



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Le due facce della medaglia del *challenge test*



Luigi Lanni

Teramo 15 Dec 2015





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

Documenti di orientamento

Documenti di riferimento

Progettazione

Esecuzione

Risultati

Report



COMMISSION STAFF WORKING DOCUMENT GUIDANCE DOCUMENT on
Listeria monocytogenes shelf-life studies for ready-to-eat foods, under
Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological
criteria for foodstuffs

SANCO/1628/2008 ver. 9.3 (26112008)

SANCO/11510/2013 (draft)

EURL *Lm* TECHNICAL GUIDANCE DOCUMENT for conducting shelf-life
studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods

Version 3 – 6 June 2014



Normativi

Regolamenti Comunitari 2073/05smi; 853/04smi; 854/04; 882/05

Volontari

International Organization for Standardization

ISO/UNI - metodi microbiologici

UNI EN ISO 10012:2004 Requisiti per i processi e le apparecchiature di misurazione

ISO 23953 - 1 e 2:2005/Amd 1:2012 (Mobili refrigerati per esposizione e vendita
Parte 1: Vocabolario; Parte 2: Classificazione, requisiti e condizioni di prova

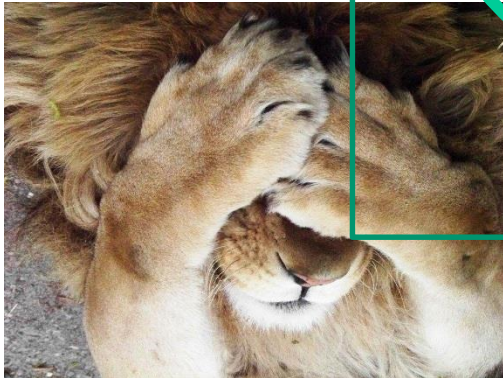
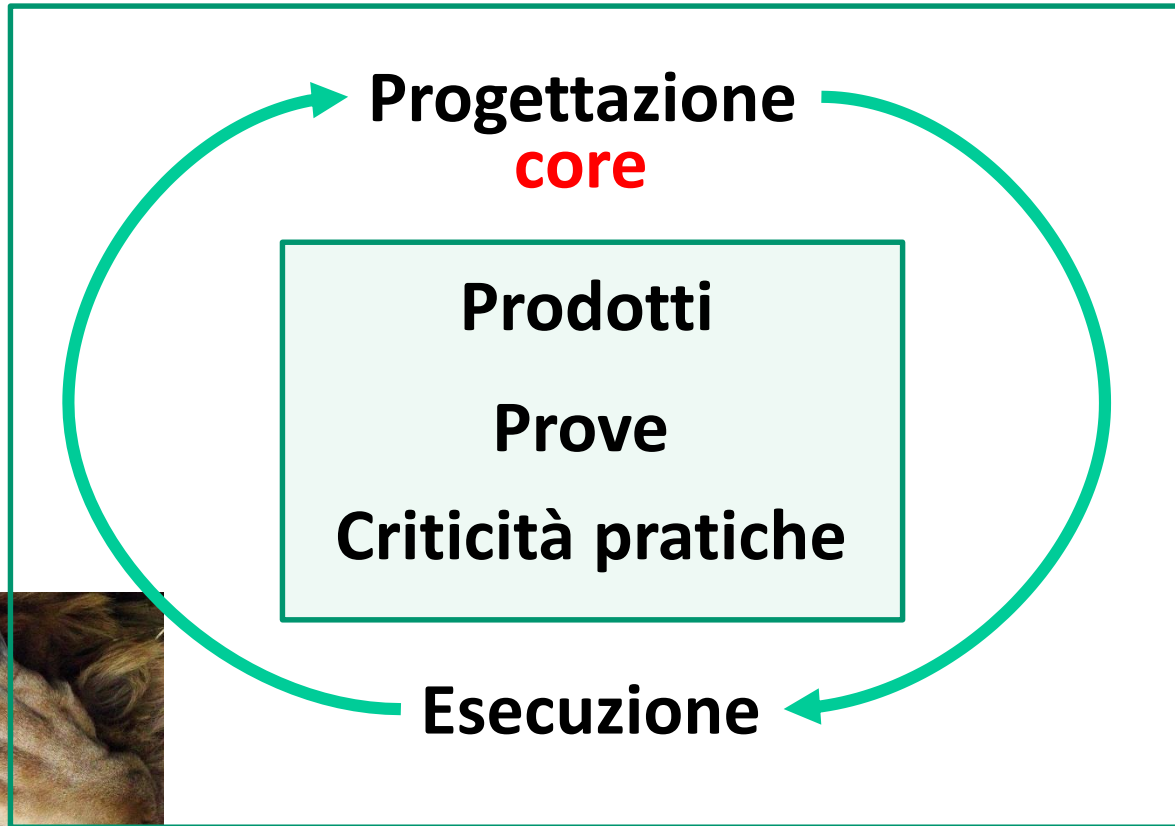
ISO 21807:2004 (Determination of water activity)

Altre norme

Canadian Laboratory Procedure MFLP-63:2006 [measuring water activity (aw)
using the novasina aw center]

Canadian Laboratory Procedure MFLP-63:2006 determination of the pH of foods
including foods in hermetically sealed containers





Risultati ed interpretazione





Challenge test & Shelf-life

Correlazione o reciproca influenza?

