IZSAM G.CAPORALE
TERAMO

Area tematica: Sicurezza alimentare

«Valutazione del comportamento di microrganismi patogeni nella ventricina teramana»

Gabriella Centorotola

Teramo, 9 giugno 2015

Unità operativa

RESPONSABILI SCIENTIFICI DEL PROGETTO:
DOTT. G. MIGLIORATI, DOTT.SSA V. PRENCIPE

COLLABORATORI:
DOTT.SSA A. SPERANDII (REFERENTE)
DOTT.SSA G. CENTOROTOLA (TECNOLOGO ALIMENTARE)
DOTT.SSA D. NERI (MEDICO VETERINARIO)
DOTT.SSA P. TUCCI (TECNOLOGO ALIMENTARE)

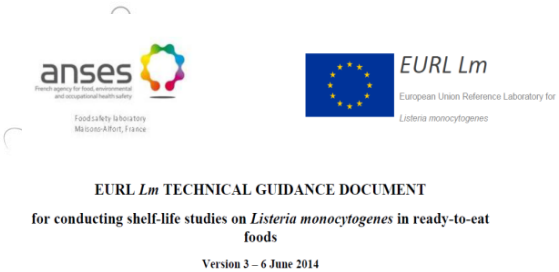
Obiettivo

- ✓ **Lo studio è finalizzato all'acquisizione di dati sulla <u>sicurezza del prodotto</u> rispetto a *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli* O:157.**

La normativa alimentare dell'Unione europea (Reg. 2073/2005) prevede l'impego di *challenge test* che hanno lo scopo di fornire informazioni sul comportamento, in determinate condizioni di conservazione, dei patogeni inoculati artificialmente in un alimento.

Le sperimentazioni sono state effettuate presso <u>Laboratorio Trasformazioni Sperimentali</u> dell'IZSAM "Giuseppe Caporale" di Teramo.

Introduzione



- ✓ **Qualità dei risultati:**
  - ❑ Monitoraggio apparecchiature.
  - ❑ Impiego di metodi di prova validati e internazionalmente riconosciuti (ISO, Lm EURL).

- ✓ **Sicurezza:**
  - ❑ Struttura (bioBubble).
  - ❑ Piani di autocontrollo.

Fasi

Studio del prodotto: Ventricina teramana

- alimento a base di carne di suino cruda tritata;
- 30-40% ritagli di carne;
- 60-70% grasso di pancetta;
- aromatizzanti: aglio, arancia in bucce, peperoncino piccante, rosmarino, pepe nero e sale;
- confezionamento in vasetti di vetro o stomaco di suino.

Fasi

Processo produttivo:

1. macinazione delle parti di magro e della pancetta;
2. aggiunta di aromi;
3. miscelazione e impastamento;
4. confezionamento;
5. maturazione di circa 3 mesi in ambiente fresco e umido (cella frigorifera a 10°C).

Fasi

Preparazione dell'inoculo

- Per ogni patogeno sono stati utilizzati due ceppi: **un ATCC e un ceppo di campo** proveniente dalla stessa o simile matrice (secondo quanto previsto dalle linee guida Lm EURL).
- I ceppi sono stati **adattati** alla **temperatura** (10°C), alle caratteristiche della **matrice** (% sale, pH) e portati in fase stazionaria (fase lag).
- Le mix dei due ceppi per ciascuno dei patogeni è stata diluita per ottenere nell'impasto una concentrazione di 10^5 ufc/g (massimi livelli ritrovati nelle carni).

Fasi

Preparazione unità campionarie:

L'impasto (24 kg), già addizionato di spezie e aromi, è stato suddiviso in 4 aliquote di 6 kg ciascuna.

Ogni aliquota è stata contaminata rispettivamente con:

1. *Listeria monocytogenes* (LOTTO I)
2. *Salmonella typhimurium* (LOTTO II)
3. *Escherichia coli* O:157 (LOTTO III)
4. Soluzione fisiologica sterile (Controllo) (LOTTO IV)

Modalità di inoculo:

Distribuzione in maniera uniforme della mix d'inoculo mediante impastamento meccanico. Il quantitativo totale è stato < all'1% del peso di ogni aliquota.

