



IZSAM G. CAPORALE  
TERAMO

  *Listeria monocytogenes*  
Laboratorio Nazionale di Riferimento

## Recenti attività del Laboratorio Trasformazioni Sperimentali dell'IZSAM



Giacomo Migliorati  
Teramo, 25-26 novembre 2014



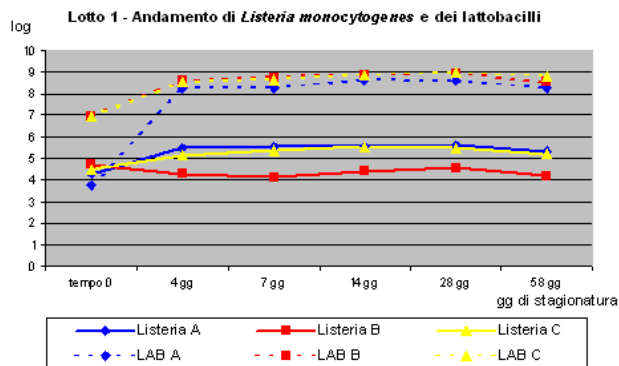
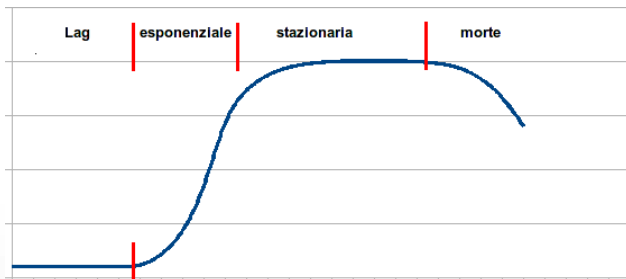


 *Listeria monocytogenes*  
Laboratorio Nazionale di Riferimento

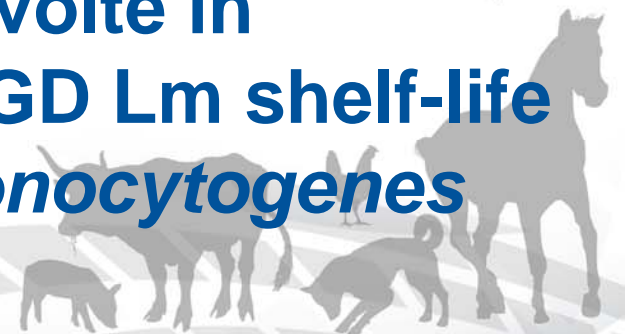
# Laboratorio Trasformazioni Sperimentali (LTS)

## Il laboratorio è stato realizzato per studiare:

- ❑ le caratteristiche chimico-fisiche, microbiologiche e nutrizionali dei prodotti alimentari
- ❑ il comportamento di microrganismi patogeni in alimenti artificialmente e naturalmente contaminati



Le attività sono svolte in  
conformità alla TGD Lm shelf-life  
EURL *Listeria monocytogenes*





 *Listeria monocytogenes*  
Laboratorio Nazionale di Riferimento

# Laboratorio Trasformazioni Sperimentali



- ❑ Strutture
- ❑ Apparecchiature
- ❑ Attività
- ❑ Proficiency Testing





 *Listeria monocytogenes*  
Laboratorio Nazionale di Riferimento

# Strutture

Il Laboratorio si sviluppa su una superficie di circa 400 m<sup>2</sup> ed è articolato in 4 aree:

- ❑ **Area 1** - Impianti pilota per la produzione di prodotti a base di latte e prodotti a base di carne (27 m<sup>2</sup>)
- ❑ **Area 2** - Laboratorio di microbiologia (18 m<sup>2</sup>)
- ❑ **Area 3** - Altre attività analitiche
- ❑ **Area 4** - Locale di servizio (camere climatiche, frigoriferi ecc.)

Le aree 1 e 2 sono collocate all'interno di “**bioBubble**” che assicurano un livello di biosicurezza 3.