Il documento mira a dare indicazioni ai produttori di **alimenti pronti** nell'identificare il rischio da *L. monocytogenes* nei propri alimenti pronti e stabilisce i **principi generali** per definire **quando e che tipo di studi sulla vita commerciale siano necessari**.

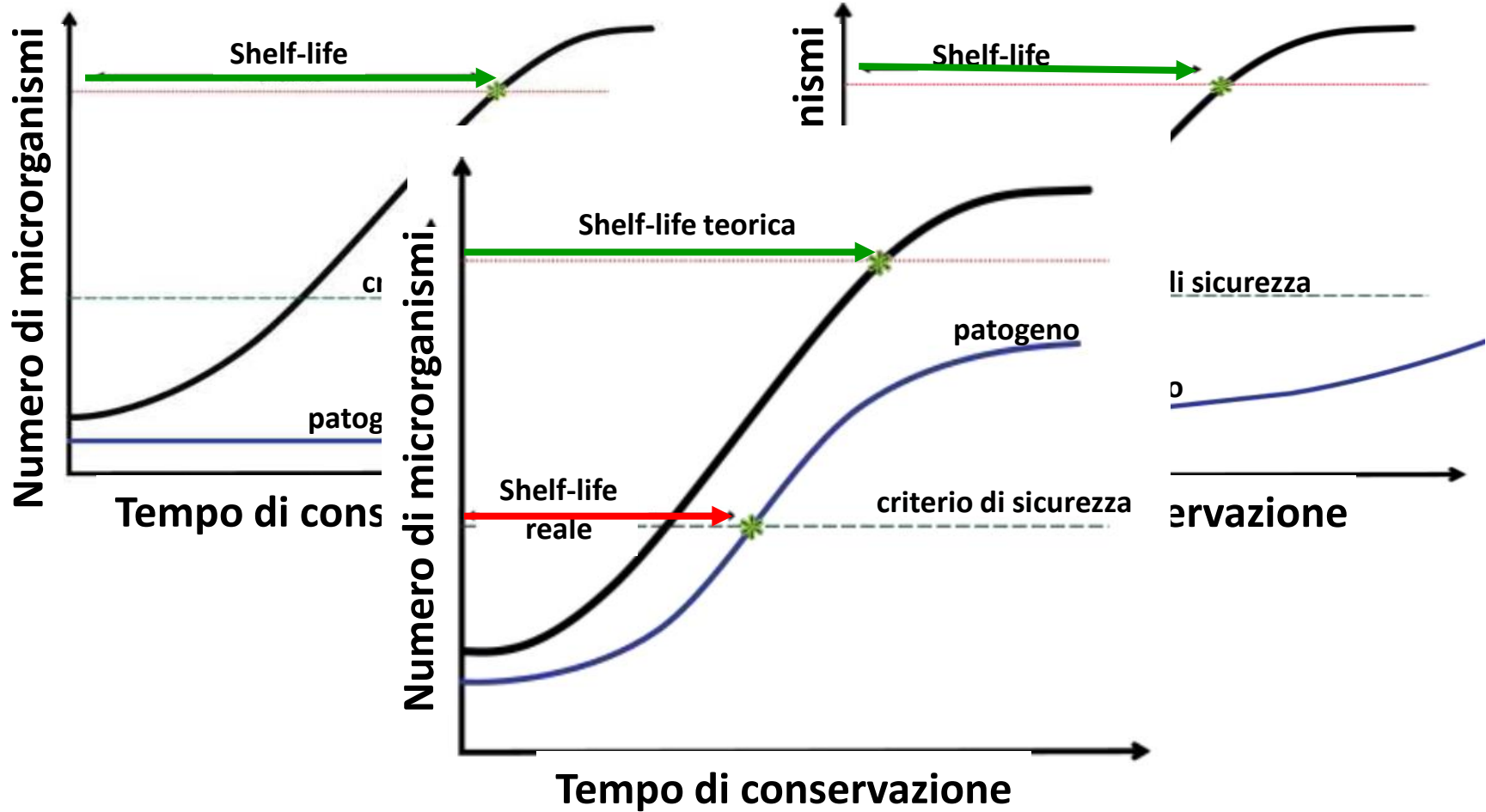
non è destinato ad essere **prescrittivo** nei dettagli tecnici

verificare il rispetto dei criteri **per tutta la conservabilità** della vita commerciale





Challenge test & Shelf-life possibili scenari





La shelf-life (vita commerciale) è definita come il periodo di tempo per il quale un prodotto **resta sicuro e mantiene le sue specifiche qualità** durante lo stoccaggio e l'utilizzo previsto.



