoluzione di *Listeria monocytogenes* nel salmone affumicato



PREDIZIONE di crescita con: ComBase Modelling Toolbox Login Form



Risultato della 1<sup>a</sup> predizione:

Il valore ottenuto a 600 h (25 gg) è 2.85 (Log) corrispondente a 708 listerie,



al termine della shelf-life, secondo questo programma predittivo,  
l'alimento supera largamente il limite stabilito delle 100 ufc/g,

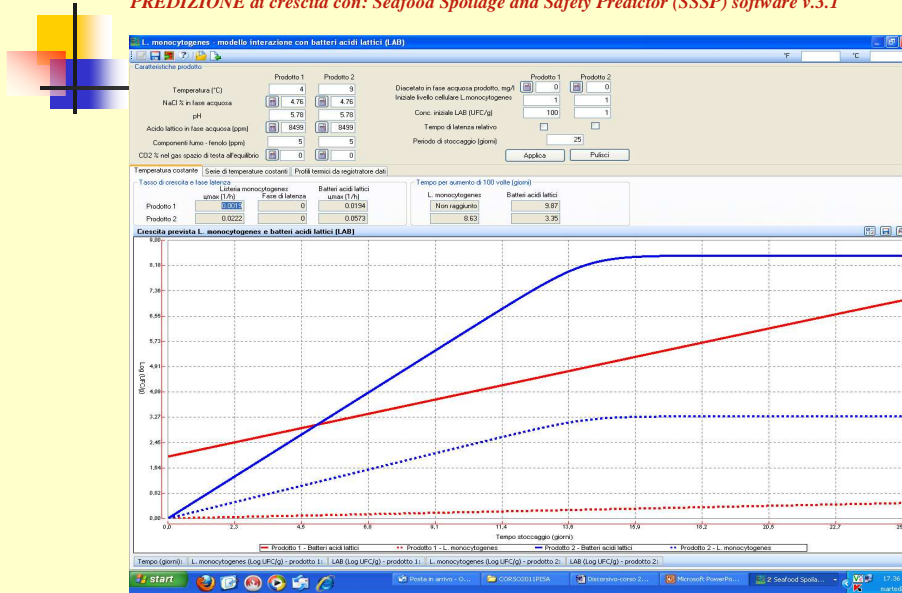


il prodotto considerato risulterebbe  
favorevole alla crescita di *listeria*.

## L'evoluzione di *Listeria monocytogenes* nel salmone affumicato



PREDIZIONE di crescita con: Seafood Spoilage and Safety Predictor (SSSP) software v.3.1



## L'evoluzione di *Listeria monocytogenes* nel salmone affumicato



PREDIZIONE di crescita con: Seafood Spoilage and Safety Predictor (SSSP) software v.3.1

### Risultato della 2<sup>a</sup> predizione:

Il valore di listeria si ricava con un semplice calcolo a partire dal  $\mu_{max}^*/h$  (0.0019) ottenuto col programma SSSP che corrisponde a 3.13 listerie che è ampiamente inferiore al limite di 100 ufc/g stabilito dal Regolamento 2073/2005.



Secondo la predizione il prodotto al termine della sua shelf- life non raggiunge mai il limite previsto.

\*  $\mu_{max}$  è il tasso di crescita massimo

\*  $\mu_{max} = \ln(n^*cellule)/t$



### CONCLUSIONI sui Programmi Predittivi

---

**Punti di forza:**

- *Disponibilità ed accessibilità dei programmi*
- *Velocità di risultati rispetto ad altri studi (Challenge test).*

**Punti critici:**

- *Scelta del programma (tipologia del prodotto analizzato, parametri)*
- *Condizioni della predizione (dati completi)*
- *Attenzione nella valutazione finale*

**Considerazioni finali:**

*La scelta del programma SSSP per la predizione sul salmone affumicato è dovuta alla specificità del programma stesso per i prodotti ittici processati ed alla possibilità di considerare la flora lattica.*



**Grazie a tutti i colleghi del  
Laboratorio Alimenti  
e a tutti voi per l'attenzione!**