



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia
e dell'Emilia Romagna «Bruno Ubertini», Brescia

APPLICAZIONE DI MODELLI DI MICROBIOLOGIA PREDITTIVA PER LA VALUTAZIONE DELLA SHELF LIFE DI PRODOTTI *READY TO EAT*

Ruggiero V., Cosciani Cunico E., Bodei L., Sabatucci G., Daminelli
P., Finazzi G.

Pisa, 11 Maggio - 2011



INTRODUZIONE

Listeria monocytogenes (Lm) negli alimenti



Regolamento 2073/2005 e successive modifiche:



Limite di 100 UFC/g di
Lm al momento del
consumo di prodotti
Ready to eat



Microbiologia predittiva
possibile strumento
tecnico-scientifico di garanzia
di sicurezza alimentare



INTRODUZIONE

Indagine negli ambienti di lavoro di preparazioni gastronomiche



Presenza di *Lm* sul prodotto (analisi autocontrollo)
e sulle attrezzature (tamponi ambientali)



Challenge test per valutare le dinamiche di comportamento
del patogeno secondo linee guida Sanco 1628-2008



INTRODUZIONE

Trota salmonata cotta e conservata in AP

T di refrigerazione

Shelf-life = 9 gg





MATERIALI

L. monocytogenes: ceppoteca ATCC 19115 sierotipo 1/2a e ceppo di campo sierotipo 4b con un titolo di circa 10^5 UFC/ml



Confezionati in AP e Incubati a:

- +5°C
- +10°C
- +15°C



METODI

- Calcolo della velocità di crescita (rate) di *Lm* (DMfit)
- Costruzione di un modello sperimentale ($\sqrt{\text{rate}} = a * \text{temp} + b$)
- Validazione dei dati rispetto al modello predittivo Seafood Spoilage and Safety Predictor (SSSP)

- Calcolo del fattore di accuratezza (*Af*) e del fattore *bias* (*Bf*)

$$A_f = \exp \left(\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (\ln f(x^{(i)}) - \ln \hat{\mu}^{(i)})^2}{m}} \right)$$

$$B_f = \exp \left(\frac{\sum_{i=1}^m (\ln f(x^{(i)}) - \ln \hat{\mu}^{(i)})}{m} \right)$$



RISULTATI E DISCUSSIONE

Campioni di controllo:

pH=6.73 +/-0.18

$\bar{a}_w = 0.978 \pm 0.013$

Concentrazione iniziale (\bar{c} =UFC/g) di batteri lattici 102 UFC/g \pm 20

Assenza di *Lm*

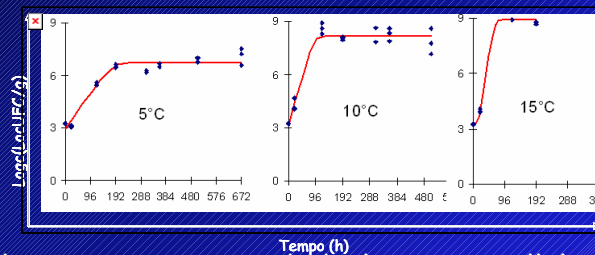
Campioni contaminati:

Concentrazione iniziale di *L.monocytogenes* $\text{Log } \bar{c} = 3.23 \pm 0.2$



RISULTATI E DISCUSSIONE

Andamento di *L.monocytogenes*



Velocità di crescita e tempo di duplicazione cellulare (Td) di *Lm*

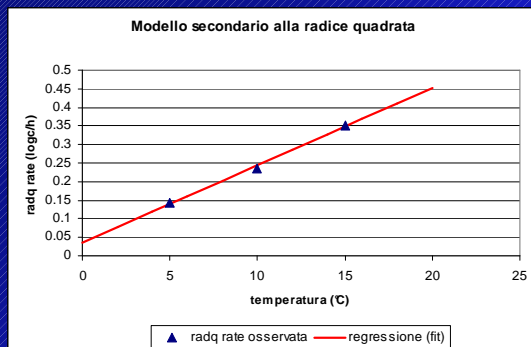
temperatura (°C)	Td (h)	dati osservati		dati predetti (SSSP)
		velocità osservata (logc/h)	ES fit	velocità predetta logc/h
5	14.65	0.02	0.33	0.023
10	5.46	0.055	0.42	0.062
15	2.44	0.123	0.16	0.121