FBO - Vita commerciale \leq risultanze sperimentali Shelf-life

- *Food safety*
- *Modificazioni dovute a diversi fattori (intrinseci – estrinseci)*
- **Evoluzione dei parametri chimico fisici?**
- **Crescita microbica? Cambiamenti e interazioni**



Indicatori chimico fisici

- Perossidi
- Azoto volatile
- Amine biogene
- Composti derivanti dalla trasformazione degli zuccheri
- Aldeidi
- Etil acetato
- Alcol
- CO₂
- Acidi grassi
- Sostanze volatili
- Acidi totali
- Acidi volatili

pH – attività dell'acqua





Challenge su prodotto o Prodotto rappresentativo di più prodotti o categorie

Prodotti alimentari
assimilabili per
caratteristiche chimico-
fisiche, tecnologiche e
microbiologiche

| Categoria | Classe di rischio | Classe di rischio Combinata RASFF |
|----------------------------------|-------------------|-----------------------------------|
| Carne (no pollame) | Alto | Alto |
| Pollame | Alto | Alto |
| Prodotti della pesca | Alto | Alto |
| Piatti pronti e preparati | Medio | Medio |



Parametro critico

| | |
|-------------------|-------------------------|
| indicatore | Bacillus cereus (1,9gg) |
| Referenza critica | Crocchette di patate |

Prodotti

Olive ripiene fritte - Crocchette di patate –
Arancini di riso - Polpette

fonte: FIT Italia

ANSES version 2014

Chapter 3: If the challenge test is related to a range of products, only the product which is expected to give the **worse-case scenario** for *L. monocytogenes* growth is tested. This product is selected by the FBO, possibly with the help of the laboratory.



| Composizione chimica | Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione | | United States Department of Agriculture Agricultural Research Service | | Danish Food Composition | |
|------------------------------------|--|-----------------|---|----------------|-------------------------|----------------|
| | Fresco | Affumicato | Raw | Smoked | Salmon, raw | Salmon, smoked |
| | valore per 100g | valore per 100g | Value per 100g | Value per 100g | | |
| Parte edibile (%): | 65 | 100 | | | | |
| Acqua (g): | 68 | 64.9 | 71.64 | 72.00 | | |
| Proteine (g): | 18.4 | 25.4 | 19.93 | 18.28 | 19,9 | 21,4 |
| Lipidi(g): | 12 | 4.5 | 10.43 | 4.32 | 10,9 | 8,4 |
| Fatty acids, total saturated | | | 3.100 | 0.929 | 2,4 | 1,6 |
| Fatty acids, total monounsaturated | | | 4.399 | 2.023 | 3,6 | 2,7 |
| Fatty acids, total polyunsaturated | | | 2.799 | 0.995 | 3,7 | 3,4 |

