



**IZSAM G. CAPORALE
TERAMO**

**VALUTAZIONE DEL COMPORTAMENTO DI *LISTERIA*
MONOCYTOGENES E *YERSINIA ENTEROCOLITICA* IN INSACCATI
FRESCHI CONTAMINATI SPERIMENTALMENTE**




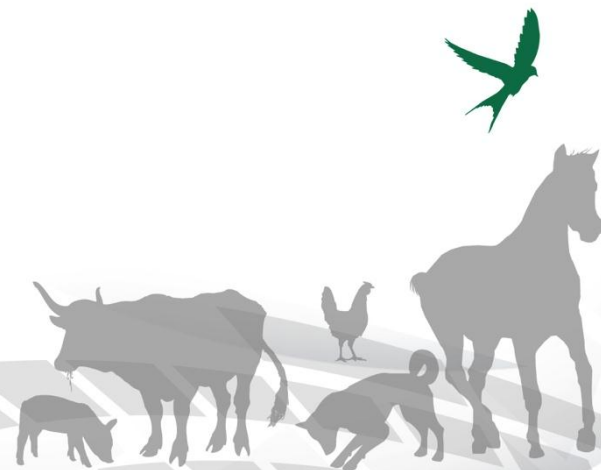
Dott.ssa Romantini Romina / Dott.ssa Di Marzio Violeta

(LABORATORIO TRASFORMAZIONI SPERIMENTALI)




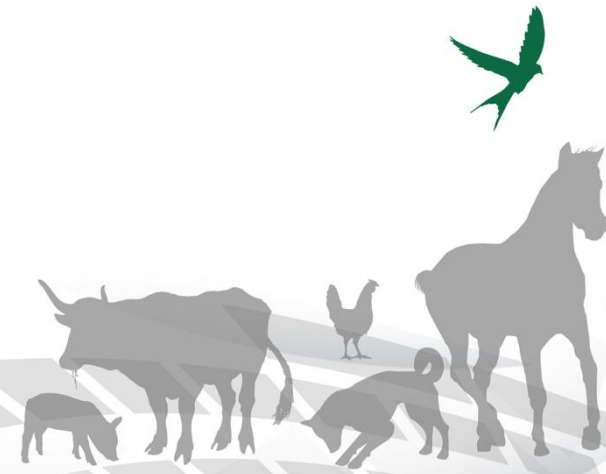
ARGOMENTI TRATTATI

- 
- Presentazione del progetto
 - Studio dei microrganismi
 - Materiali e metodi
 - Risultati e discussione
 - Conclusioni
 - Prospettive di lavoro




PREMESSE

- 
- Produzioni tipiche/tradizionali
 - Carenza di dati che consentono di valutare e/o gestire il rischio
 - Consumo di preparazioni crude o a brevissimo periodo di stagionatura
 - Categorie a rischio



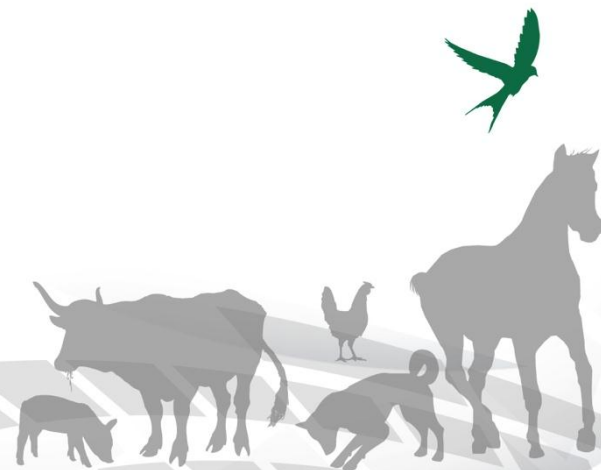
IL PROGETTO

- 
- **Ricerca corrente: Studio e caratterizzazione dei rischi chimici e microbiologici dei formaggi e degli insaccati stagionali tipici, abruzzesi e molisani**

Responsabile scientifico: Dott.ssa Vincenza Annunziata Prencipe

Collaboratori:

- Dott. ssa Sperandii Anna Franca
- Dott.ssa Di Marzio Violeta
- Dott.ssa Romantini Romina
- Dott.ssa Diana Neri
- Dott. Gino Angelo Santarelli



IL PRODOTTO

- “Carni fresche, incluse le carni ridotte in frammenti, che hanno subito un’aggiunta di prodotti alimentari, condimenti o additivi o trattamenti non sufficienti a modificare la struttura muscolo fibrosa interna della carne e ad eliminare quindi le caratteristiche delle carni fresche» (Reg CE 853/04)
- Produzione sperimentale da comparazione di ricette tradizionali (www.arssa.abruzzo.it/atlanteprodotti/)



SCELTA DEI MICRORGANISMI

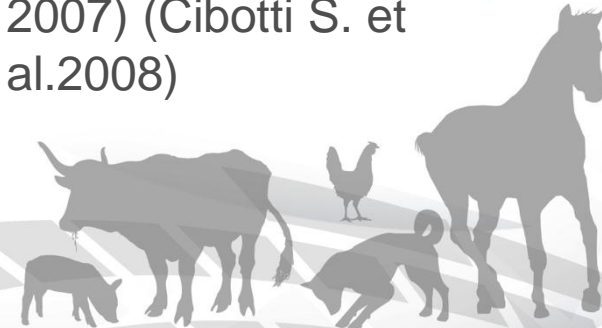
- ***LISTERIA MONOCYTOGENES*** → Prevista dal reg.(ce) n. 2073/2005, altri microrganismi patogeni possono essere veicolati da questo tipo di prodotto.

- ***YERSINIA ENTEROCOLITICA*** →


Suino “serbatoio” di responsabile di infezione umana per ingestione di carne suina cruda o poco cotta (barbieri et al.2007).

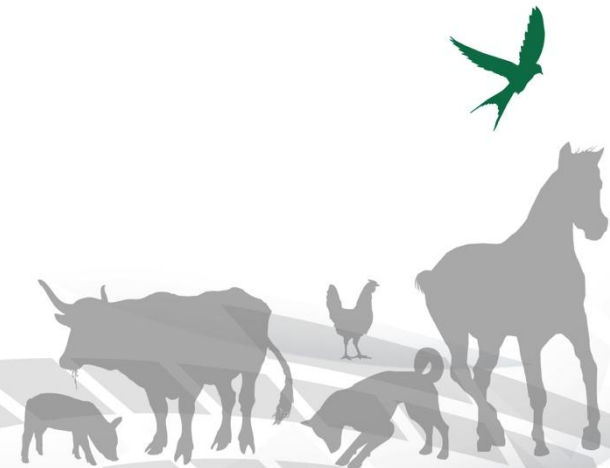
Yersiniosi quarta infezione zoonosica di origine alimentare rilevata in europa (efsa, 2013).

