

N. identificativo progetto: IZS LT 10/11 RC

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

Responsabile Scientifico: Dr. Roberto Fischetti

L'attività di Ricerca Corrente presso l'IZS Lazio e Toscana: principali risultati e loro trasferibilità operativa

Roma 21/06/2018





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

11 U.O.

6 SEZIONI
TERRITORIALI
IZSLT

2 D.O. SEDE
CENTRALE IZSLT

3 A.S.L. TOSCANA



9 AGE

LT0609

LT1011

LT05/15

í í í





SCOPI RICERCA



ÉTUTELA SALUTE PUBBLICA

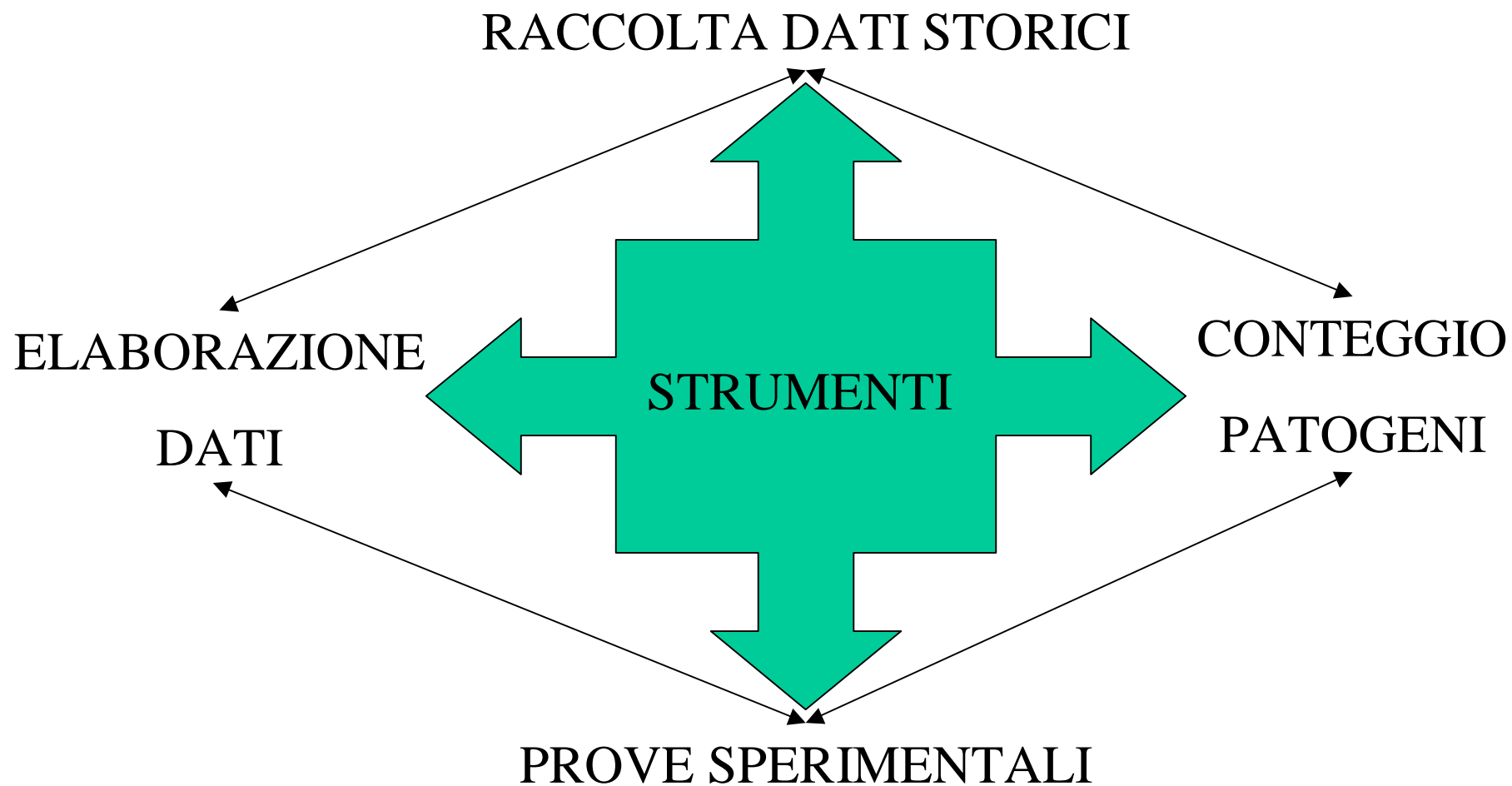
ÉTUTELA PRODOTTI TRADIZIONALI

ÉVALUTAZIONE RISCHIO MICROBIOLOGICO





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

RACCOLTA DATI STORICI

3.3. Historical data

Historical data is a component of records which a food business keeps as a part of its ongoing business. Some of this data will be recorded by the FBO as part of its legal obligations under the food safety legislation, such as traceability, HACCP and ownchecking plans, including raw material quality, sampling from processing areas and equipment (to demonstrate the efficacy of factory hygiene and cleaning regimes) and product testing, particularly on the day of production and at the end of the shelf-life (to verify effective functioning of the HACCP system and for durability verification respectively). **Historical data are useful in determining the shelf-life of RTE foods for the following reasons:**

- **Historical data will indicate levels of *L. monocytogenes* found in the production environment, raw materials and existing RTE foods**, under the businesses current practices of GHP and HACCP,
- **Historical data on levels of *L. monocytogenes* in existing RTE foods at the start and end of shelf life can be used to assess its growth potential in similar RTE foods** with comparable intrinsic characteristics (pH, aw, microflora, etc.) produced under practically identical conditions
- **Historical data on levels of *L. monocytogenes* in existing RTE foods at the start and end of shelf life is also widely used in practice to verify product durability** and confirm that the allocated shelf-life remains appropriate when stored, handled and used as reasonably intended, and
- **Historical data generated over a period of time for comparable RTE foods (as above) and which continues to be generated on an on-going basis can be used for trend analysis. Where levels of *L. monocytogenes* in RTE foods at the end of shelf-life are consistently low or absent and no results have been obtained which exceed 100 cfu/g, such data can be used in combination with data from sampling of processing areas and equipment, and on quality of raw materials to give a sufficient level of confidence that such RTE foods will not pose a risk to public health. The level of confidence increases with the amount of data available. The more product units that are tested the more reliable the historical data becomes.**

FBO shall satisfy the Competent Authority (CA) that their historical data is sufficient to demonstrate the limit of 100 cfu/g will not be exceeded during the shelf-life.