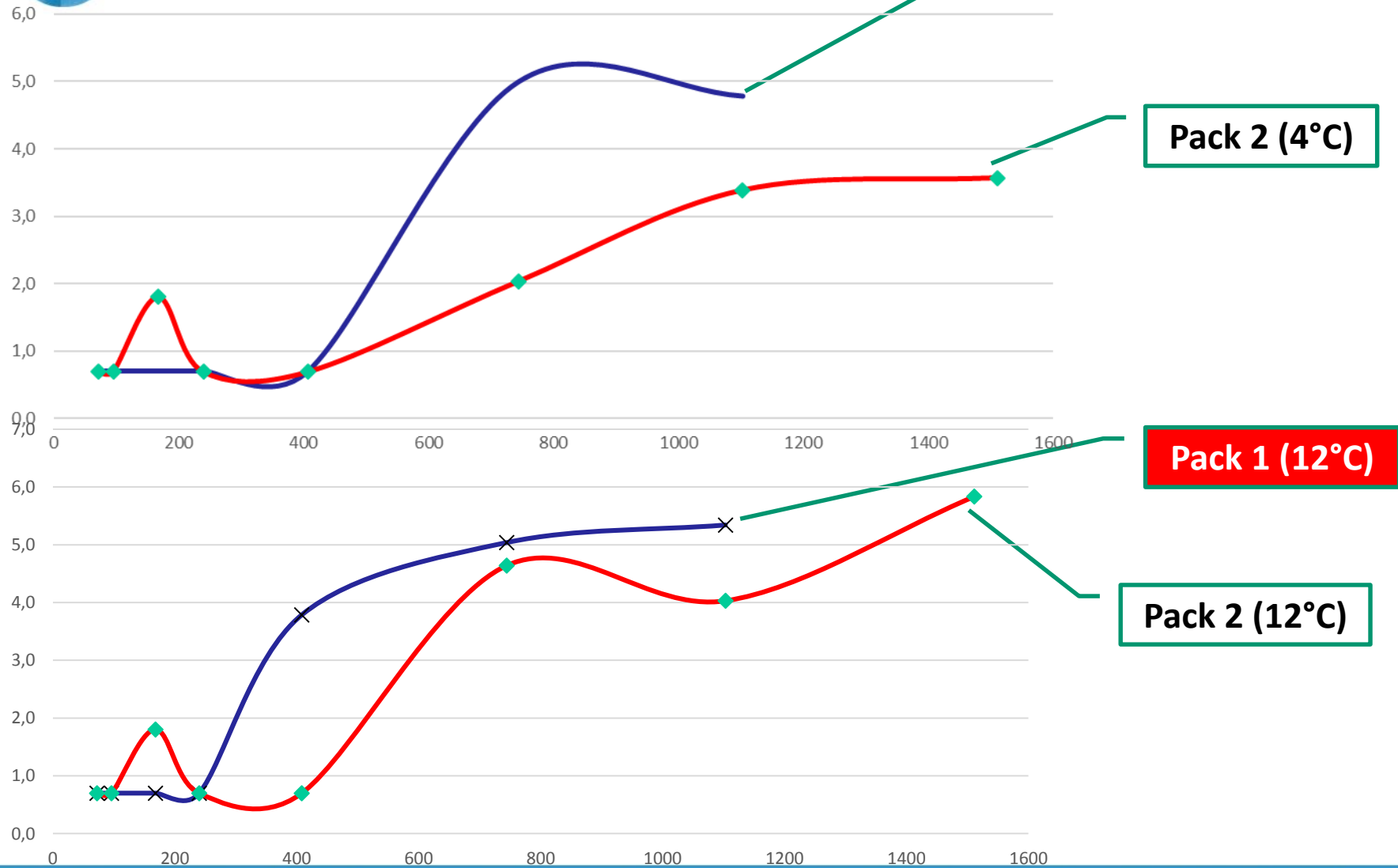
Packaging

| Caratteristiche | Unità | Valore nominale Pack 1 | Valore nominale Pack 2 |
|---------------------|--|------------------------|------------------------|
| Spessore | μm | 80 | 85 |
| Permeabilità | | | |
| Ossigeno (23°C) | cm ³ /m ² /bar/24h | < 60 | 40 |
| Vapor acqueo | g/m ² 24h | <4 | 7 |