Scarse informazioni sulla prevalenza e livelli di contaminazione di questo agente patogeno in prodotti alimentari a base di carne suina. (Aquilanti et al. 2007, Silvestri et al. 2007) (Cibotti S. et al.2008)



CURVE DI CRESCITA

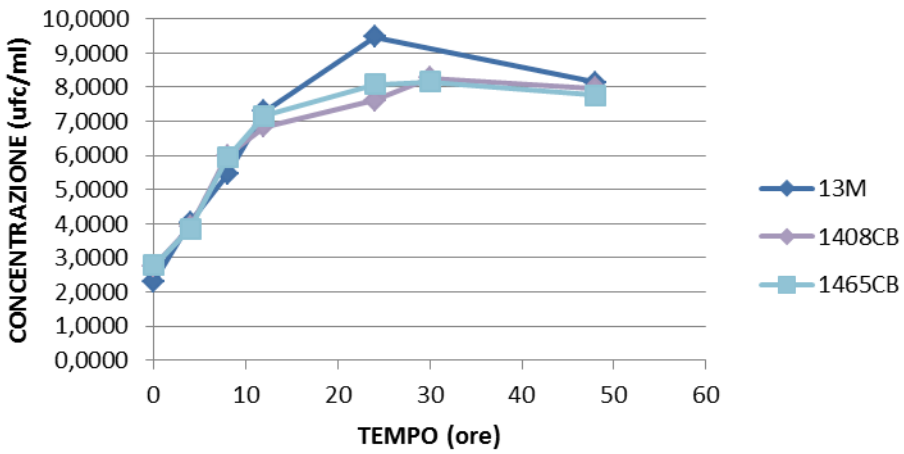
- 
- **Scopo:** determinare lag phase (t°/t)
 - ***Yersinia enterocolitica*** 1 nctc e 2 ceppi di campo isolati da tonsille di suino
 - ***Listeria monocytogenes*** 1 atcc e 2 ceppi di campo isolati da salsiccia





ANDAMENTI IN CONDIZIONI IDEALI

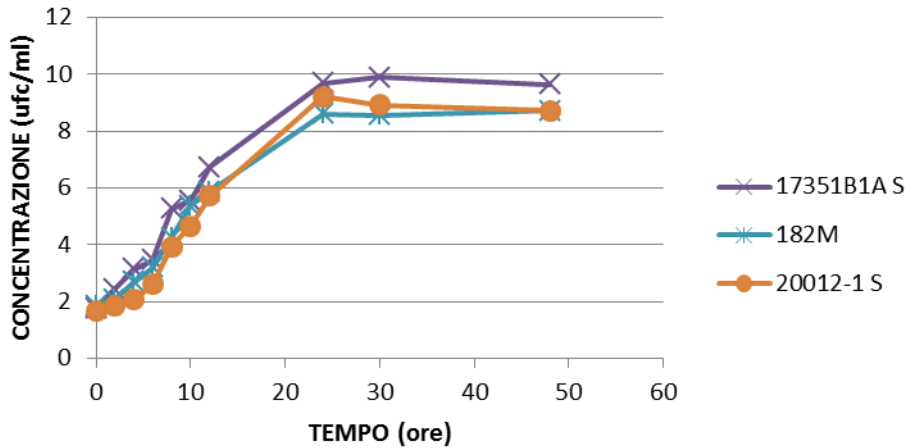
CURVE L. MONOCYTOGENES



13M: ATCC7644
1408CB: sierotipo 1/2A
1465CB: sierotipo 1/2C

182M: NCTC 10463
20012-1 S
1735/1B1A S

CURVE Y. ENTEROCOLITICA

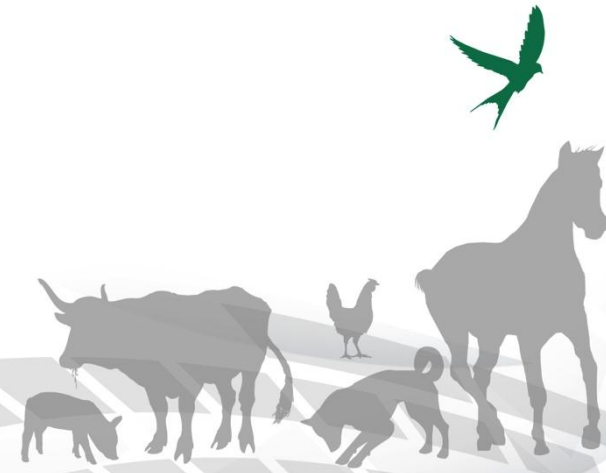


CURVE DI ADATTAMENTO



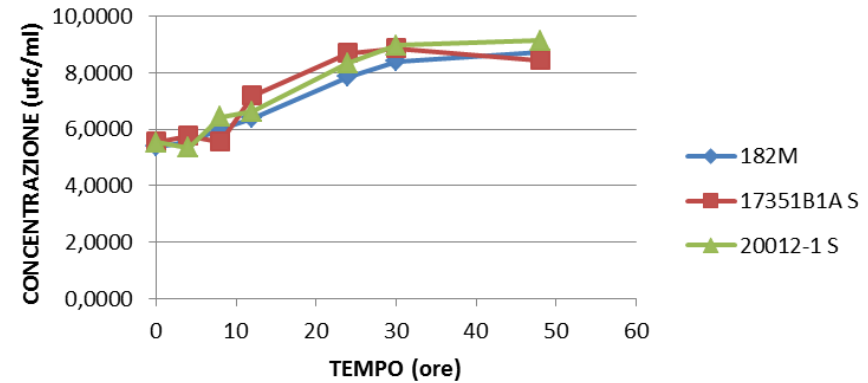
- NaCl 23% ;

- Temperature **8°C** (refrigerazione domestica) e **20°C** (mantenimento a temperatura ambiente)

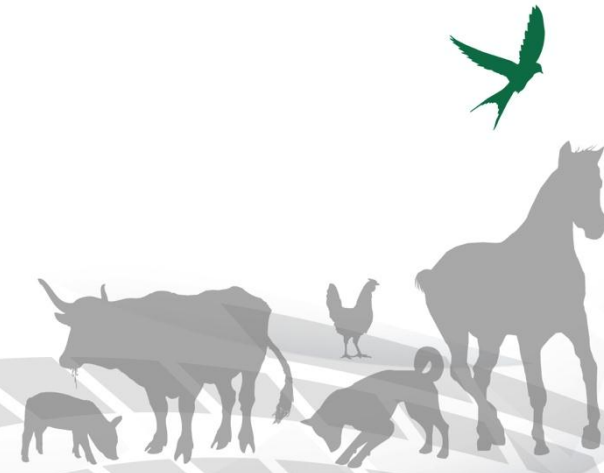
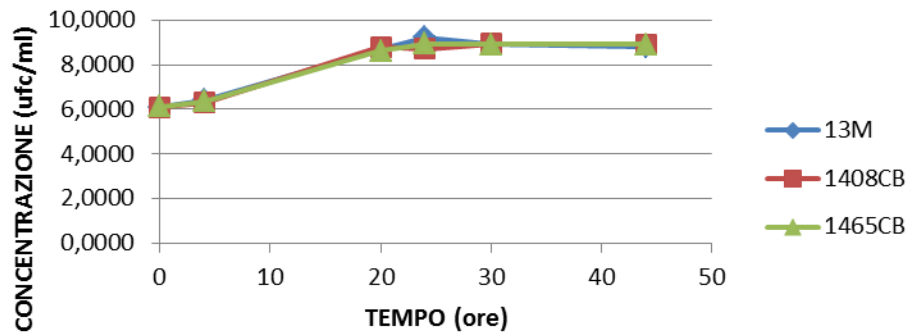