 *Listeria monocytogenes*  
Laboratorio Nazionale di Riferimento

# bioBubble



- ❑ La bioBubble è una struttura di contenimento biologico che consente di garantire la salute degli operatori, la salvaguardia dell'ambiente e la protezione del prodotto da agenti patogeni impiegati nelle lavorazioni
- ❑ Si compone di un telaio in tubi di alluminio ricoperto da un telo trasparente di vinile, composto da sezioni, tenute insieme da un sistema di fissaggio "apri e chiudi", VELCRO
- ❑ La ventilazione è assicurata da "Unità di trattamento aria" in numero variabile in relazione alle dimensioni della "Bolla"





 *Listeria monocytogenes*  
Laboratorio Nazionale di Riferimento

# bioBubble



- ❑ La zona di lavoro, dotata di anticamera di accesso, è mantenuta a pressione negativa
- ❑ Le “Unità di trattamento aria” sono provviste di filtri HEPA H14, protetti da prefiltri classe G11, che assicurano **60-70** ricambi d'aria/ora nell'area 1 e **50-60** nell'area 2
- ❑ La manutenzione prevede il lavaggio (o la sostituzione) settimanale dei prefiltri e della struttura interna, la pulizia mensile della superficie esterna del rivestimento, la verifica annuale dell'efficienza dei filtri HEPA e la loro sostituzione ogni 2 anni





# Impianti pilota

- ❑ **Macchine e attrezzature per la caseificazione**
  - ✓ Serbatoio frigorifero, pasteurizzatore (serbatoio polivalente per la lavorazione del latte), vasca per la salamoia, attrezzature varie (pompa, tavoli di sgrondo, stampi ecc.), cella di maturazione refrigerata, impianto di sanificazione
  
- ❑ **Macchine e attrezzature per la produzione di insaccati**
  - ✓ Tritacarne, impastatrice, insaccatrici, confezionatrice per sottovuoto e atmosfera modificata, affettatrice e produzione di hamburger



# Impianti pilota



- ❑ Camere climatiche, termostati, frigoriferi per la gestione a diverse temperatura della stagionatura/conservazione dei prodotti alimentari lavorati







 *Listeria monocytogenes*  
Laboratorio Nazionale di Riferimento

# Laboratorio di microbiologia



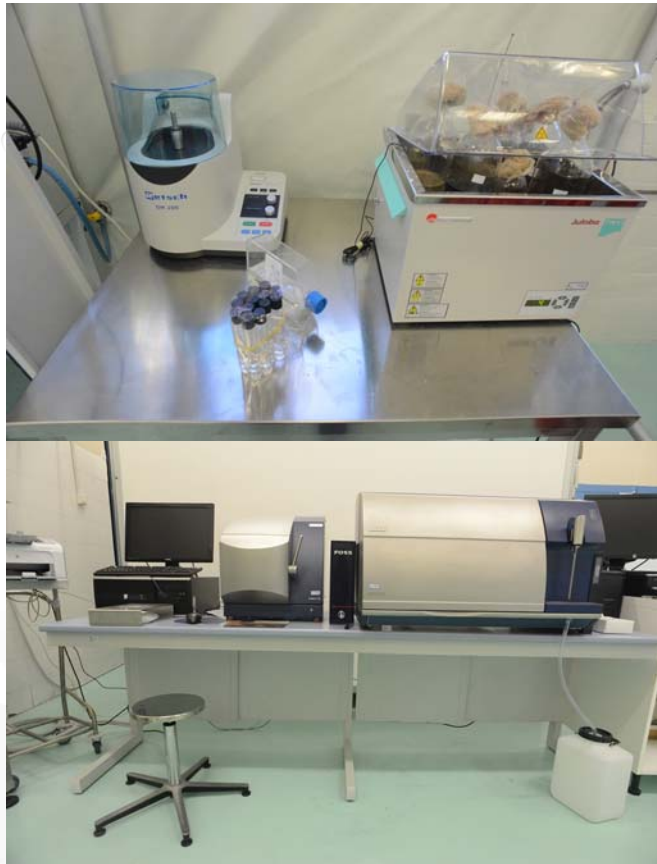
- ❑ Effettua la ricerca e numerazione dei microrganismi patogeni, indicatori di igiene e tecnologici sia con metodi classici sia alternativi, determinazioni chimiche-fisico (Foodscan e Milkoscan FT2)
- ❑ È dotato di tutte le apparecchiature necessarie all'esecuzione delle prove: cappa a flusso laminare, strumenti per l'incubazione (termostati, bagnomaria, anaerobiosi), centrifuga, pH-metro, bilance, strumenti per la sterilizzazione





 *Listeria monocytogenes*  
Laboratorio Nazionale di Riferimento

# Laboratorio di microbiologia



- La qualità dei risultati delle analisi di laboratorio è garantita dall'accreditamento delle prove, in conformità ai criteri della norma ISO/IEC 17025, dall'impiego di metodi di prova validati e internazionalmente riconosciuti, dalla sistematica partecipazione a circuiti di prove interlaboratorio



