

"Governano clinico": Gestione rischio Listeria monocytogenes negli impianti RTE

***–
Aggiornamenti alla legislazione USA e Controllo Ufficiale***

Gli step di letalità nel processo di produzione del prosciutto tipico Italiano

SSICA

Silvana Barbuti
SSICA - PARMA

Langhirano 10 Aprile 2014



FSIS - USDA

Materia prima

Prodotto stabile

Prodotto finito
Pronto per la spedizione

9 CFR 301, 303 et al. 2001
Performance Standards for the
Production of Certain Meat
and Poultry Products

9 CFR 430 2003
fase post-letale es.
confezionamento, affettamento,

Alternativa 1 - trattamento post-letale e agente/processo antimicrobico (documentata l'efficacia dei trattamenti)

Alternativa 2 - trattamento post-letale o agente/processo antimicrobico (documentata l'efficacia dei trattamenti)

Alternativa 3 - utilizzo di misure di sanificazione

9 CFR 301, 303 et al. 2001

ESEMPI DI PRODOTTI RTE

- Dried Products
- Salt-Cured Products
 - Cappelletti.
 - Coppa.
 - Country Ham.
 - Dry Cured Duck.
 - **Parma Ham.**
 - Prosciutto, Prosciutti.
- Fermented Products
- Cooked or Otherwise Processed Whole or Meat Comminuted Products.
- Thermally processed, commercially sterile products

FSIS esige che i processi produttivi di ciascuno di questi prodotti raggiungano livelli specifici di riduzione degli agenti patogeni, così come garantiscano il controllo della crescita di patogeni bersaglio in modo da non superare i livelli specifici (performance standards).

9 CFR 301, 303 et al. 2001

Performance Standards and HACCP

Nel regolamento 9 CFR 417, FSIS richiede ad ogni produttore di sviluppare ed implementare un sistema HACCP per promuovere una prevenzione sistematica nei confronti dei pericoli biologici, chimici e fisici.

Performance standards possono essere utilmente e opportunamente incorporati nel sistema HACCP

The Proposed Performance Standards

Lethality

Per ogni categoria di prodotti RTE, FSIS propone un “lethality performance standard”.

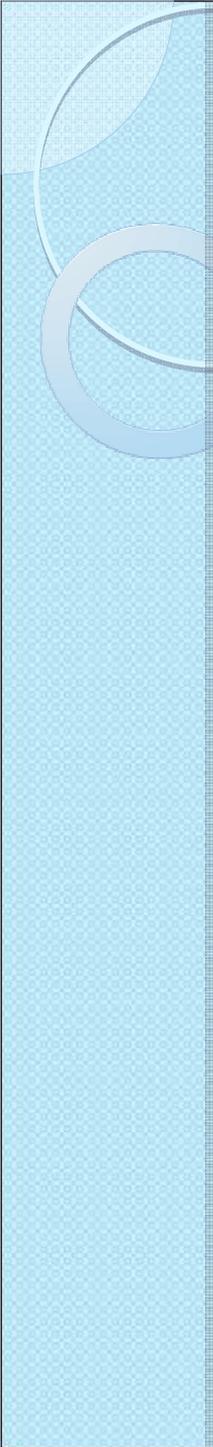
Il termine “lethality” si riferisce alla riduzione richiesta nel numero di specifici microrganismi patogeni.

Inoltre FSIS propone “lethality performance standards” che assicurino la distruzione di microrganismi di “riferimento”, cioè microrganismi la cui eliminazione o riduzione sia garanzia dell'eliminazione o necessaria riduzione di altri agenti patogeni di interesse

Stabilization

Gli standard di stabilizzazione proposti richiedono che gli stabilimenti controllino i loro processi produttivi per prevenire la moltiplicazione di microrganismi sporigeni. La stabilizzazione è tipicamente ottenuta attraverso il raffreddamento di prodotti dopo la cottura.

- ❖ Clostridium botulinum
- ❖ Clostridium perfringens



Lethality treatment

10,240.3 - 12/9/2002 - *Microbial sampling of ready-to-eat (rte) products for the FSIS verification testing program*

Lethality Treatment – For purposes of this directive, lethality treatment refers to the necessary reduction in the number of pathogens to result in a product that is safe for consumption without further cooking or application of another lethality treatment to destroy pathogens.



Trattamento letale

Trattamento letale – Per gli scopi della presente direttiva, il trattamento letale è inteso come la necessaria riduzione del numero di patogeni al fine di ottenere un prodotto sicuro per il consumo senza ulteriore cottura o applicazione di altro trattamento letale per distruggere agenti patogeni.