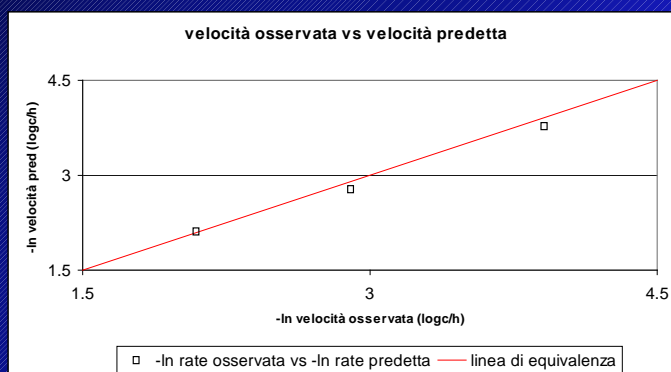
RISULTATI E DISCUSSIONE

Equazione del modello sperimentale

$$\sqrt{\text{rate}} = 0.208 * \text{temp} + 0.035 \pm 0.01$$
$$R^2 = 0.995$$



RISULTATI E DISCUSSIONE

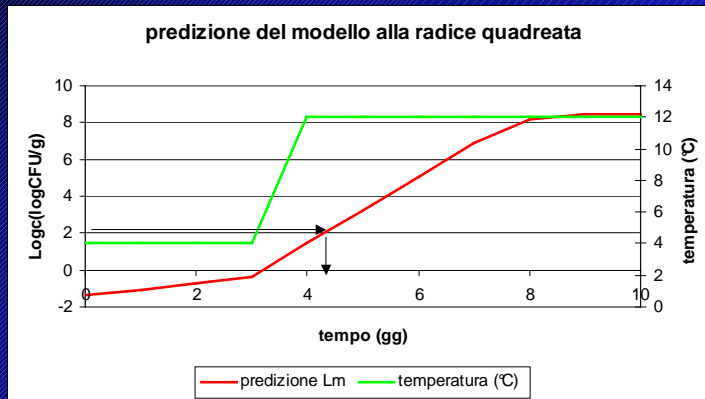


temperatura °C	velocità osservata logc/h	velocità predetta (logc/h) modello SSSP
5	0.02	0.023
10	0.055	0.062
15	0.123	0.121

$A_f = 1.11$
 $\text{Bias} = 0,92$



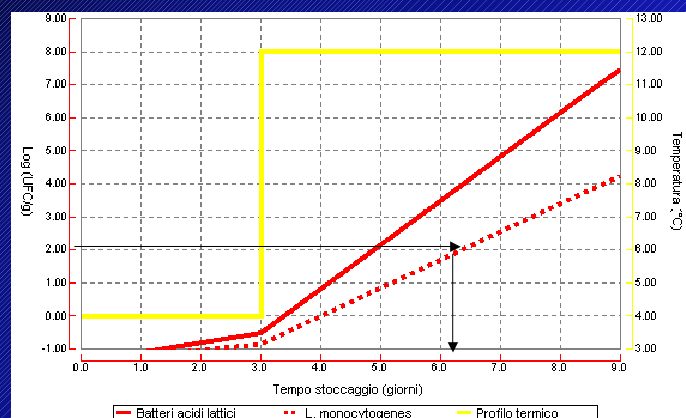
RISULTATI E DISCUSSIONE



$C_0 = 1 \text{ CFU/25g}$ Riduzione della shelf life da 9 a 4 giorni



RISULTATI E DISCUSSIONE



$C_0 = 1 \text{ CFU/25g}$ Riduzione della shelf life da 9 a 6 giorni



CONCLUSIONI

- Modelli predittivi affidabili, linee guida sanco generano *safe prediction*
- Possibilità di utilizzo da parte delle aziende di modelli terziari disponibili in rete
- Risparmio economico e tutela della salute del consumatore



GRAZIE PER
L'ATTENZIONE

Bibliografia

- <http://sssp.dtuaqua.dk/>
- Ratkowsky, D.A., Olley, J., McMeekin, T.A. and Ball, A. (1982) Relation between temperature and growth rate of bacterial cultures. *Journal of Bacteriology* 149, 1-5.
- Reg. (CE) 2073/2005 della Commissione del 15 novembre 2005 sui criterimicrobiologici applicabili ai prodotti alimentari.
- SANCO/1628/2008 (2008) Working document, draft of the guidance document on the shelf-life studies for ready-to-eat foods, under regulation (EC) no 2073/2005 of the 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs
- www.combase.cc
- Baranyi J, Pin C, Ross T (1999) Validating and comparing predictive models, *Int J Food Microbiol* 48 159-166
- Baranyi J, Roberts TA (1994) An approach to predicting bacterial growth in food, *Int J. Food Microbiol* 23: 277-294