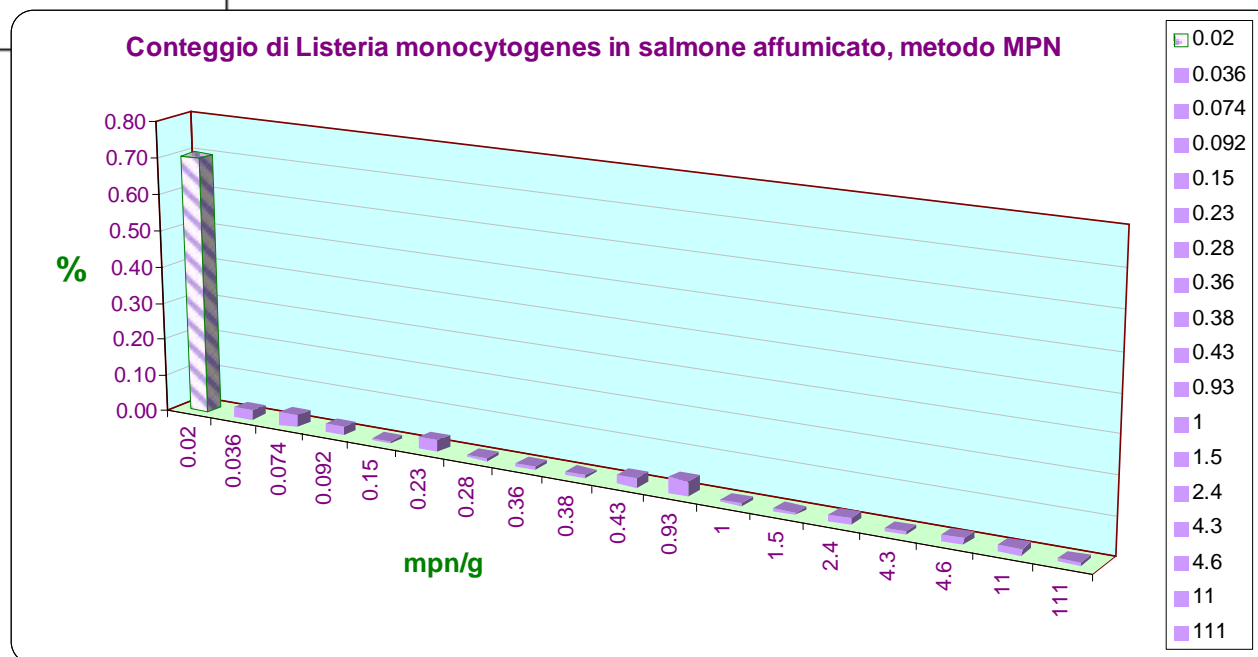
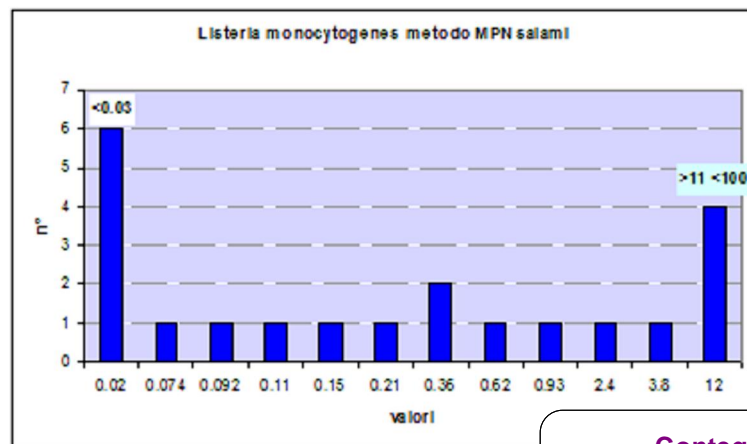
CA may require this data to be complemented with further studies, e.g. with laboratory durability studies.