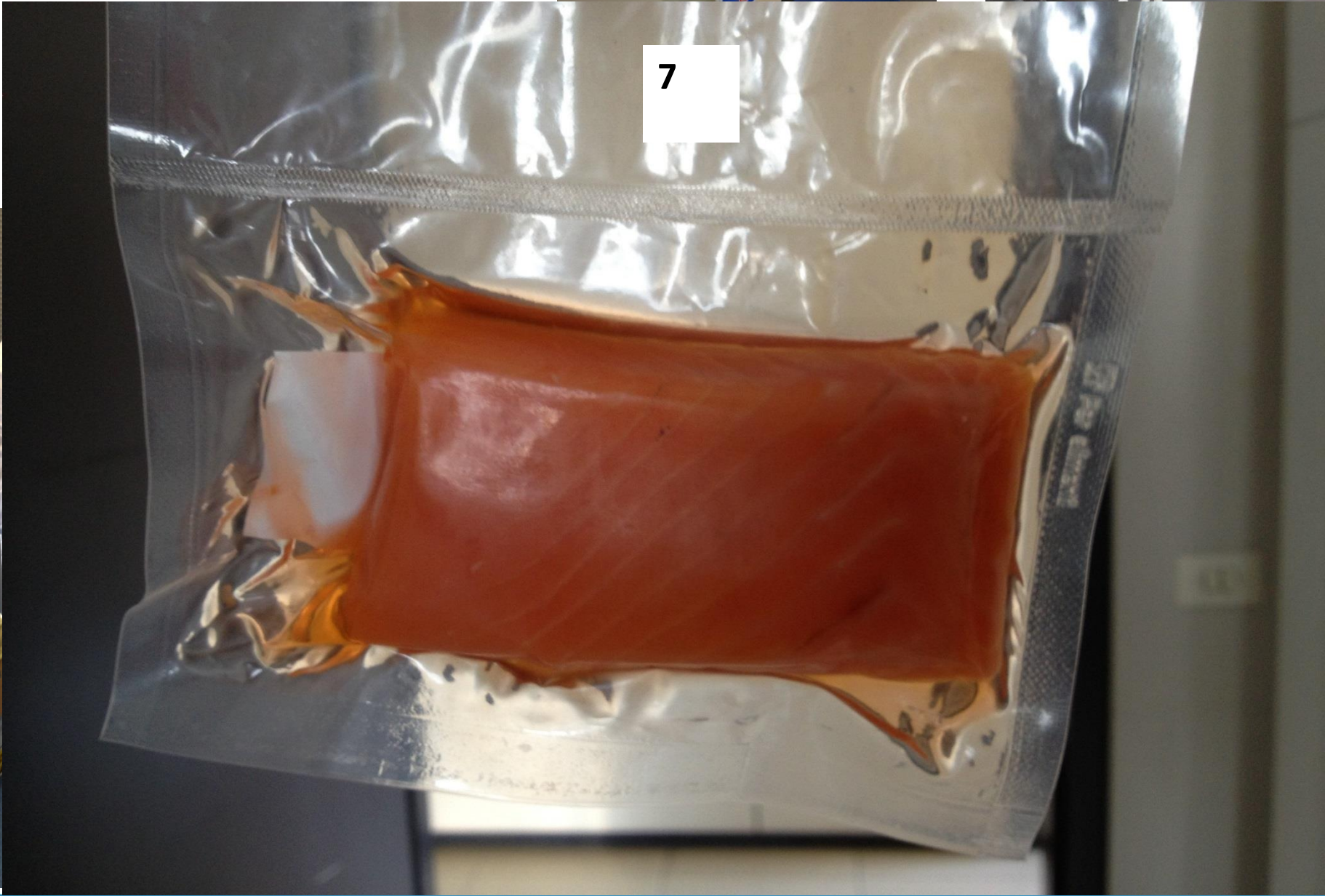


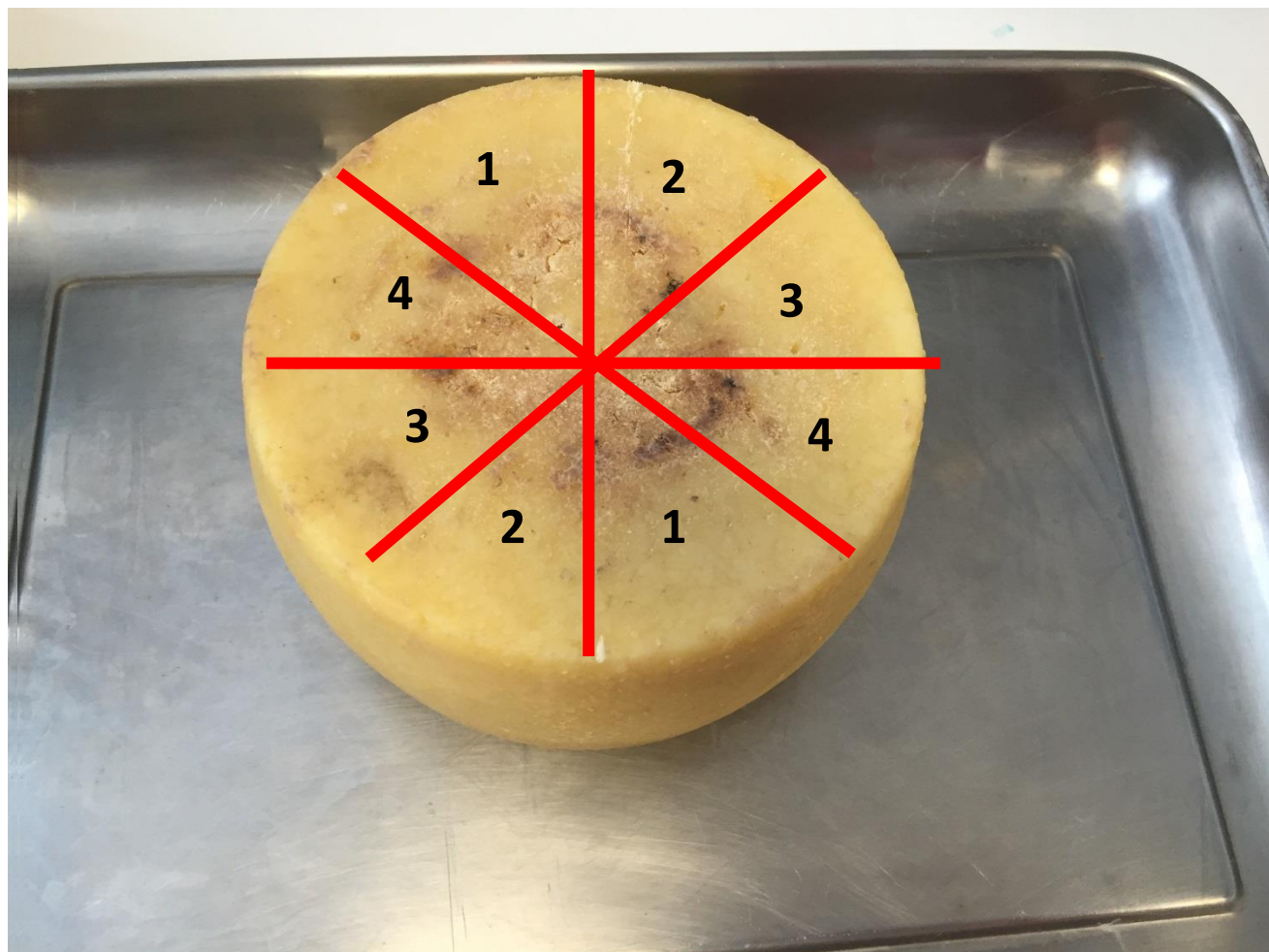


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



7





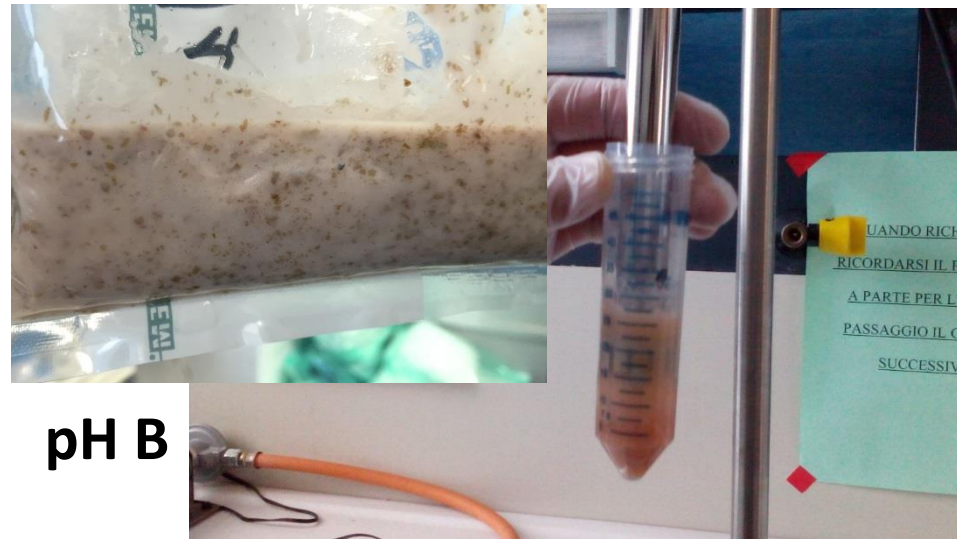
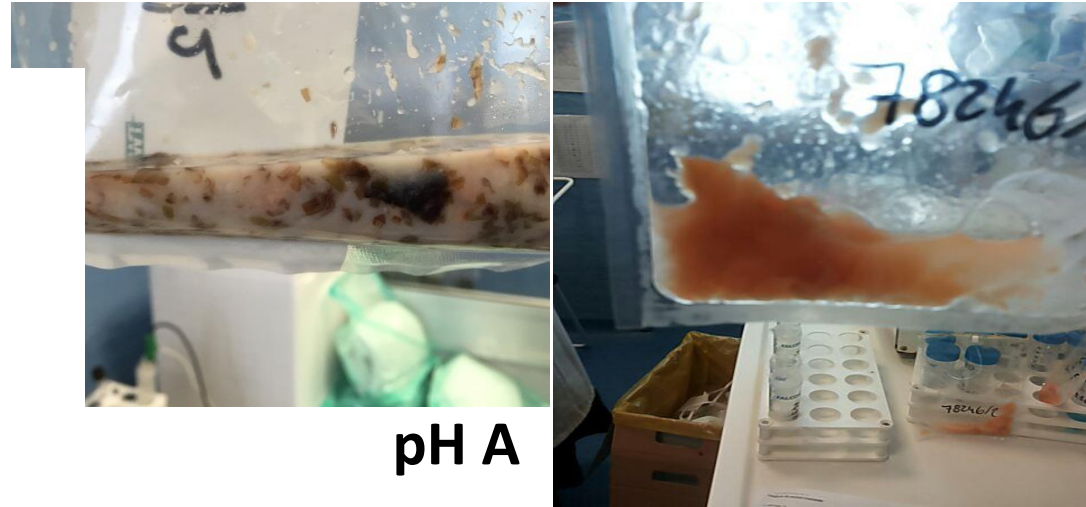
| | pH A | |
|---|------|------|
| 1 | 5.17 | 5.17 |
| | 5.16 | |
| 2 | 4.85 | 4.85 |
| | 4.84 | |
| 3 | 4.92 | 4.91 |
| | 4.89 | |

4.97

pH ≤ 5,0 e $aw \leq 0,94$,

Aumento della T ? 40°C?