ANDAMENTI IN CONDIZIONI DI ADATTAMENTO


CURVE DI ADATTAMENTO Y. ENTEROCOLITICA A 20°C

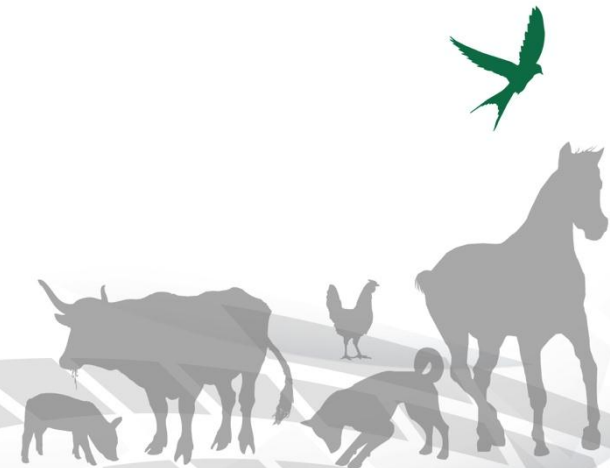


CURVE DI ADATTAMENTO L. MONOCYTOGENES A 20°C (SALSICCE 23 mg/l NaCl)



PROCESSO PRODUTTIVO SALSICCIA

- 
1. Stoccaggio
 2. Mondatura
 3. Pesata
 4. Macinazione delle carni e del grasso
 5. Preparazione della concia
 6. Miscelazione
 7. Insacco
 8. Legatura
 9. Foratura delle salsicce
 10. Stoccaggio



MATERIALI E METODI: Preparazione del prodotto



FOTO 1: MACINAZIONE DELLE CARNI E DEL GRASSO

FOTO 2: MISCELAZIONE DEGLI INGREDIENTI





MATERIALI E METODI: Preparazione del prodotto



FOTO 3: INSACCO

FOTO 4: LEGATURA





MATERIALI E METODI: Campioni di controllo e stoccaggio



FOTO 5: PREPARAZIONE DEI CAMPIONI DI CONTROLLO



FOTO 6: STOCCAGGIO





MATERIALI E METODI: Ceppi batterici utilizzati e inoculo

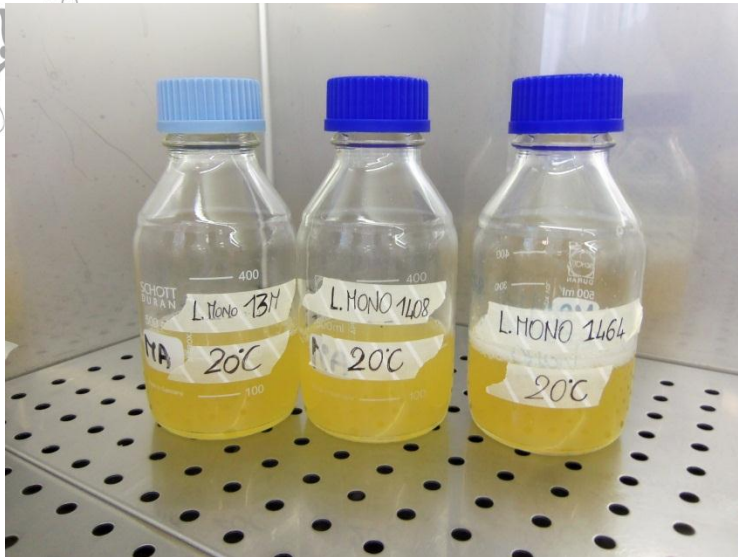


FOTO 8: INOCULO CAMPIONI PER
MCT

FOTO 7: PREPARAZIONE DELLE MIX
DI INOCULO

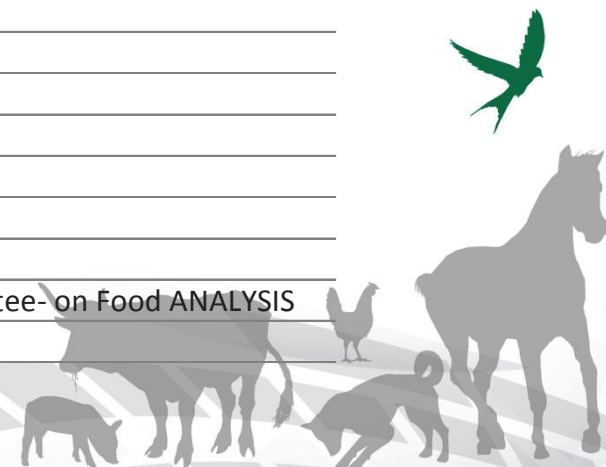


MATERIALI E METODI: Campionamento e determinazioni analitiche

- Tempi di prelievo: 1-2-3-4-5-6-7-9-12-14-17-20.
- N° di campioni: 3 salsicce analizzate ad ogni tempo.

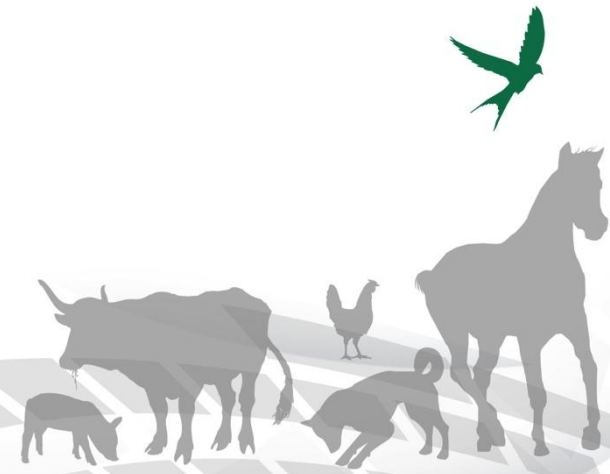
TABELLA 1: *Determinazioni analitiche eseguite*