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

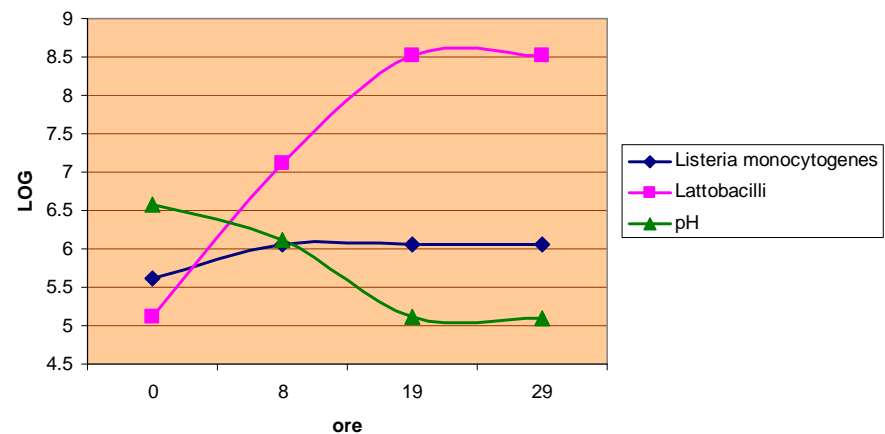
CONTEGGIO PATOGENI

MPN USDA USDA MLG Appendix 2.03 MPN del
2008



PROVE SPERIMENTALI

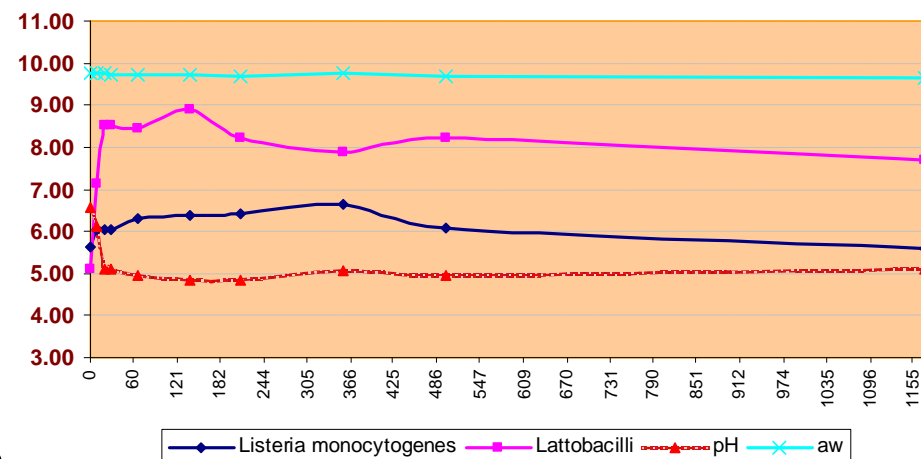
2° lotto. Challenge *L. monocytogenes* pecorino latte crudo



	LAB lower limit	<i>Listeria monocyt ogenes</i> upper limit
1° batch	0.3385	0.0063
2° batch	0.2053	0.0185
3° batch	0.2643	0.0494
no contam	0.2681	
altra azienda	0.1967	



2° lotto. Challenge *L. monocytogenes* pecorino latte crudo



tipo	data analisi	tipo contamin.	tempo	CFU medio (per 100 g)
Salmonella att 76125	Nov-15	contamin.	0	2.50E+03
			2	2.50E+03
			3	3.00E+05
			4	3.00E+05
			5	3.00E+05
artificial contamination			0	2.50E+04
			2	5.50E+04
			3	5.50E+04
			4	5.50E+04
			5	5.50E+04