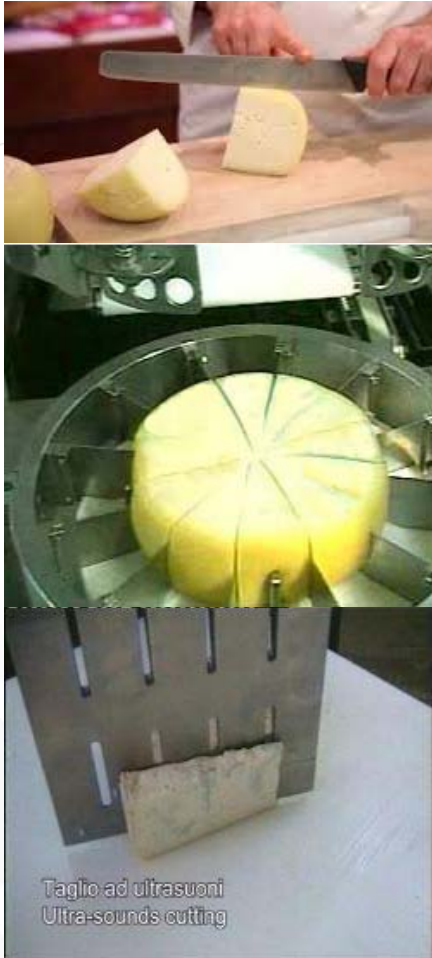
# Attività del LTS nel 2014



- ❑ Valutazione del comportamento di *L.monocytogenes*, *Y.enterocolitica* e *C. coli* in **insaccati freschi di suino**, contaminati artificialmente
- ❑ Valutazione del comportamento di *L. monocytogenes*, *S. typhimurium*, *S. aureus*, *E. coli* 0157 nel **pecorino di Farindola**, contaminato artificialmente
- ❑ Valutazione del comportamento di *L.monocytogenes*, *S. typhimurium*, *S. aureus*, *E. coli* 0157 nella **scamorza molisana** e nella **ventricina teramana**, contaminate artificialmente



# Attività del LTS nel 2014



- Valutazione del trasferimento di *L. monocytogenes* dalla crosta alla pasta durante le operazioni di porzionatura, per la valutazione del rischio listeriosi da parte dei consumatori di formaggio

Le fasi del challenge (selezione e adattamento dei ceppi, preparazione dell'inoculo, esecuzione del challenge) sono svolte in accordo con la TGD Lm shelf-life EURL *Listeria monocytogenes* e **scritte in procedure operative**





Strains set: EURL	Genoserotype: II		
Name: <i>Listeria monocytogenes</i>	Date of isolation: 21/06/2011		
Type of microorganism: bacteria	Culture medium: agar <i>Listeria</i> according to Ottaviani and Agosti		
Strain reference: 12MOB045LM	Temperature: 37°C		
Origin: meat products	Atmosphere of incubation: air		
Geographical origin: France			
Growth parameters	At 8°C pH 7 a <sub>w</sub> 0.98	At 20°C pH 5 a <sub>w</sub> 0.98	At 20°C pH 7 a <sub>w</sub> 0.95
Maximum growth rate (h <sup>-1</sup> )	0.092±0.000	0.184±0.010	0.137±0.170
Bibliography: Begot et al, 1997 (strain named Lm P1)			



**EURL Lm**

European Union Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes*

Preliminary study of PT trial on challenge test to assess the growth potential of *Listeria monocytogenes* in tuna rillettes

PROTOCOL FOR ONE BATCH

**1. One batch**

One batch is constituted of 2 cans of tuna rillettes.

**2. Strains used**

Two strains are selected: 12MOB101LM and 12MOB102LM, strains from the EURL Lm set of strains (sent on stock culture agar: take some culture and spread it on a non-selective agar dish (for example: TSAYe) and incubate at 37°C±1°C).

**Preparation of the inoculum**

3.1. Subculture 1: each selected strain is transferred in a tube containing 9ml of TSBYe (or BHI) and incubated at 37°C±1°C during 24h±2h.

# Attività future

- Prosecuzione delle attività di studio dei prodotti alimentari sia per valutare la *shelf-life* sia per valutare il rischio dei consumatori
- Applicazione della metagenomica allo studio dei meccanismi di interazione tra agenti patogeni e specie autoctone nei prodotti e negli ambienti di lavorazione
- Fornitura ai laboratori nazionali di ceppi di *L. monocytogenes* messi a disposizione dall'EURL, isolati da diverse matrici (prodotti a base di carne, a base di latte, prodotti ittici, altre matrici) con caratteristiche di crescita note (massimo potenziale di crescita a specifici parametri di T, pH, a<sub>w</sub>)
- Organizzazione di un PT finalizzato alla valutazione del potenziale di crescita di *L. monocytogenes* in matrici alimentari





**GRAZIE**