Fasi

Piano di campionamento:

Il calendario dei prelievi (per i campioni di controllo e per i contaminati stoccati a 10°C) ha seguito il seguente piano:

TEMPO (giorni)	T0	T7	T14	T21	T28	T42	T56	T70	T84	T98	T112	T126	T140	T154	T168	T182	T196
	20/11/14	27/11/14	04/12/14	11/12/14	18/12/14	02/01/15	15/01/15	29/01/15	12/02/15	26/02/15	12/03/15	26/03/15	09/04/15	23/04/15	07/05/15	21/05/15	04/06/15

- ✓ Piano in funzione della *shelf-life* (120 giorni + 1/3).
- ✓ Prelievi settimanali (fino a 28 giorni) e successivamente effettuati con cadenza quindicinale.
- ✓ Campioni di controllo e contaminati analizzati contemporaneamente.

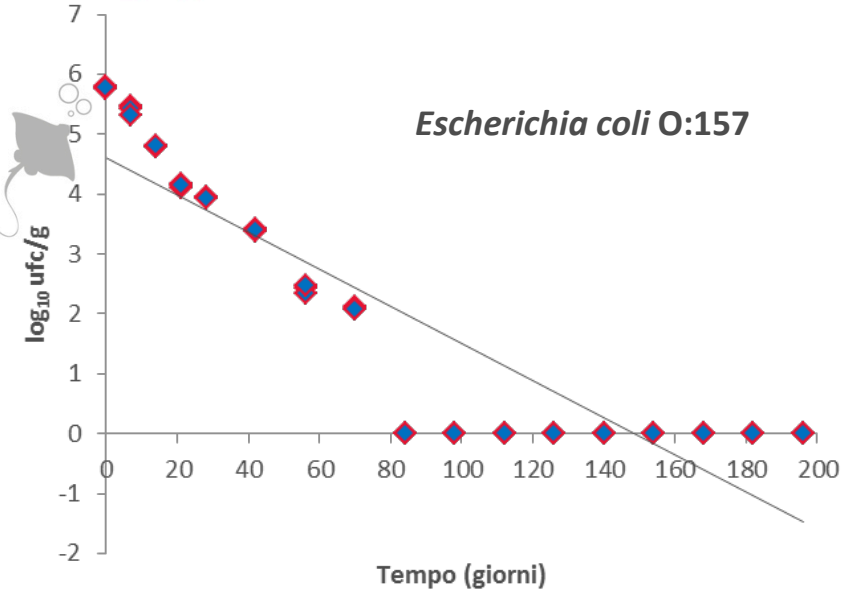
Fasi

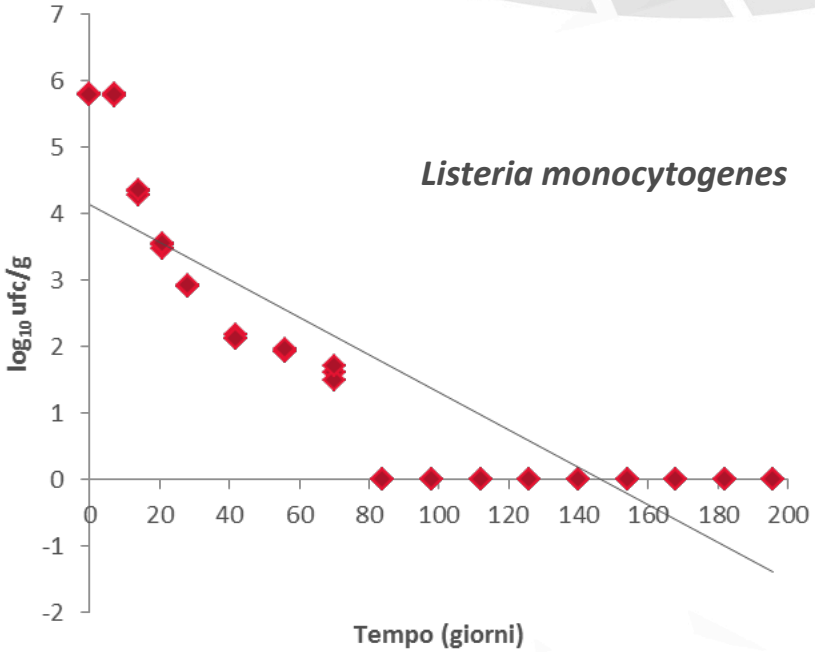
Determinazioni analitiche:

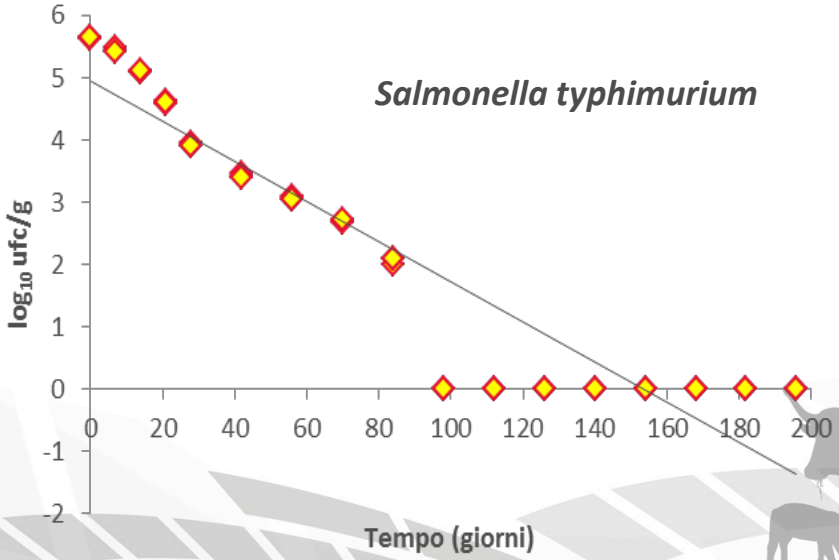
- ✓ La presenza naturale dei patogeni è stata valutata al T0.
- ✓ Sono state eseguite in triplicato (su tre unità campionarie).

CAMPIONI	METODI ANALITICI
Controlli	Numerazione carica batterica mesofila ISO4833:2003; Numerazione Stafilococchi coagulasi positivi ISO6888-2:1999; Numerazione lieviti e muffe ISO 21527-1:2008; Numerazione *Enterobacteriaceae* ISO21528-2:2004; Numerazione Lattobacilli ISO15214:1998; Numerazione Micrococchi ISO 6888-1:1999; Numerazione Enterococchi NO 68 4th Ed. 2004-Nord Committee on food analisys; Numerazione Lattococchi Rapporti ISTISAN 08/36 aw ISO 21807:2004 pH Metodo interno
Contaminati ***L. monocytogenes***	Numerazione *L. monocytogenes* ISO11290-2:98/Amendment 1:2004
Contaminati ***S. typhimurium***	Numerazione *Salmonella* spp: metodo interno IZS TE B3.1.2 SOP116
Contaminati ***E. coli* O:157**	Numerazione *E. coli* O:157: metodo interno IZS TE B3.1.2 SOP118