September 2012

FSIS Salmonella Compliance Guidelines for Small and Very Small Meat and Poultry Establishments that Produce Ready-to-Eat (RTE) Products

E. Dried, Fermented, and Salt-Cured Products

Salt-Cured Products

Overall, research has shown that in order for salt-cured processes to achieve sufficient \log_{10} reductions of the bacterial pathogens of public health concern ($\geq 5 \log_{10}$ of Salmonella, sufficient \log_{10} reduction of Lm, and $\geq 5 \log_{10}$ of E. coli O157:H7 for beef, lamb, and goat RTE products), the drying times should take place over an extended period of time at room temperature or higher, or a low-temperature heat step must be applied after the curing step.

*For example, one study showed that **country style ham** achieved a mean \log_{10} reduction of 5.5, 5.5, and 4.8 CFU/cm³ for Salmonella, E. coli O157:H7, and Lm, respectively, on inoculated hams when dry aged for 20 days at 84.9°F (29°C) (65% relative humidity) and then, at day 69, placed in ambient (68° to 75.2°F (20°C a 24°C)) storage through day 120 (Reynolds et al., 2001).*

Lethality, Stabilization and Multiple Hurdles

9/12/2012



Ready-to-Eat Foods products are defined in 9 CFR 430.1 as meat or poultry products that are in a form that are edible without additional preparation to achieve food safety and may receive additional preparation to achieve palatability.

Two main processes which are critical for achieving safety in RTE products are known as lethality and stabilization.

Not all products, however, will utilize these two steps. For example, fermented dry and semi-dry sausages depend on several control steps used in conjunction with each other, which is the multiple hurdle concept. The different steps establishments may use to achieve product safety will be discussed along with the types of scientific supporting documentation establishments may have to support their decision-making.

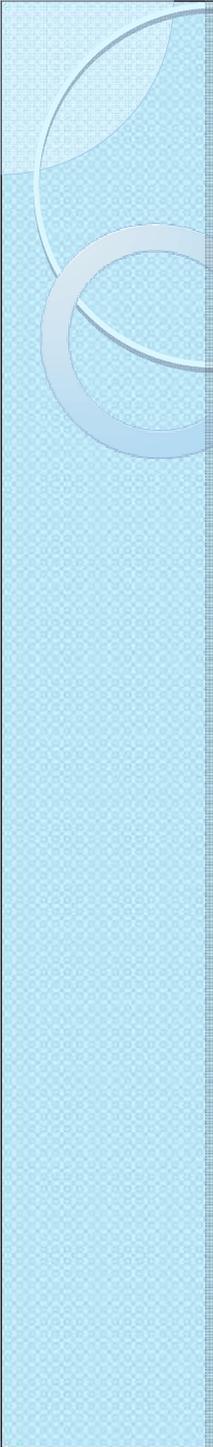


Definizione dei prodotti RTE come riportato nel 9 CFR 430.1

Due processi principali per ottenere prodotti sicuri

Letalità e stabilizzazione

Concetto degli “ostacoli multipli”



Multiple Hurdles – Ostacoli Multipli

CONCETTO DI “OSTACOLI MULTIPLI”

Le combinazioni di fattori di inibizione che individualmente non sono sufficienti a controllare i microrganismi possono risultare efficaci.

ESEMPLI: impiego di sale e di conservanti, riduzione dell'attività dell'acqua, diminuzione del pH, leggeri trattamenti termici

Le combinazioni di più ostacoli possono portare ad un prodotto stabile e sicuro.

Trattamenti di stress subletali e sequenziali causano nei confronti di microrganismi target la creazione di un ambiente ostile che porta all'esaurimento metabolico e alla morte dei microrganismi di interesse.

Principles of Preservation of Shelf-Stable Dried Meat Products

10/31/11

Per prodotti carnei stagionati la conservazione è principalmente determinata dalla lenta e completa inibizione dell'accrescimento di microrganismi di alterazione, inoltre si osserva l'inattivazione di microrganismi patogeni (E. coli O157:H7).

I fattori che principalmente contribuiscono alla sicurezza/stabilità dei prodotti carnei stagionati sono:

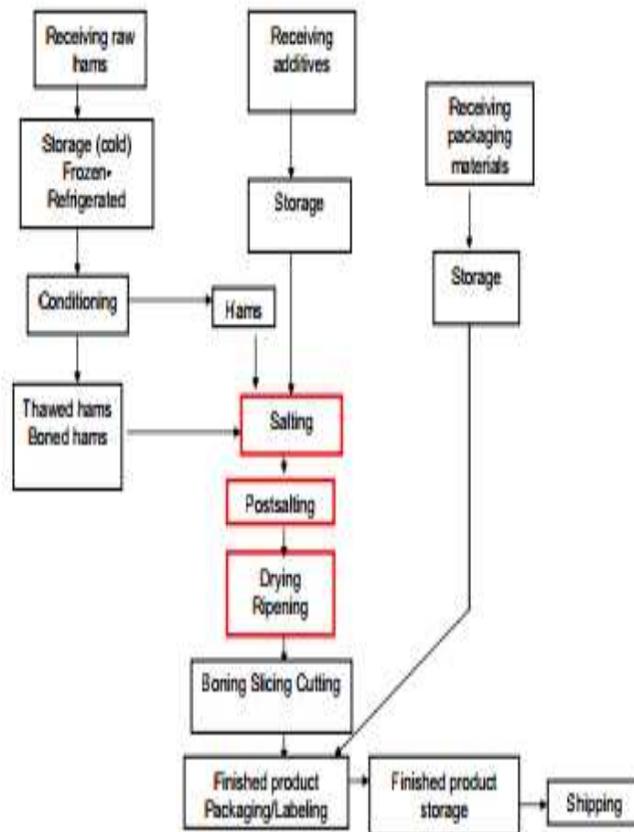
- water activity (a_w)
- pH
- time/temperature/relative humidity
- salt/brine strength
- microflora types

Nei prodotti carnei stagionati **l'attività dell'acqua** rappresenta probabilmente il fattore che maggiormente contribuisce alla stabilità

La tecnologia degli “ostacoli” quando in combinazione con inibitori risulta maggiormente efficace = “effetto sinergico”

Principles of Preservation of Shelf-Stable Dried Meat Products 10/31/11

Critical Stages: Safety in Dry Cured Hams



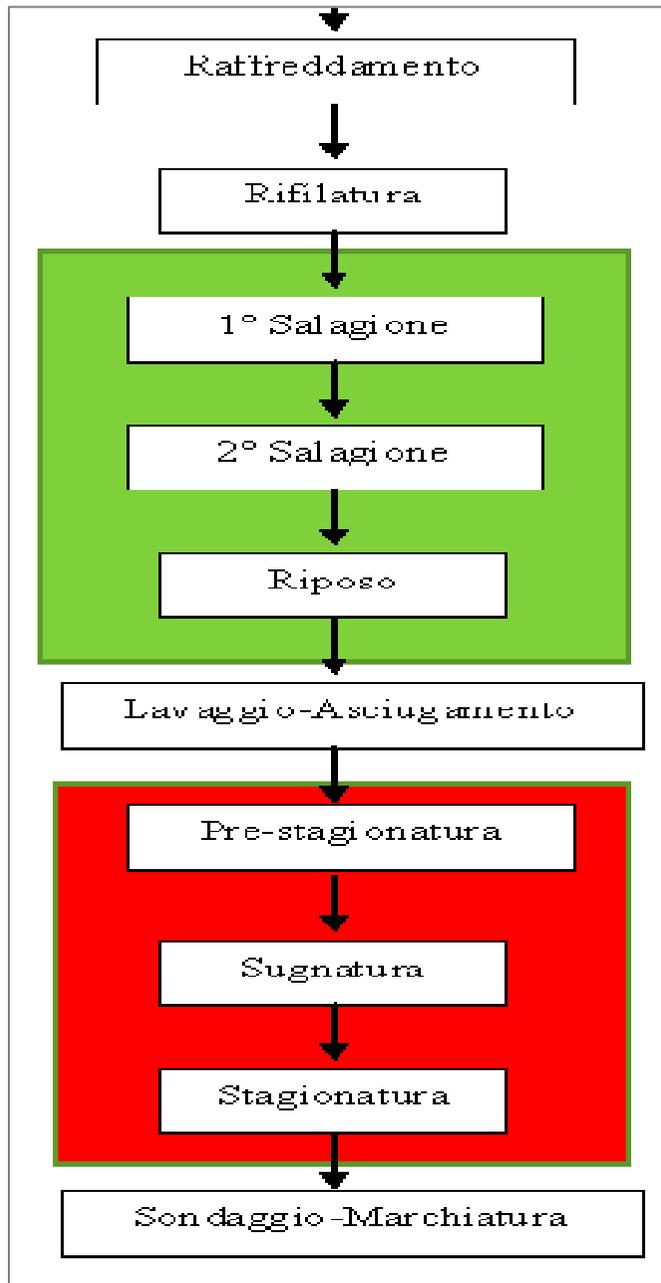
Note: This flow diagram is for teaching purposes only.

Prodotti non fermentati sottoposti a salagione – critico lo step della salagione

Per prodotti essiccati – critico lo step di essicamento

Per prodotti a muscolo intero, stagionati e salati – critico il livello di sale iniziale e l'operazione di applicazione del sale su tutta la superficie di carne esposta in associazione con le basse temperature fino alla distribuzione uniforme del sale all'interno del prodotto.