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

PROVE SPERIMENTALI

Salmonella diarizonae in formaggi pecorini a latte crudo

Microsoft Excel - Valutazione Sperimentale TONVILLE 59618

File Modifica Visualizza Inserisci Formato Strumenti Dati Foglietta 2

R207 41/206

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	AA	AB
1	n	data prelievo	n registro / a o ZS PSA	nucleo provenienza a o ZS PSA	allevamento provenienza	N° allevamento	specie animale (pecora P, capra C, asino A, cavallo CA)	sexe	N° autocritica	anno nascita	razza	tondella barbetta (P o N)	tondella sierotipo	tondella patella (P o N)	tondella sierotipo	POSITIVITA'	N° positivi	% positività	sero aggiunto azione	allevamento POSITIVITA'	% allevamento POSITIVITA'	N° allevamento POSITIVITA'	allevamento (a) (a)	allevamento (a) (a)	allevamento (a) (a)	allevamento (a) (a)	allevamento (a) (a)	
172	171	7-giu-16	160473351	Ua Pisa	009.09RL	110	C	m	049000010551	>18m	net	N	N	N	N													
173	172	7-giu-16	160473352	Ua Pisa	024.0090	117	C	f	049000029474	2009	N	N	N	N	N													
174	173	6-giu-16	160474331	Ua Pisa	1100R17	110	P	f	052000154987	<5	N	N	N	N	N													
175	174	6-giu-16	160474332	Ua Pisa	1100R17	110	P	f	322		N	N	N	N	N													
176	175	7-giu-16	160474333	Ua Pisa	024.0132	110	C	f	049000015241	2011	N	N	N	N	N													
177	176	14-giu-16	160490051	Ua Pisa	0040249	120	P	f	05200001890	2010	N	N	N	N	N													
178	177	14-giu-16	160490052	Ua Pisa	0040249	120	P	f	05200001899	2005	N	N	N	N	N													
179	178	20-mar-17	170268971	Ua Pisa	03700037	121	P	f	028000048025	2012	bergasca	N	N	N	N													
180	179	27-mar-17	170268972	Ua Pisa	03700037	122	P	f	028000048739	2012	bergasca	N	N	N	N													
181	180	27-mar-17	170268973	Ua Pisa	03700037	122	P	f	028000049154		massese	N	N	N	N													
182	181	27-mar-17	170268974	Ua Pisa	03700037	122	P	f	028000093240		massese	N	61x15,7 0,61	61x15,7 0,61		x	32	0,15										
183	182	28-mar-17	170461961	Ua Pisa	03200010	123	P	f	028000049154		massese	N	61x15,7 0,61				x	33	0,15									
184	183	28-mar-17	170461962	Ua Pisa	03200010	123	P	f	028000049154		massese	N																
185	184	6-giu-17	170461963	Ua Pisa	03200010	124	P	m	052000084355	2009	massese	N	N	N	N													
186	185	6-giu-17	170461964	Ua Pisa	03200010	124	P	f	047000010914	2010	massese	N	N	N	N													
187	186	13-giu-17	170502591	Ua Pisa	03200010	125	P	f	048000032955	2007	metoca	N	N	N	N													
188	187	13-giu-17	170502592	Ua Pisa	03200010	125	P	f	048000032955	2009	metoca	N	N	N	N													