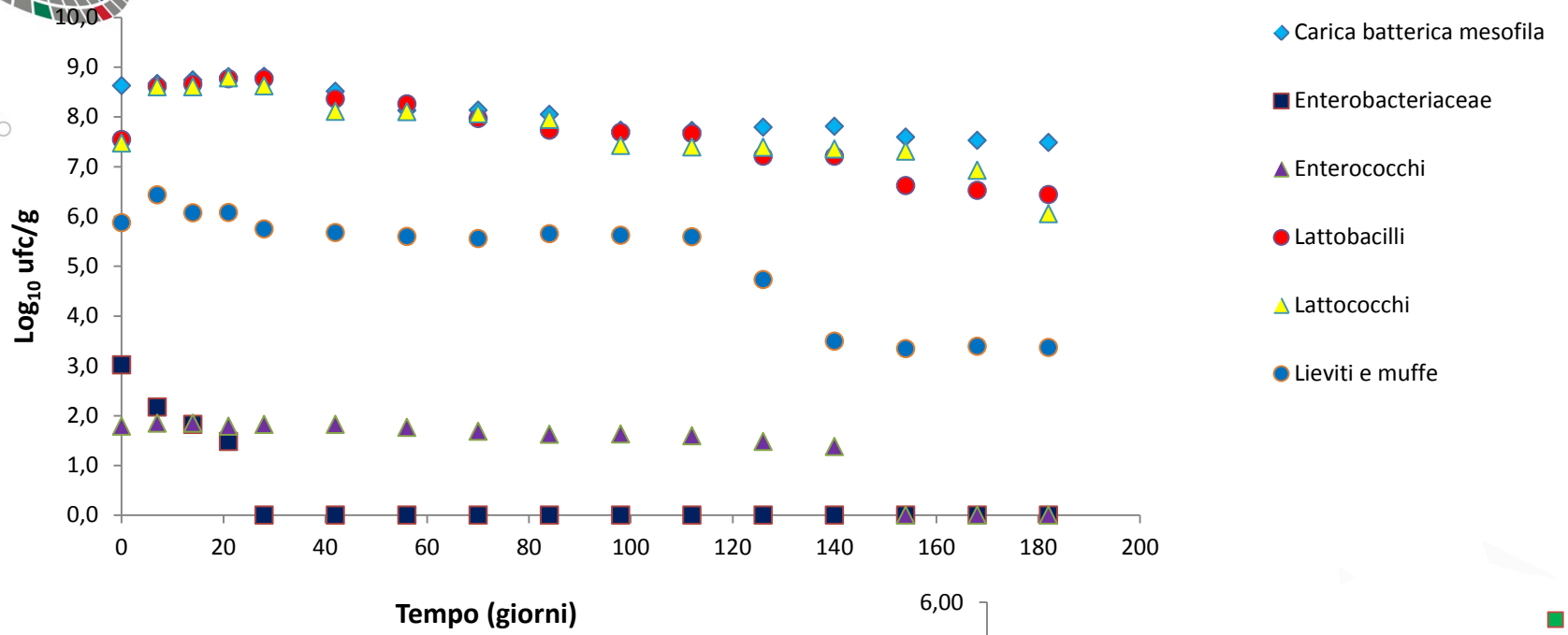
Risultati

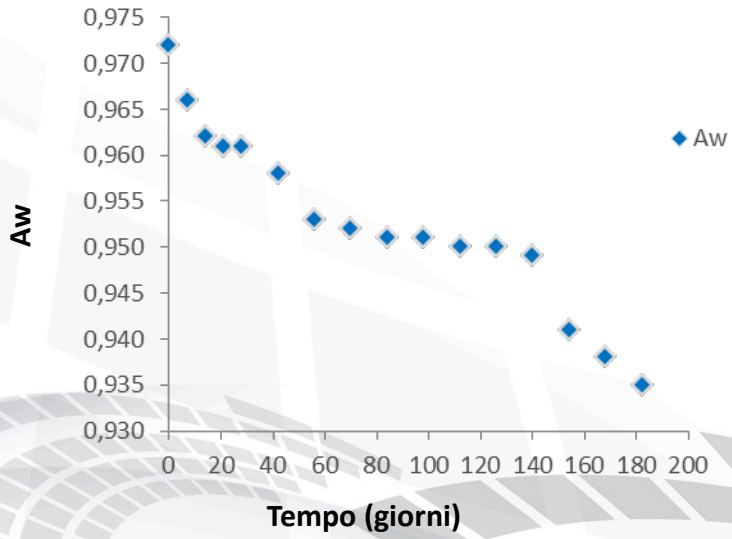

Escherichia coli O:157
log10 ufc/g
Tempo (giorni)