Fasi di lavorazione prosciutto crudo



Sale e temperature di refrigerazione (1 - 5°C)

Prestagionatura e stagionatura (16 - 19°C)

Principles of Preservation of Shelf-Stable Dried Meat Products

10/31/11

Dried Meat Process Validation

La validazione del processo produttivo, per dimostrare che i pericoli di interesse sono propriamente controllati, deve essere effettuata attraverso la raccolta di informazioni scientifiche ed informazioni tecniche.

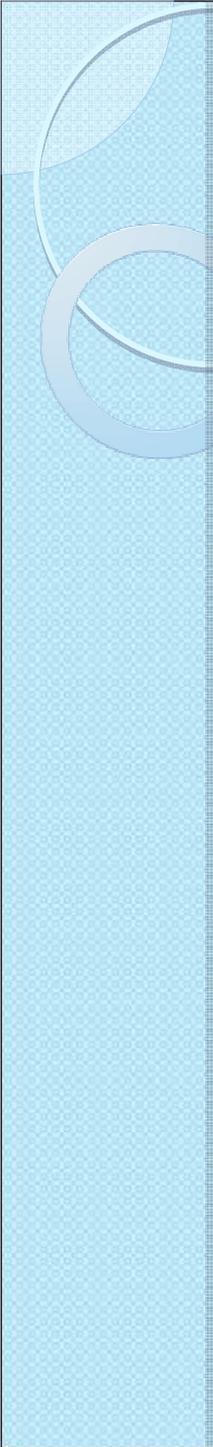
Per la maggior parte dei prodotti stagionati i produttori dovranno considerare patogeni quali *Salmonella*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* ; in caso di prodotti a base di carne bovina *E. coli* O157:H7.

Dovranno anche essere valutati batteri sporigeni quali *C. botulinum* e *C. perfringens*.

Es. Country Ham

A validated process for a typical dried whole muscle product, country ham, processed with salting for 49 days at 40°F (4.4°C), post-salting drying 20 days at 85°F (29.4°C), and dried 129 days at 68-75.2°F (20-24°C) results in a final product with the following characteristics.

- salt 8.0%
- pH 5.5 (5.0-6.0 during process)
- aw 0.92



Validazione di processo

Codex Alimentarius 2008

I processi possono essere validati attraverso l'uso di differenti approcci che comprendono:

- L'uso dei modelli predittivi
- La letteratura scientifica
- Studi di Microbial challenge test

Non tutti questi approcci devono essere utilizzati ma spesso alcuni approcci possono essere combinati per fornire sufficienti evidenze.

Studi di validazione (9CFR 417.4) di processi produttivi

Lista di microrganismi potenzialmente patogeni correlabili con il prodotto

Presenza dei microrganismi nella materia prima

Effetti dei processi produttivi sulla sicurezza del prodotto finito

Modelli di microbiologia predittiva

Microbial challenge test



Listeria nel prosciutto crudo

- Contaminazione superficiale
- Basso livello di rilevamento
- Esclusa la possibile crescita durante il processo produttivo
- Ricontaminazione attraverso l'ambiente di lavorazione



Prencipe et al., Food Control 25 (2012) ,150

- *These results were confirmed by PFGE, which did not support the hypothesis that transfer of contamination could have taken place throughout the processing chain*
- *Therefore, our results seem to indicate that cross-contamination between live animals and carcasses and between carcasses and fresh hams does not significantly affect the production of Parma ham.*
- *The processing environment appears to be the main source of L. monocytogenes contaminations in Parma ham processing*

Microbiologia predittiva

Predictive Models

ComBase Modelling Toolbox - The ComBase Predictive Models are a collection of software tools based on ComBase data to predict the growth or inactivation of microorganisms.



ComBase Predictor comprende un insieme di modelli per predire la risposta dei più importanti microrganismi patogeni o di alterazione ai fattori ambientali, inclusi temperatura, pH e concentrazione salina (a_w).

[Access Growth Model](#)

[Access Thermal Inactivation Model](#)

[Access Non-thermal Survival Model](#)

Listeria monocytogenes

Condizioni ottimali per l'accrescimento

Fattori	Valori ottimali
Temperatura	37
pH	7,0
Attività dell'acqua (a_w)	Max 10% di NaCl

Valori di predizione di temperatura, pH e a_w come da stima ComBase .