189	188	18-giu-17	170523001	Ua Pisa	03200010	127	P	f	050000055065	2010	sarda	N	N	N	N													
190	189	18-giu-17	170523002	Ua Pisa	03200010	127	P	f	050000055065	2010	sarda	N	N	N	N													
191	190	25-lug-17	170618801	Ua Pisa	037000104	128	P	f	037000039033	2010	sarda	N	N	N	N													
192	191	25-lug-17	170618802	Ua Pisa	037000104	128	P	f	037000039033	2010	sarda	N	N	N	N													
193	192	25-lug-17	170618803	Ua Pisa	037000104	128	P	f	037000039033	2010	sarda	N	N	N	N													
194	193	25-lug-17	170618804	Ua Pisa	037000104	128	P	f	037000039033	2010	sarda	N	N	N	N													
195	194	6-set-17	170728961	Ua Pisa	03100019	130	P	f	050000067564	2006	sarda	N	N	N	N													
196	195	6-set-17	170728962	Ua Pisa	03100019	130	P	f	050000067564	2006	sarda	N	N	N	N													
197	196	6-set-17	170728963	Ua Pisa	03100019	130	P	f	050000067564	2006	sarda	N	N	N	N													
198	197	6-set-17	170728964	Ua Pisa	03100019	130	P	f	050000067564	2006	sarda	N	N	N	N													
199	198	2-set-17	170795511	Ua Pisa	03200034	131	P	f	050000049079	2011	massese	N	N	N	N													
200	199	2-set-17	170795512	Ua Pisa	03200034	131	P	f	050000049079	2011	massese	N	N	N	N													
201	200	2-set-17	170795513	Ua Pisa	03200034	131	P	f	050000049079	2011	massese	N	N	N	N													
202	201	2-set-17	170795514	Ua Pisa	03200034	131	P	f	050000124296	2005	massese	N	N	N	N													
203	202	23-nov-17	170962731	Ua Pisa	03200013	136	P	f	050000015679	2008	massese	N	61x15,7 0,62	61x15,7 0,62														
204	203	23-nov-17	170962732	Ua Pisa	03200013	136	P	f	0647	2006	massese	N	61x15,7 0,63	61x15,7 0,63														
205	204	23-nov-17	170962733	Ua Pisa	03200013	136	P	f	050000055064	2010	massese	N																
206	205	23-nov-17	170962734	Ua Pisa	03200013	136	P	f	050000055064	2010	massese	N																
207	206	23-nov-17	170962735	Ua Pisa	03200013	136	P	f	049000010772	2010	massese	N																
208	207	22-nov-17	170962731	Ua Pisa	03200013	136	P	f	011000015679	2010	massese	N																
209	208	22-nov-17	170962732	Ua Pisa	03200013	136	P	f	011000015679	2010	massese	N																
210	209	22-nov-17	170962733	Ua Pisa	03200013	137	P	f	028000048160		bergamasca	N																

tondella / statistiche /

Diagnostica





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

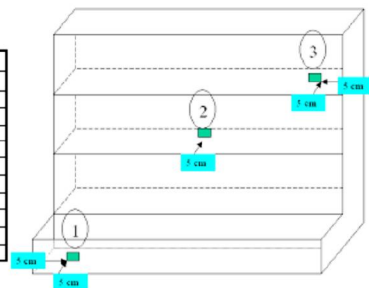
PROVE SPERIMENTALI



Esercizio:
Frigo n°
DATA ORA posizionamento ASL:
Temperatura logger 1 (n°) °C
Temperatura logger 2 (n°) °C
Temperatura logger 3 (n°) °C
NOTE:

Banco verticale

Temperatura display frigo	ora	°C
-20°		
-10°		
0°		
5°		
10°		
15°		
20°		
25°		
30°		



Indicare sul disegno eventuali variazioni al punto di misura o qualsiasi altra informazione utile

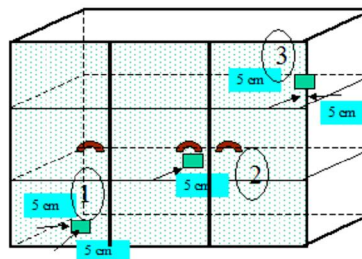
- latticini freschi =
- salumi preaffettati =
- IV gamma =
- banchi gastronomia fredda a libero servizio =
- confezioni pesce affumicato =
- =

10.05	75° perc
12.13	90° perc

Esercizio:
Frigo n°
DATA ORA posizionamento ASL:
Temperatura logger 1 (n°) °C
Temperatura logger 2 (n°) °C
Temperatura logger 3 (n°) °C
NOTE:

Banco armadio

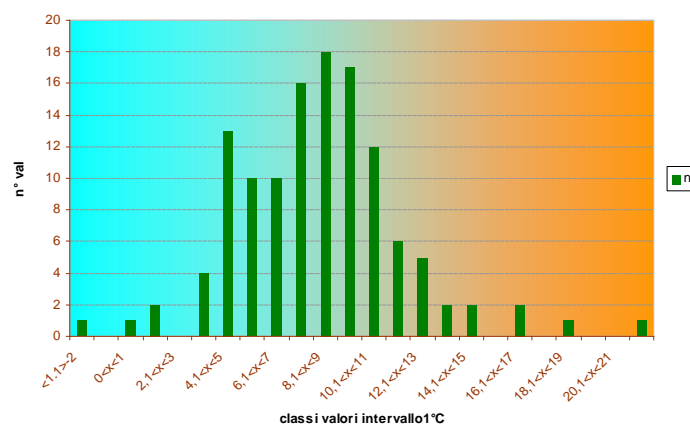
Temperatura display frigo	ora	°C
-20°		
-10°		
0°		
5°		
10°		
15°		
20°		
25°		
30°		



Indicare sul disegno eventuali variazioni al punto di misura o qualsiasi altra informazione utile

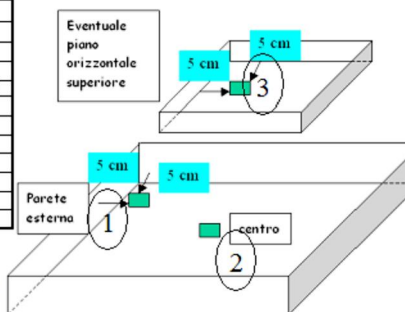
- latticini freschi =
- salumi preaffettati =
- IV gamma =
- banchi gastronomia fredda a libero servizio =

Distribuzione temperature frigoriferi supermercati



Esercizio:
Frigo n°
DATA ORA posizionamento ASL:
Temperatura logger 1 (n°) °C
Temperatura logger 2 (n°) °C
Temperatura logger 3 (n°) °C
NOTE:

Temperatura display frigo	ora	°C
-20°		
-10°		
0°		
5°		
10°		
15°		
20°		
25°		
30°		



Banco orizzontale

Indicare sul disegno eventuali variazioni al punto di misura o qualsiasi altra informazione utile

- latticini freschi =
- salumi preaffettati =
- IV gamma =
- banchi gastronomia fredda a libero servizio =
- confezioni pesce affumicato =
- =

	frigoriferi casalinghi		
	piano alto	piano basso	porta
media	8.04	7.54	8.85
75° percent	10.56	9.09	10.88

RISULTATI

ÉRICHIESTA VALUTAZIONE
DOCUMENTAZIONE DITTE E/O ASL

ÉPUBBLICAZIONI

ÉTESI DOTTORATO

ÉCORSI

ÉCOLLABORAZIONE DITTE ED ENTI

ÉALTRE RC



VALUTAZIONE DOCUMENTAZIONE

8 relazioni di supporto agli esiti non conformi (*Listeria monocytogenes* e *Salmonella spp.*) di analisi ufficiali di alimenti.