Microrganismo	ISO
Numerazione stafilococchi coagulasi positivi(e micrococcaceae)	6888-1:1999
Numerazione Lattobacilli a 30°C	15214:1998
Numerazione <i>E. coli beta-D-glucuronidasi</i>	16649-2:2001
Numerazione batteri solfito riduttori	15213:2003
Numerazione Lieviti e muffe Prodotti Aw>0,95	21527-1:2008
Ricerca <i>Yersinia enterocolitica</i>	10273:2003
Determinazione del pH	Metodo interno
Numerazione <i>Yersinia enterocolitica</i>	Metodo interno
Determinazione dell'aW	21807:2004
Ricerca <i>Listeria monocytogenes</i>	11290-1:96/Amendment 1:2004
Ricerca <i>Salmonella</i> spp.	6579/2002
Numerazione <i>Listeria monocytogenes</i>	11290-2:98/Amendment 1:2004
Numerazione Enterobacteriaceae	21528-2:2004
Numerazione Enterococchi	NO 68 4Th Ed.2004-Nordic Committee- on Food ANALYSIS
Numerazione di <i>Bacillus cereus</i>	7932:2004

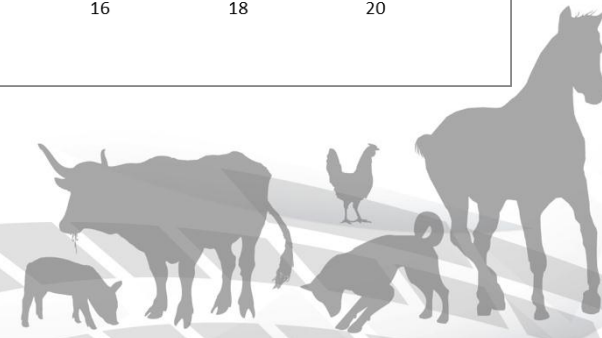
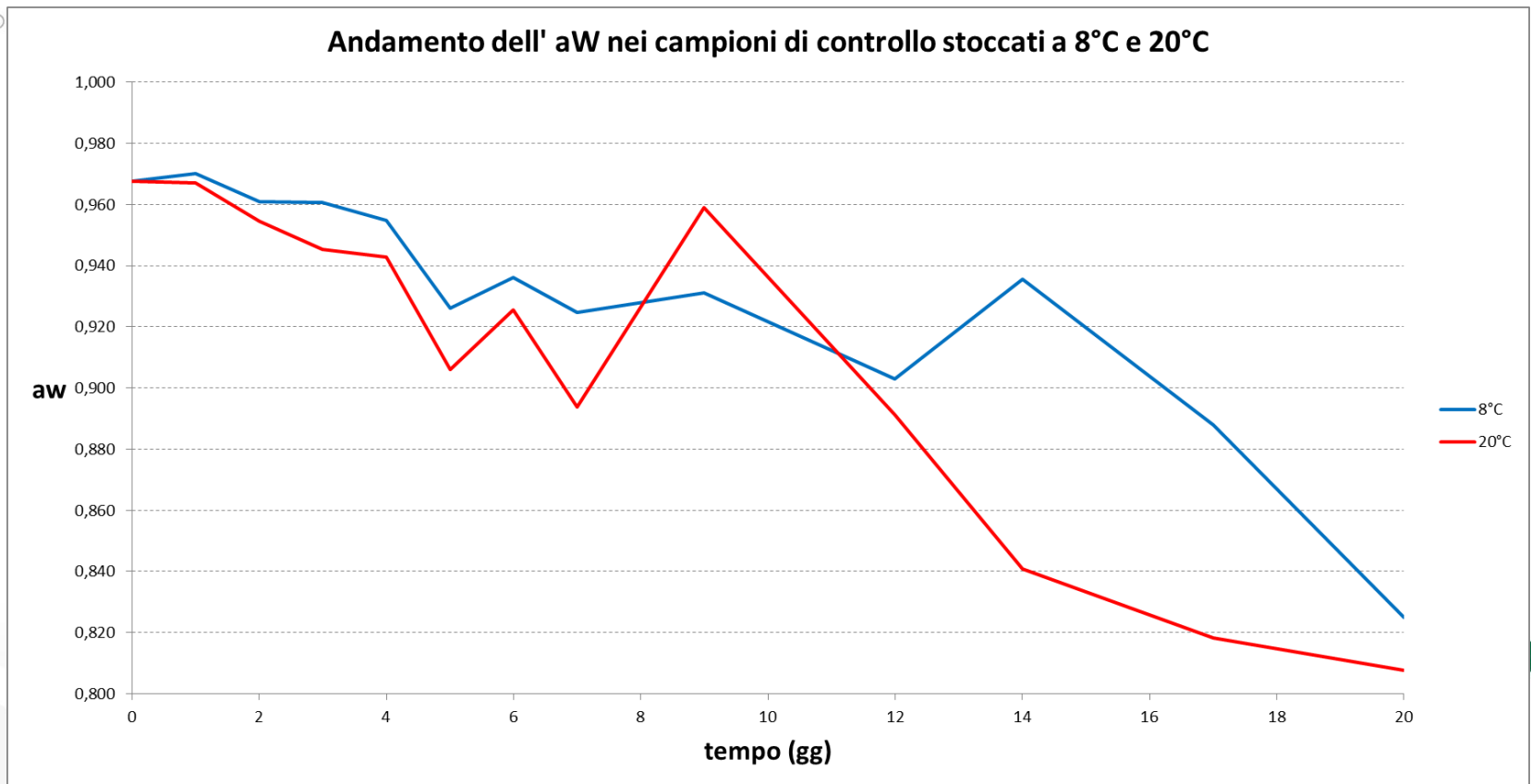


MATERIALI E METODI: Analisi materie prime

- Carne, budello sale e pepe sono stati analizzati al fine di valutarne il grado di contaminazione di partenza: eventuale presenza patogeni e livelli della microflora autoctona