Fattori	Growth Model	Non Thermal Survival Model
Temperatura	1	0
pH	4,4	3,5
Attività dell'acqua (a_w)	0,92	0,793

Dati registrati durante il processo produttivo

Fasi di lavorazione	Prelievi superficiali°			Parametri tecnologici	
	A_w	NaCl %	Umidità %	Giorni	T°C
Fine sale	0,885*			25	5
Fine riposo	0,906	4	38,5	65 - 100	5
Lavaggio					
Asciugamento	0,884	3,74	34,7	5 - 7	16 - 23
Prestagionatura	0,874	3,13	29,8	90	16
Sugnatura					
Stagionatura 1	0,909	3,38	36,1	150	17
Stagionatura 2	0,911	3,34	40,7		17 - 18

* dati non pubblicati

° I dati sono stati estrapolati da:

N. Simoncini et al. / Food Microbiology 24 (2007) 577-584

Langhirano 10 Aprile 2014

Fasi “fredde” salagione e riposo

Non Thermal Survival Model [Static]

[Add prediction]

Prediction

Listeria monocytogenes/innocua [NaCl | Aw]

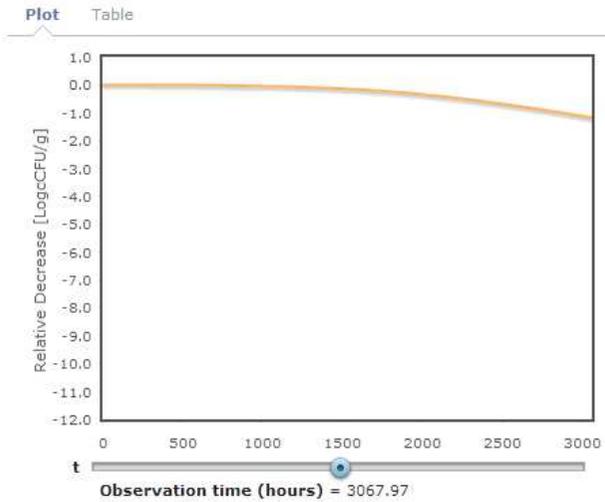
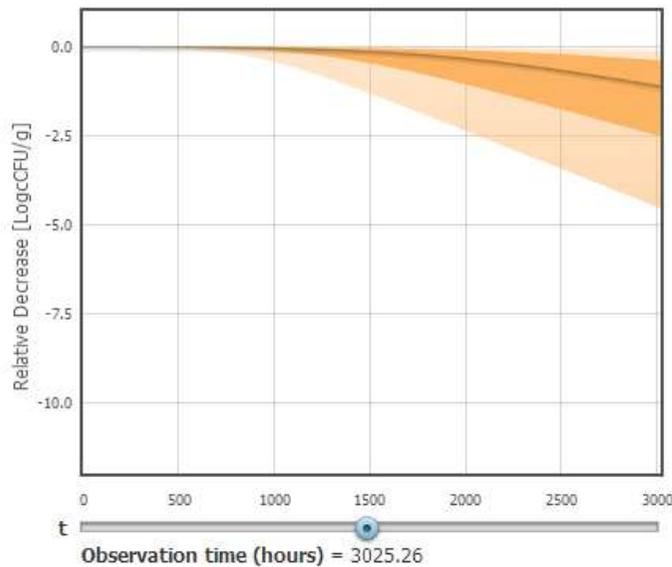
Phys.state: 0,012277 0 1

T (°C): 5 0 20

pH: 6 3.5 7

Aw: 0.91 0.793 0.960

Max.rate **-0.001** (log.conc/h) D-value **1239.261** (Hours)



D- value	
ore	giorni
1239.261	51,6

Fasi "calde" prestagionatura

Non Thermal Survival Model [Static]

[Add prediction]

▼ Prediction

Listeria monocytogenes/innocua [NaCl | Aw]