22 relazioni di supporto agli esiti non conformi di analisi ufficiali su formaggi e salami.

7 relazioni di supporto agli esiti non conformi (*Listeria monocytogenes*) di analisi ufficiali di salmone affumicato





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Sezione di Pisa

S.S. dell'Abetone e del Brennero, 4 - 56123 - Pisa
Tel. 050/553563 - Fax. 050/550615
pisa@izslt.it

A d.ssa [REDACTED]

Oggetto: Parere su documentazione relativa a *challenge test* salmone affumicato.

Campione di salmone norvegese affumicato prelevato da ASL [REDACTED] secondo quanto disposto da ufficio UVAC [REDACTED], nostro [REDACTED], risultato positivo alla ricerca qualitativa di *Listeria monocytogenes* presso il nostro Laboratorio Alimenti.

Si è chiesto un parere su documentazione relativa a *challenge test* effettuato da [REDACTED] e che riporta la data [REDACTED], presentata da [REDACTED].

- L'etichetta rappresentata nel rapporto non è relativa al campione risultato positivo per cui è da verificare se il periodo di shelf-life del campione oggetto del challenge test è compatibile, quindi minore o uguale, con quello del campione positivo.

- A pag. 7 la tabella mostra una misura di aw a inizio e fine test di 0.93. A parte il disaccordo che esiste tra il valore di 0.93 e quello ottenuto nello studio di variabilità di lotto tra 0.9728 e 0.9760, tale valore risulta incompatibile con quello da noi misurato sul prodotto risultato positivo, cioè 0.973.

Si ritiene quindi che il prodotto risultato positivo non possa essere supportato da questo test a causa della eccessiva differenza di aw.

-Da notare che, anche se ininfluente per il risultato di $\Delta < 0.5$, il Δ del growth potential non è stato calcolato con la mediana più alta ottenuta in un periodo intermedio, ma sul valore finale.

Pisa,

Il responsabile del laboratorio Alimenti

Dr. Roberto Fischetti





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Sezione di Pisa

S.S. della Abetone e del Brennero, 4 - 56123 - Pisa
Tel. 050/553563 - Fax. 050/550615
pisa@izslt.it

Oggetto : Esiti campione formaggio pecorino

Il campione di formaggio a latte crudo ovino , prelevato da ASL in data 10-08-2015 con verbale n. presso, pervenuto presso il nostro istituto in data 10-08-2015 e contrassegnato con n. registro, ha fornito i seguenti risultati:

Esame batteriologico effettuato secondo il Regolamento CE 2073:

Enterotossine stafilococciche: assenti in 25 g in 5 unità campionarie

Listeria monocytogenes : < 10 ufc/g in 5 unità campionarie

Salmonella diarizonae : PRESENTE IN 25 g in 1 su 5 unità campionarie.

La ripetizione del parametro difforme ha fornito i seguenti risultati:

Salmonella diarizonae : PRESENTE IN 25 g in 1 su 5 unità campionarie.

Nell'ambito di ricerca corrente del Ministero della Salute (LT 10/11 RC) è stato effettuato anche un conteggio di *Salmonella* nelle 2 unità campionarie positive con metodica non accreditata, ma eseguita con metodo MPN USDA (USA) con i risultati seguenti:

Salmonella diarizonae conteggio : < 0,03 mpn/g nelle 2 unità (nostro 15065240).

Considerazioni

Il sierotipo di *salmonella* isolato normalmente ha il serbatoio nei rettili, tuttavia attraverso nostre prove e nella bibliografia internazionale si osserva che può essere presente frequentemente negli ovini (prove effettuate al macello). Si tratta di sierotipo di *salmonella* che è ritenuto non patogeno per il normale consumatore.