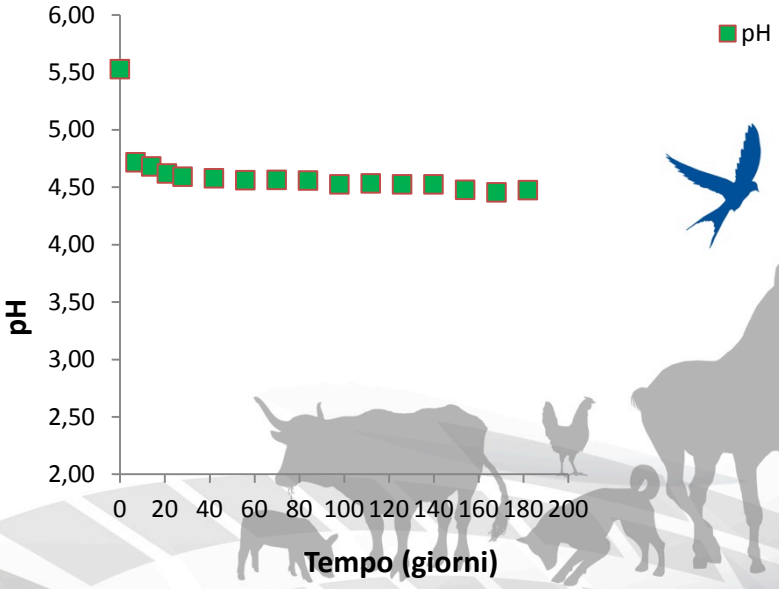

Listeria monocytogenes
log10 ufc/g
Tempo (giorni)


Salmonella typhimurium
log10 ufc/g
Tempo (giorni)

Risultati campioni di controllo

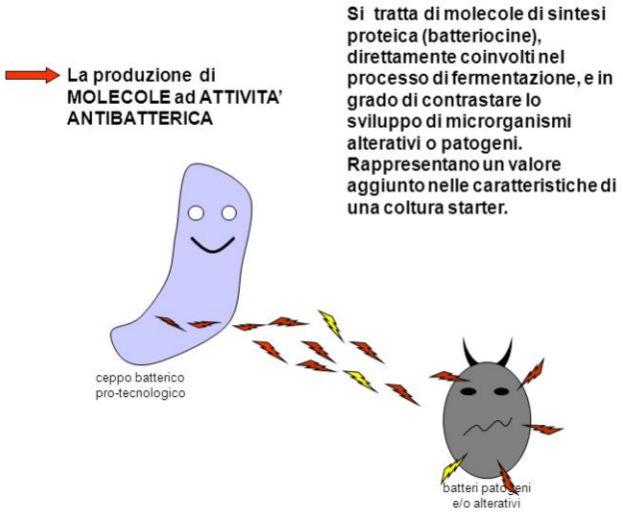






Discussioni

- ✓ Andamento del pH (acidificazione) e dell'a_w nel tempo.
- ✓ Possibile ruolo antimicrobico dei componenti (sale, aromi, grassi).
- ✓ Attività della flora lattica autoctona (Lattobacilli) con concentrazione massima di 8,8 log_{10} ufc/g rilevata al giorno 21.



Discussioni

Potenziale di crescita (δ)

Il Reg. 2073/2005 classifica i prodotti alimentari con $\delta < 0,5 \log_{10}$ ufc/g come «alimenti pronti che non costituiscono terreno favorevole alla crescita di *L. monocytogenes*».

Calcolato come la differenza tra le concentrazioni batteriche *L. monocytogenes* all'inizio (giorno 0) e a fine sperimentazione (190 giorni), per la ventricina teramana è stato $\delta < 0,5 \log_{10}$ ufc/g.

Per gli altri patogeni oggetto del presente studio, si è raggiunto l'azzeramento del $\log_{10}$ ufc/g nel giorno 84 per *E. coli* O:157 e nel giorno 98 per *S. typhimurium.*

Conclusioni

L'analisi dei dati permetterà, attraverso l'utilizzo di protocolli standard operativi, la creazione di modelli predittivi specifici per questo tipo di prodotto.

Inoltre, serviranno a dimostrare scientificamente i livelli di sicurezza alimentare di queste produzioni tipiche/tradizionali (carenze di dati).

GRAZIE PER L'ATTENZIONE