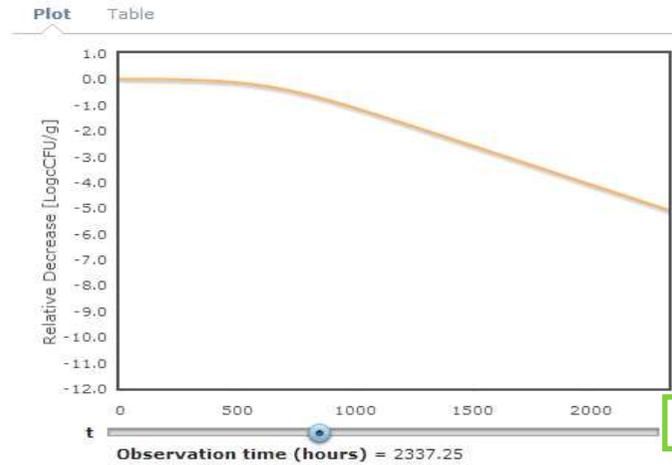
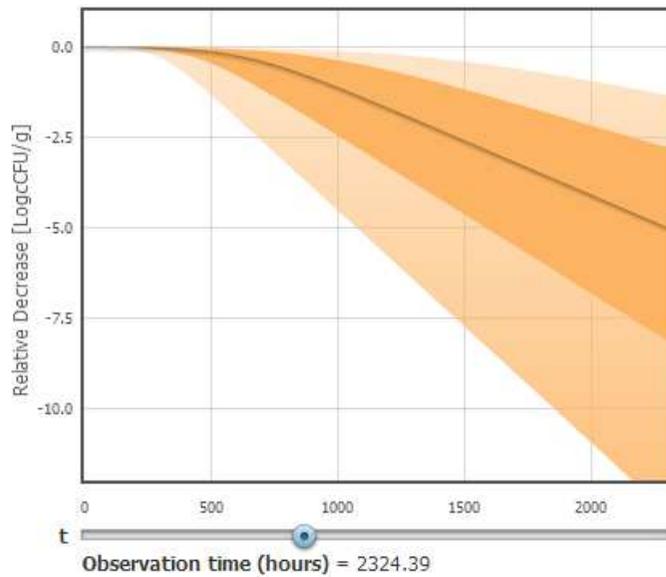
Phys.state: 1

T (°C): 20

pH: 7

Aw: 0.960

Max.rate (log.conc/h) **-0.003** D-value (Hours) **301.353**



D- value	
ore	giorni
301.353	12,6

Fasi "calde" stagionatura

ComBase Predictive Models

Predictive Models | About | Help

Non Thermal Survival Model [Static] [Add prediction]

Prediction

Listeria monocytogenes/innocua [NaCl | Aw]

Phys.state 0 1

T (°C) 0 20

pH 3.5 7

Aw 0.793 0.960

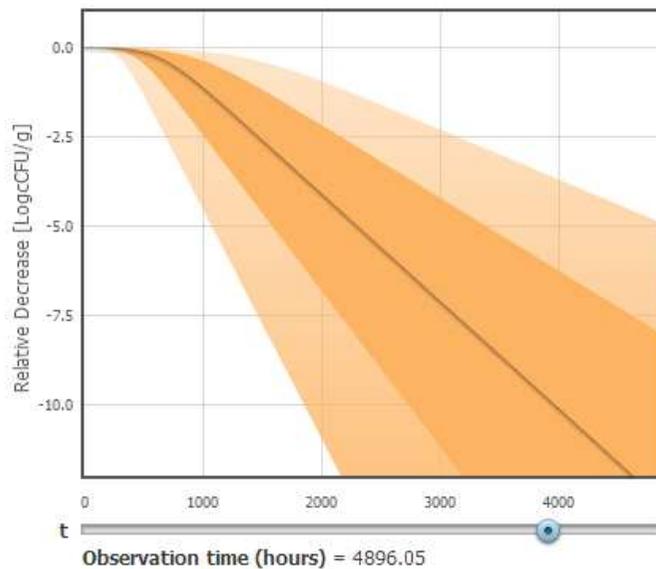
Max.rate **-0.003** (log.conc/h) D-value **314.847** (Hours)

Plot Table

Relative Decrease [LogCFU/g]

Observation time (hours) = 5206.25

150 gg



D- value	
ore	giorni
314.847	13.1

VALUTAZIONE MEDIANTE L'APPLICAZIONE DEL SOFTWARE COMBASE DELLA POSSIBILE INATTIVAZIONE DI *L.* MONOCYTOGENES

Fasi di lavorazione	Prelievi superficiali°			Parametri tecnologici		Elaborazione con software Combase predictor
	A _w	NaCl %	Umidità %	Giorni	T°C	
Fine sale	0,885*			25	5	
Fine riposo	0,906	4	38,5	65 - 100	5	- 2,1 log
Lavaggio						
Asciugamento	0,884	3,74	34,7	7	16	
Prestagionatura	0,875	3,13	29,8	90	16	-7.7 log
Sugnatura						
Stagionatura 1	0,909	3,38	36,1	150	17	
Stagionatura 2	0,911	3,34	40,7		17	-11.4 log

* dati non pubblicati

° I dati sono stati estrapolati da:

N. Simoncini et al. / Food Microbiology 24 (2007) 577-584

Langhirano 10 Aprile 2014

MICROBIAL CHALLENGE TEST

American dry-cured raw hams

Reynolds et al. 2001

country-cured ham

Portocarrero et al 2002

dry-cured ham

Salmonella spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*

Italian Dry-cured ham

Barbuti et al. 2009

Parma ham

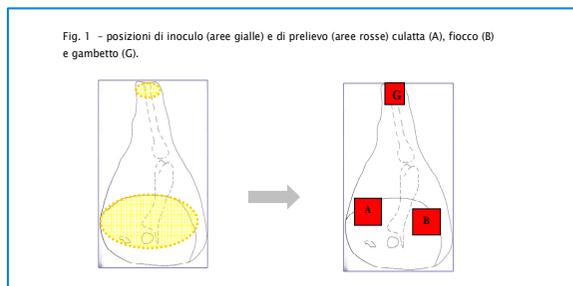
Salmonella spp., *Listeria monocytogenes*

PE6.10 Validation of the Manufacturing Process of Italian Dry-Cured Ham (Prosciutto) for the Inactivation of *Listeria Monocytogenes* and *Salmonella* spp. 361.00

Silvana Barbuti (1) silvana.barbuti@ssica.it, Maria Silvia Grisenti(1), Maria Angela Frustoli (1), Giovanni Parolari (1)
(1)S.S.I.C.A.

1°MCT

Fasi fredde: dalla materia prima alla fase di fine riposo



2°MCT

Fasi calde: dalla fase di sugnatura alla fine della stagionatura



I° MCT prosciutto crudo stagionato “fasi fredde”

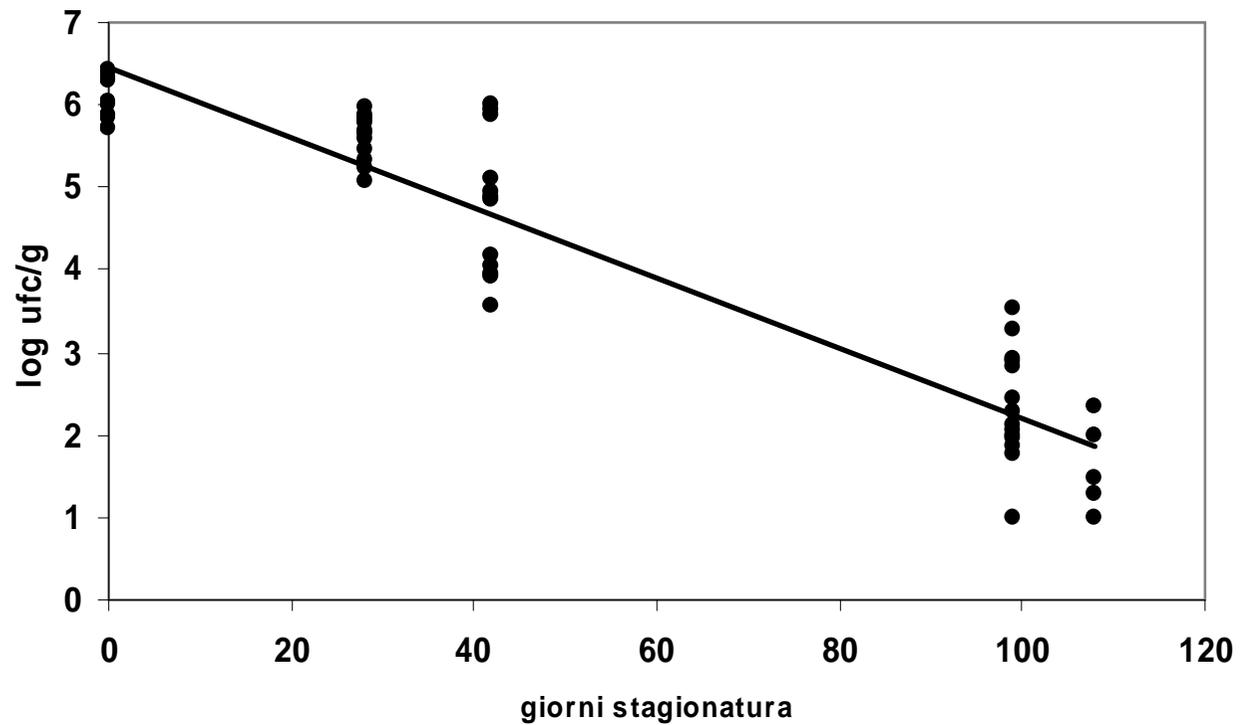
Tab. 1 – Fate of *L. monocytogenes* during the 1st MCT

Processing steps	n. hams/n. samples	<i>Listeria monocytogenes</i>		
		mean log cfu/g (n. positive samples)	St.dev.	n. D
Fresh hams	3/9	6.10 (9)	0.26	
End of salting	4/12	5.61 (12)	0.28	0.49
Half resting	6/12	4.77 (12)	0.85	1.33
End of resting	8/24	2.35 (14)	0.67	3.75
End of drying	10/10	1.62 (5)	0.54	4.48