Il formaggio pecorino si dimostra un prodotto molto sicuro grazie alla componente dei batteri lattici, presenti già in quantità massima dopo la fermentazione della cagliata (entro 24 ore dalla produzione), che rappresentano un ostacolo definitivo alla proliferazione dei germi patogeni dal momento in cui raggiungono il loro massimo sviluppo, come dimostrato da studi nostri e di altri ricercatori.

Considerando:

- che il sierotipo isolato è dotato di scarsa patogenicità (in Svezia l'autorità sanitaria ha deciso di non prendere provvedimenti nel caso di isolamento di *S. diarizonae* negli allevamenti ovini, ritenendo sproporzionato il costo totale dei provvedimenti rispetto al rischio sanitario trascurabile: *The results of the study showed that SASd is endemic in Swedish sheep herds. It is more common in large herds and not limited to certain parts of the country. The responsible authorities concluded that current risk management actions regarding SASd in sheep and sheep meat are not proportional to the risk. This is the first time in the history of the Swedish Salmonella control programme that an exemption from the legislation has been made for a specific serovar*),



PUBBLICAZIONI

2013

Un articolo utile, un allegato snello, un regolamento di qualità. (2013). XIX Conferenza Nazionale: criteri di sicurezza applicabili ai prodotti all'interno dell'Unione Europea: puntualizzazioni e riflessioni. Bologna, 10 settembre 2013. Presentato POSTER VINCITORE DEL PREMIO. R. FISCHETTI, L. GASPERETTI, I. FABBRI, F. CAMPEIS, C. CIRRI, A. D'ALONZO, C. MILIONI, R. CONDOLEO, S. SACCARES, M. MARI, M. SENESE

2014

Monitoring of foodborne pathogens in raw cow milk in Tuscany. (2014) Italian Journal of Food Safety 2014; vol. 3:1715, pagg. 60-61.
Laura Gasperetti; Alessia D'Alonzo; Matteo Senese; Ilaria Fabbri; Cristina Cirri; Carla Milioni; Valeria Valenza; Rita Tolli; Francesca Campeis; Roberto Fischetti

2015

A novel bacteriocin produced by Lactobacillus plantarum LpU4 as a valuable candidate for biopreservation in artisanal raw milk cheese.
(2015) Dairy Sci. & Technol..
C. Milioni, B. Martínez, S. Degl'Innocenti, B. Turchi, F. Fratini, D. Cerri, R. Fischetti



CORSI

13-12-12 PISA Corso ECM: Shelf-life e campionamento ufficiale di alimenti per analisi microbiologiche. Organizzato da dr Roberto Fischetti.

17-01-13 PISA Corso ECM: *La microbiologia e la sicurezza dei prodotti contenenti flora lattica*. Organizzato da dr Roberto Fischetti.

09-04-13 PISA Corso ECM: *Regolamento 2073: valutazione della documentazione relativa alla shelf-life degli alimenti*. Organizzato da dr Roberto Fischetti. Effettuate 6 lezioni IZSLT Sezione di Pisa.

20-06-13 ROMA Intervento: *Shelf life degli alimenti: una scadenza non gradita?* SANIT ó Forum Internazionale della Salute 2013. Convegno: Tracciabilità, trasparenza, informazione: dall'obbligo per le filiere agroalimentari al diritto per il cittadino. Palazzo dei congressi, Eur Roma

19-02-14 CARRARA Corso: Campionamento dei prodotti di origine animale: diverse tipologie e metodiche di campionamento ed interpretazione e valutazione dei risultati analitici. Lezione: *Interpretazione dei risultati analitici Valutazione dei risultati delle analisi microbiologiche degli alimenti* ASL 1 Massa



COLLABORAZIONI CON DITTE ED ENTI

Piano Regionale Alimenti Toscana 2012-2016

Challenge Test Pecorino a latte crudo

Shelf life Salsa al pomodoro

Validazione processo di pastorizzazione ragù di manzo

Gruppo di lavoro UNI linee guida valutazione del rischio



ALTRE RC

ÉIZSLT → 01/13, 05/15

ÉIZSLER → LE 12/12

ÉIZSUM → RC0062015