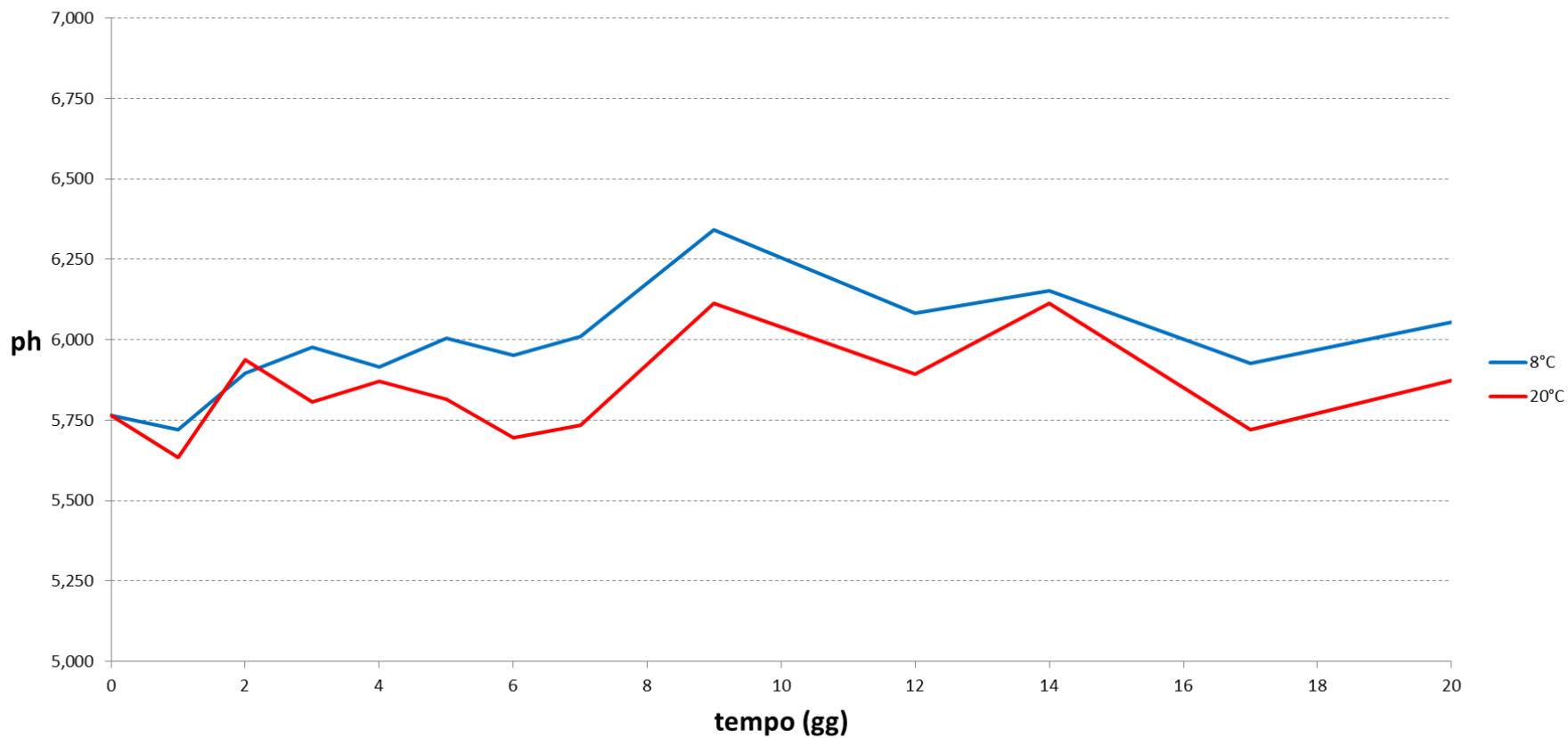


PARAMETRI CHIMICO-FISICI



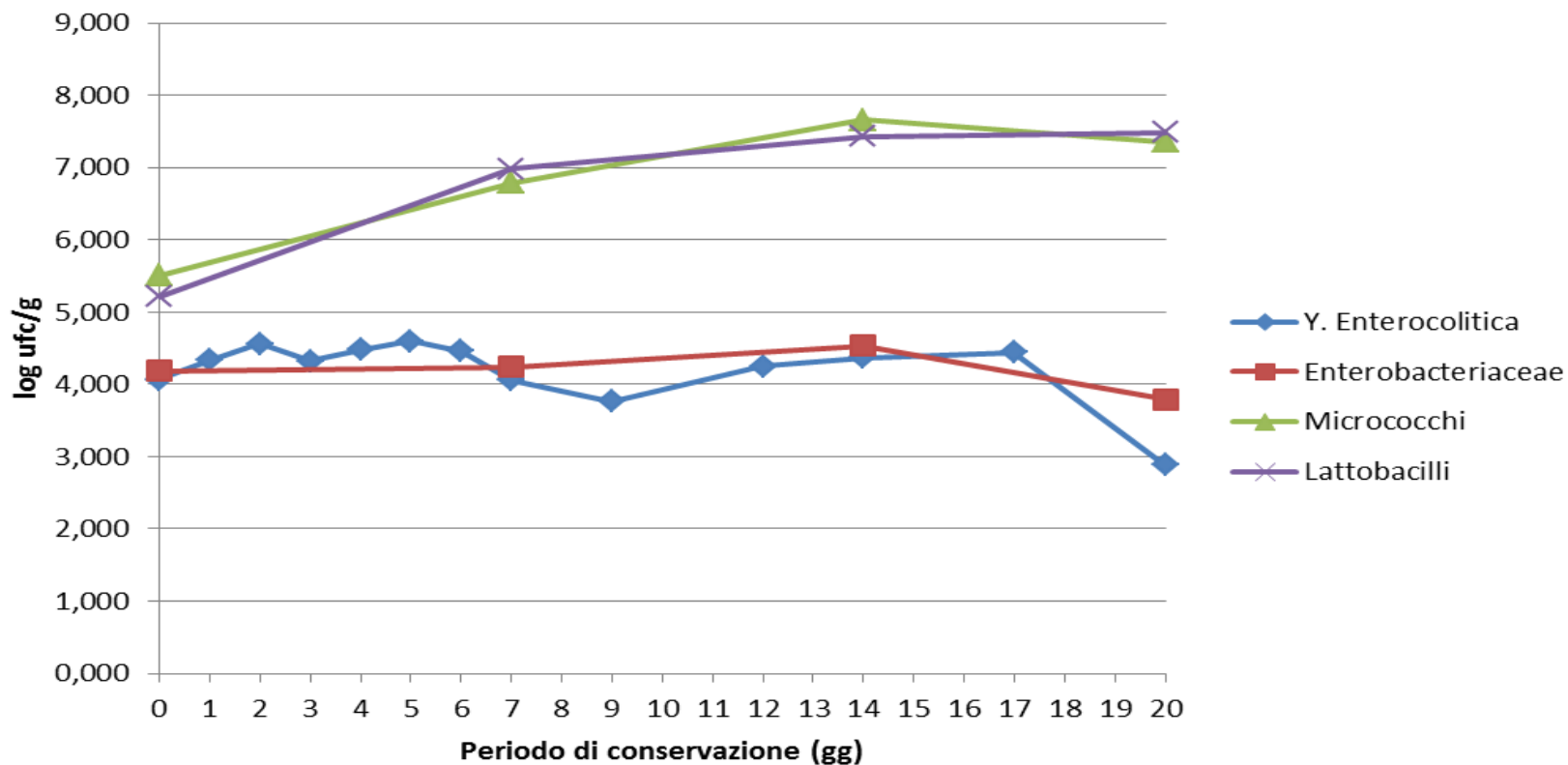
PARAMETRI CHIMICO-FISICI

Andamento del pH nei campioni di controllo stoccati a 8°C e 20°C