- **Influenza su conservanti**
- **Modifiche dei lipidi**
- **Modifiche delle proteine**



| | a_w A | attività dell'acqua |
|---|---------|---------------------|
| 1 | 0.986 | 0.986 |
| 2 | 0.983 | 0.983 |
| 3 | 0.985 | 0.985 |
| | 0.985 | |

| | a_w B | |
|---|-------------------------|-------|
| 1 | 0.984 0.985 0.986 | 0.985 |
| 2 | 0.985 0.985 0.986 | 0.985 |
| 3 | 0.985 0.985 0.984 | 0.985 |
| | 0.985 | |

Calculator interbatch variabilityv2_protected.xls

The inter batch variability of pH and a_w has a **significant impact** regarding the growth of Lm in the tested condition 4°C e 8°C

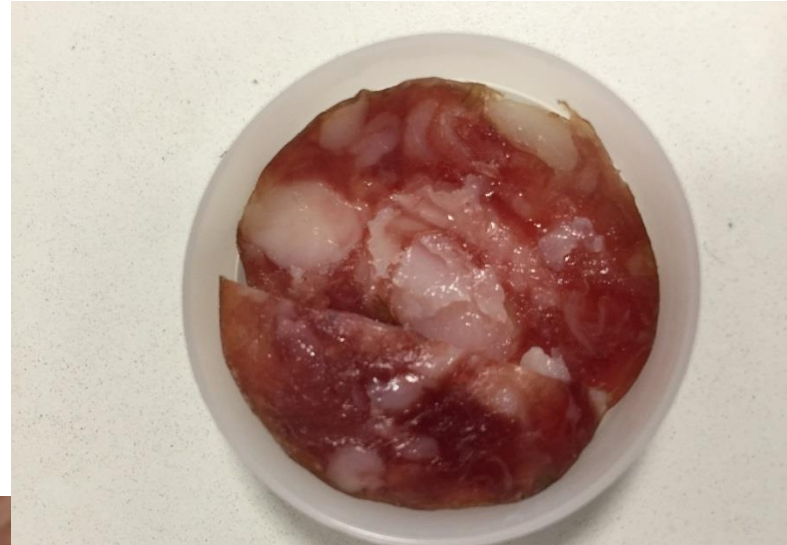
*The inter batch variability of pH and a_w has can be considered **neglibile** regarding the growth of Lm in the tested condition*

12°C





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Prosciutto crudo + Coppa + Salame

% - peso – magro + grasso

Numero di misurazioni

Prosciutto crudo

Coppa

Salame

magro + grasso

Numero di misurazioni

Media dei 3 o nx3 valori

1) 0,970

2) 0,979

3) 0,972

4) 0,976

5) 0,964





Inter-batch variability – Physico-chemical characteristic of the products related to *L.m* growth

| Cardinal values | pH_{min} | pH_{opt} | a_{wmin} | a_{wopt} | T_{min} (° C) | T_{opt} (° C) |
|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------------|------------------------------|
| L. monocytogenes | 4.4 | 7.0 | 0.92 | 0.99 | -2 | 30 - 37 |
| Salmonella | 3.8 | 7-7.5 | 0.94 | 0.99 | 5 | 35 - 37 |
| Staph. aureus | 4 | 6-7 | 0.83 | 0.99 | 6 | 35 - 41 |

Salmonella

T_{min} = -0.4°C, T_{opt} = 37°C

pH_{min} = 3.8, pH_{opt} = 7-7,5

aw_{min} = 0.945, aw_{opt} = 0.99

| calculator | X_{min} | X_{opt} |
|-------------------|------------------------|------------------------|
| Temperature | -2,00 | 37,00 |
| pH | 4.4 | 7.00 |
| a _w | 0.92 | 0.99 |



Vibrio p.

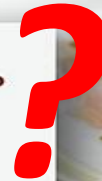
T_{min} = -0.4°C, T_{opt} = 37°C

pH_{min} = 4.8, pH_{opt} = 7,8-8,6

aw_{min} = 0.94, aw_{opt} = 0.981

CERNIA AFFUMICATA
aromatizzata con rametti di mirto
conf 100 g

Data di scadenza: 50 gg
Da conservare: 0°C - 3°C



La cernia vive nelle acque profonde e chiare ed è affumicata con legno di mirto che gli risce un sapore unico





Bacillus cereus Batteri lattici *Brochothrix thermosphacta*

Campylobacter Clostridi solfito riduttori Coliformi

Enterobacter sakazakii Enterobatteriaceae *Escherichia coli* *Escherichia coli* O: 157