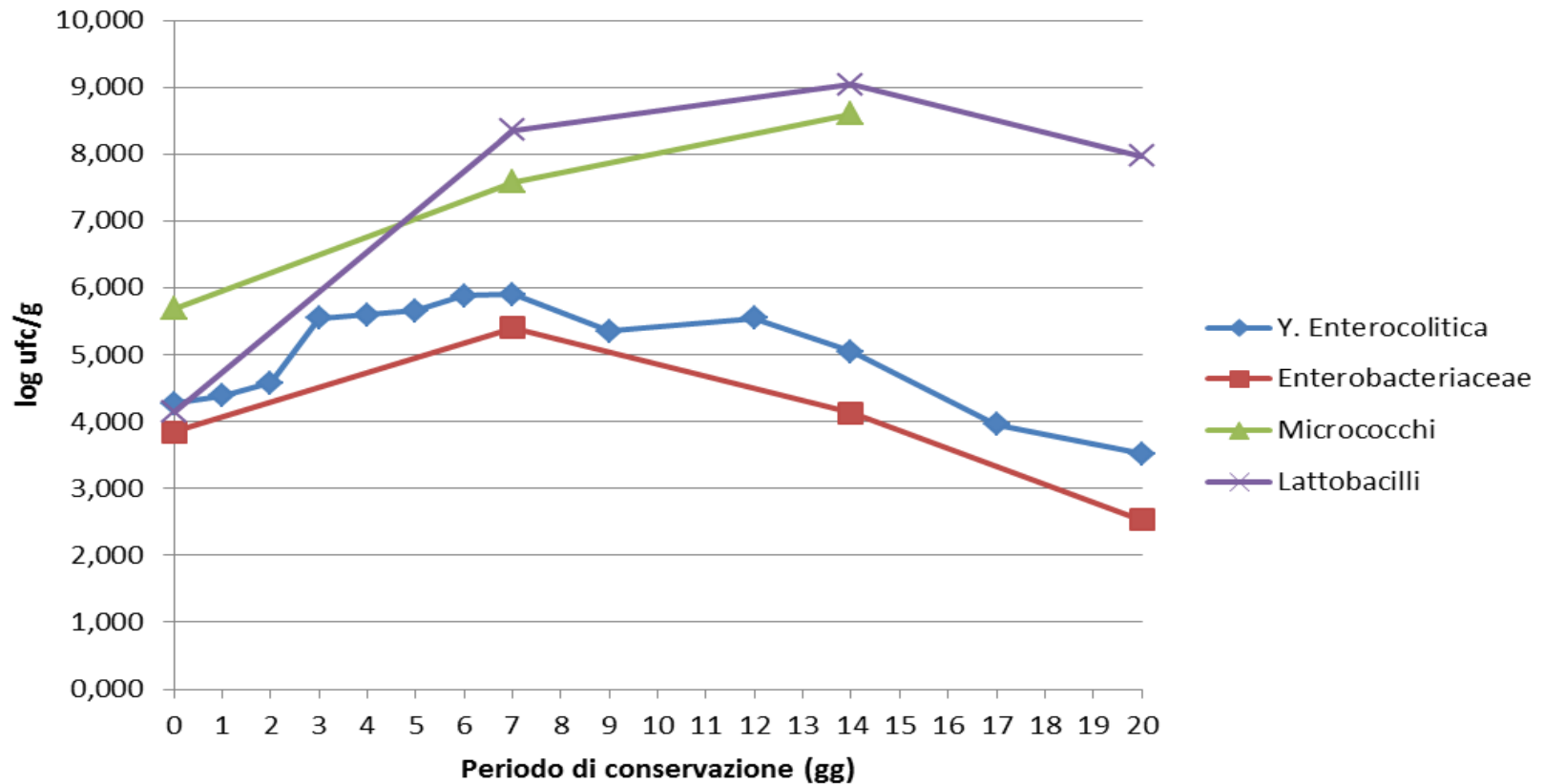
RISULTATI

**Andamento delle cariche di *Y. enterocolitica*,
Enterobatteriaceae, Lattobacilli e Micrococchi
rilevate durante il periodo di conservazione a 8°C**



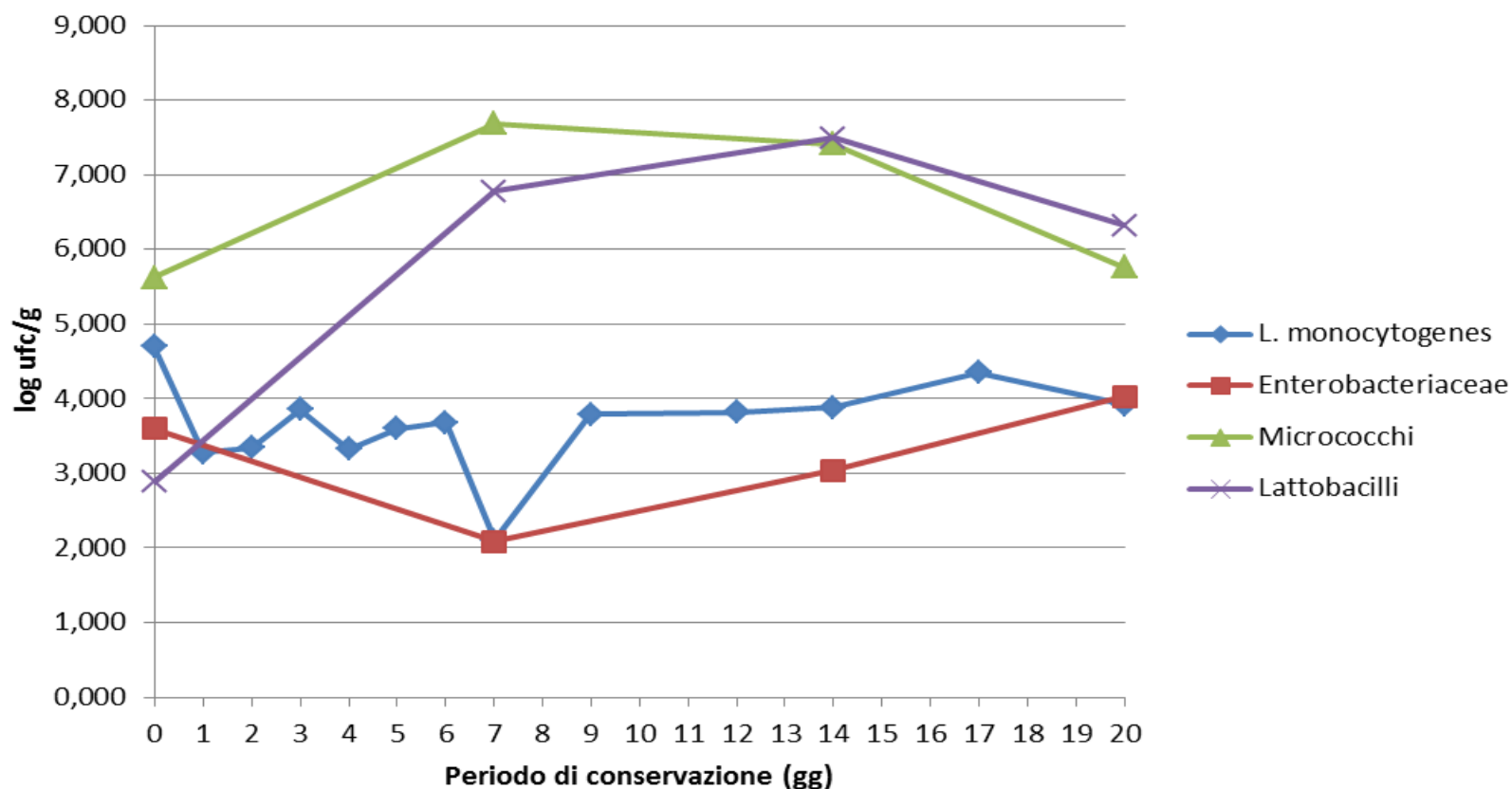
RISULTATI

**Andamento delle cariche di *Y. enterocolitica*,
Enterobatteriaceae, Lattobacilli e Micrococchi
rilevate durante il periodo di conservazione a 20°C**



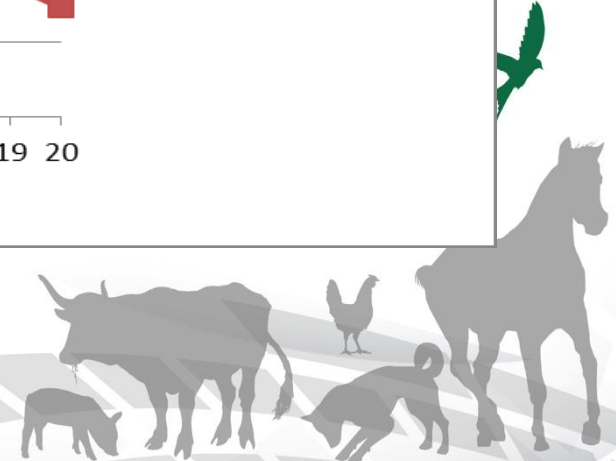
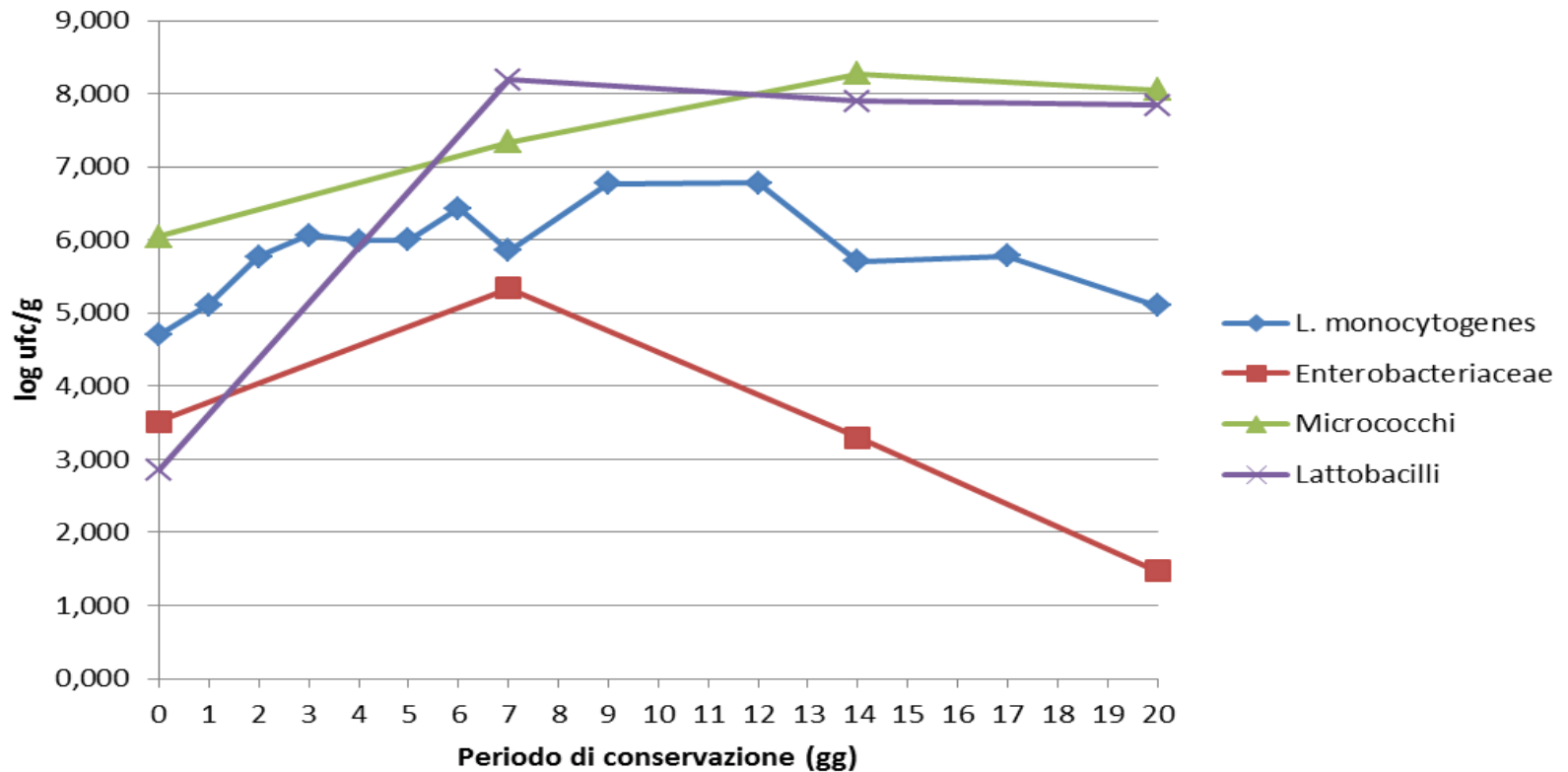
RISULTATI

**Andamento delle cariche di *L. monocytogenes*,
Enterobatteriaceae, Lattobacilli e Micrococchi
rilevate durante il periodo di conservazione a 8°C**



RISULTATI

**Andamento delle cariche di *L. monocytogenes*,
Enterobacteriaceae, Lattobacilli e Micrococchi
rilevate durante il periodo di conservazione a 20°C**