Escherichia coli STEC

Lieviti *Listeria monocytogenes/innocua*

Microrganismi totali a 30 °C Microrganismi psicrotrofi Muffe

Pseudomonads

Salmonella spp *Shigella* *Staphylococcus aureus* e altre specie

Vibrio spp. e *Vibrio cholerae* *Yersinia enterocolitica*

Photobacterium phosphoreum

Shewanella putrefaciens

Microrganismi alofili





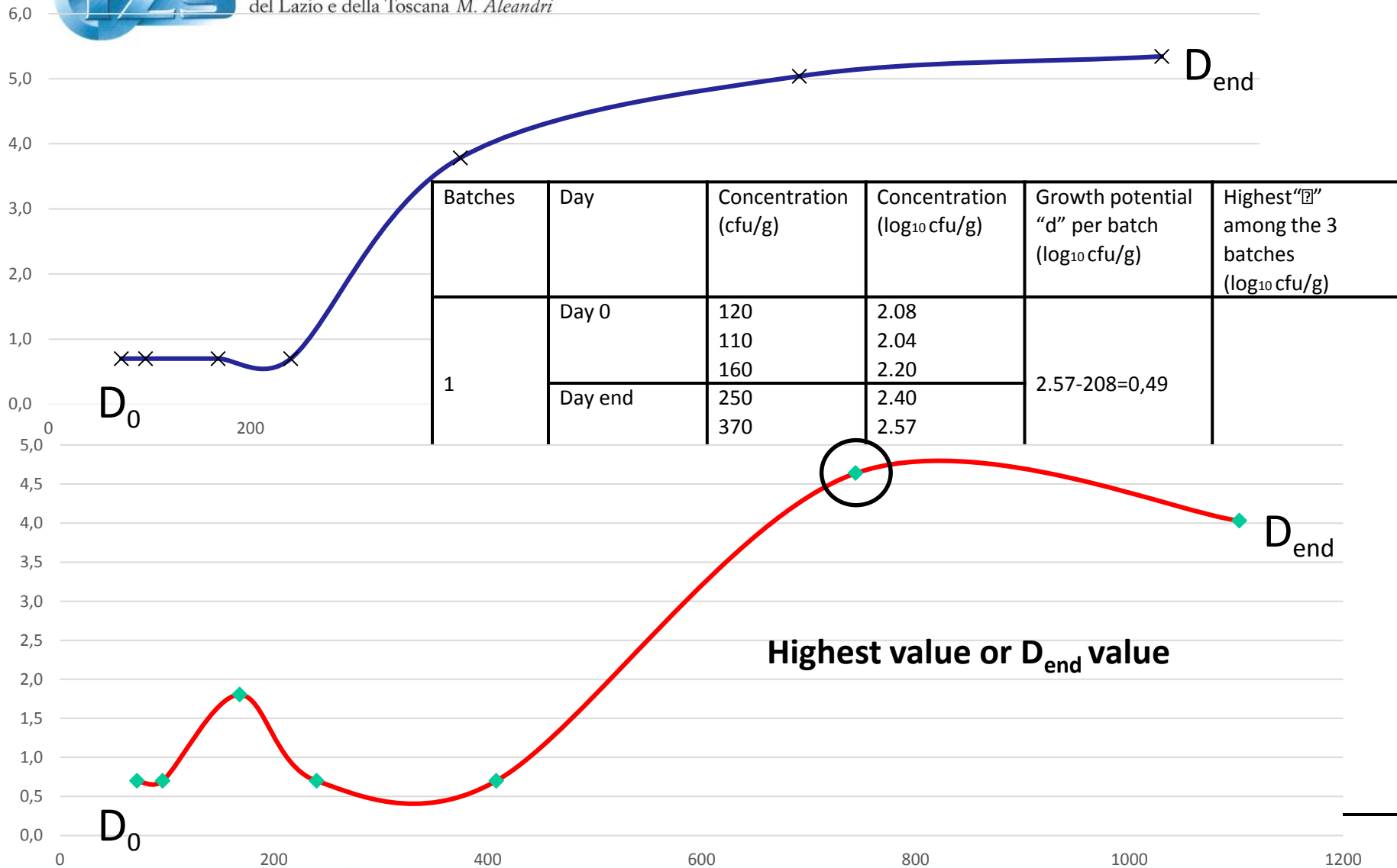
Table 3: Flow diagram of storage (incubation) conditions

* Temperature justified by detailed information* 8°C - 12°C





Calculation of growth potential





Interpretazione dei risultati

Modelli predittivi

Report e valutazioni A.C





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

Buon Natale a tutti voi

gruppo PRC 012 e gruppo ristretto

gruppo pecorini

staff DO Alimenti



luigi.lanni@izslt.it