VALUTAZIONE DEI RISULTATI

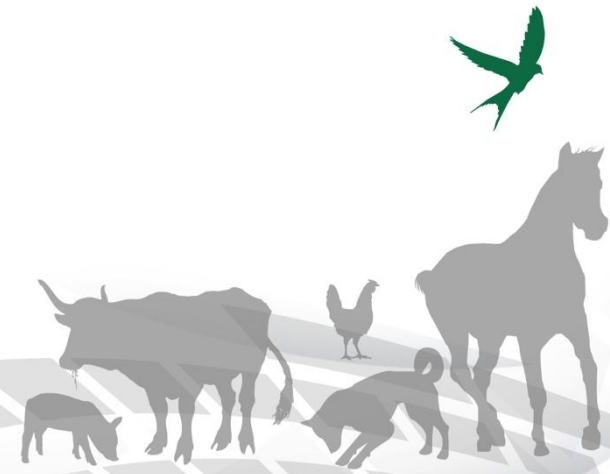
- Costi di applicazione per gli studi richiesti dal reg.(ce) n. 2073/05 non sostenibili da piccole imprese produttrici di questa categoria di preparazioni alimentari.
- Diffusa preparazione di salsicce anche a livello domestico o in laboratori annessi a macellerie
- Prodotto spesso conservato a T° ambiente nella fase di vendita
- Scarsità di dati scientifici disponibili e scarsa coerenza dei risultati di modelli predittivi elaborati su prodotti “standardizzati”: difficoltosa dimostrazione dei livelli di sicurezza di questi prodotti.



VALUTAZIONE DEI RISULTATI



La “salsiccia fresca” non presenta caratteristiche intrinseche né processi tecnologici di produzione tali da abbattere o contenere eventuali patogeni che accidentalmente possono contaminare il prodotto durante la lavorazione.




VALUTAZIONE DEI RISULTATI

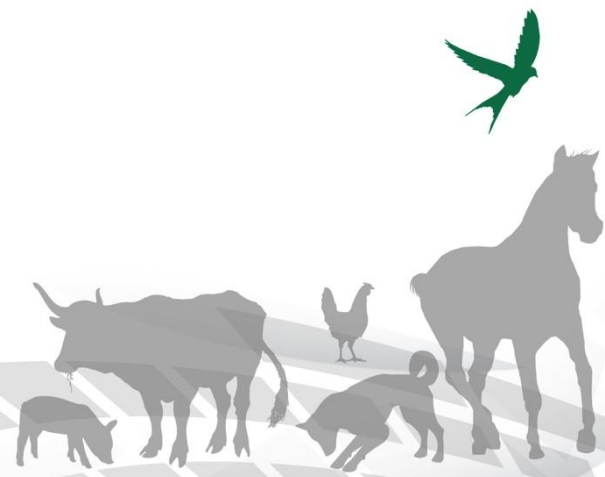
- La temperatura svolge un ruolo determinante nel contenimento della carica.
- La microflora presente non sembra svolgere un ruolo competitivo mentre determina alterazione del prodotto entro i 15 giorni dalla produzione.
- Per *L. monocytogenes* l'effetto della temperatura ha determinato il mantenimento della carica per tutto il periodo a 8°C , mentre a 20°C si è registrata una crescita progressiva fino al 12^a giorno.
- Per *Y. enterocolitica* è stato rilevato un incremento nella prima settimana ad entrambe le temperature sebbene a 20°C la curva denoti un incremento maggiore



CONCLUSIONI

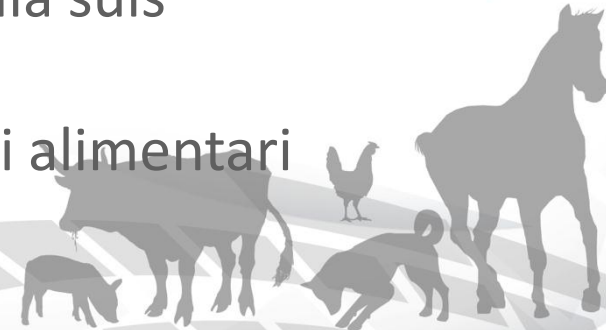


Pertanto il **periodo di maggior consumo** di questi prodotti (**7 giorni** dalla produzione) corrisponde al periodo di **maggior crescita** dei microrganismi patogeni studiati, fatta eccezione per i prodotti contaminati da *L. monocytogenes* conservati a 8°C.




PROSPETTIVE DI LAVORO

- L'analisi dei dati permetterà di definire nuovi protocolli operativi e di creare modelli predittivi specifici che tengano conto della variabilità dei prodotti locali; in funzione delle T° e del numero dei prelievi eseguiti
- I nuovi challenge test permetteranno di perfezionare i modelli aumentandone l'attendibilità
- Calcolo del potenziale di crescita e del tasso di crescita massimo
- Ulteriori studi su salsiccia fresca per valutazione del comportamento di *Campylobacter* e *Brucella suis*
- Nuove sperimentazioni su differenti matrici alimentari



BIBLIOGRAFIA

- 
- EU RL *Listeria monocytogenes* ANSES.2008. Technical guidance document on shelf-life studies for *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. vers 2 November 2008
 - Aquilanti L, Santarelli S, Silvestri G, Osimani A, Petruzzelli A, Clementi F. 2007. The microbial ecology of a typical Italian salami during its natural fermentation” Int J of Food Microbiology 120: 136–145
 - Cibotti S., Scuota S., Bazzucchi V., Bonanno S., Tommasino M., Valiani A., Morgante A. R., Sebastiani C., Cenci T. 2008. Sopravvivenza di *Listeria monocytogenes* e *Salmonella typhimurium* in “salame perugino” addizionato di LAB produttori di batteriocine e contaminato sperimentalmente. Webzine Sanità Pubblica Veterinaria: Numero 46, Febbraio 2008 [<http://www.spvet.it/>] ISSN 1592-1581
 - EFSA, (European Food Safety Authority), ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2013. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011; EFSA Journal 2013;11(4):3129, 250 pp. doi:10.2903/j.efsa.2013.3129
 - Silvestri G., Santarelli S., Aquilanti L., Beccaceci A., Osimani A., Tonucci F., Clementi F. 2007. Investigation of the ecology of Ciauscolo, a traditional Italian salami, by culture-dependent techniques and PCR-DGGE. Meat Science, 77: 413-423
 - Reg. (CE) 2073/2005 della Commissione del 15 Novembre 2005 sui Criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari
 - USDA Global Agricultural Information Network. 2012. EU-27 Livestock and Products Annual GAIN Report Number NL2026 [<http://gain.fas.usda.gov/Pages/Default.aspx>]



GUARDA, ALLE NOVE
C'È UN CONVEGNO SULL'IGIENE
NEI PRODOTTI DI SALUMERIA

È MEGLIO
NON PARTECIPARE
TE LO DICO IO



GRAZIE PER L'ATTENZIONE