Tab. 2 – Fate of *Salmonella* during the 1st MCT

Processing steps	n. hams/n. samples	<i>Salmonella</i>		
		mean log cfu/g (n. positive samples)	St.dev.	n. D
Fresh hams	3/6	6.23 (6)	0.23	
End of salting	4/8	5.04 (8)	0.30	1.19
Half resting	6/6	2.22 (6)	0.48	4.01
End of resting	8/16	2.28 (15)	0.70	3.95
End of drying	10/10	2.17 (9)	0.31	4.06

I° MCT prosciutto crudo stagionato “fasi fredde”

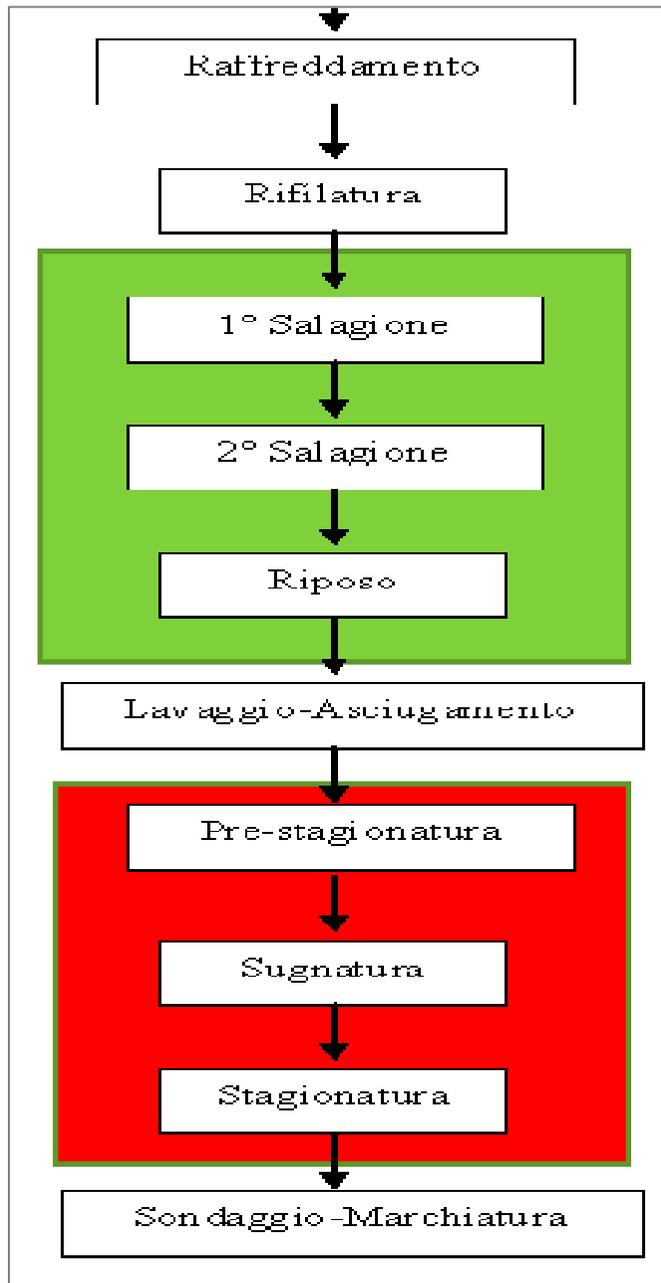
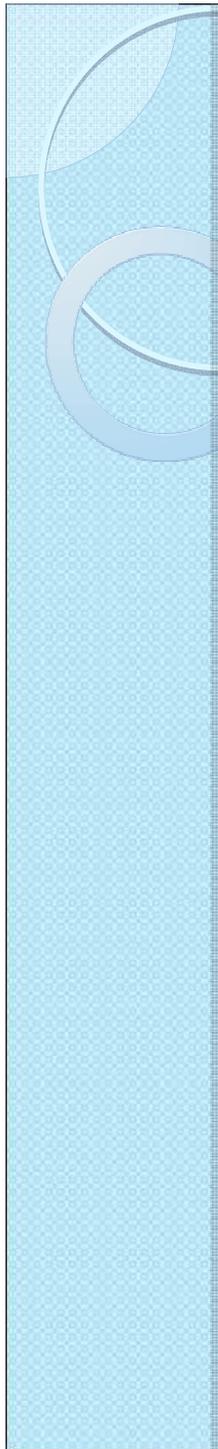


2° MCT prosciutto crudo stagionato “fasi calde”

Tab. 3- Fate of *L. monocytogenes* and *Salmonella* during the 2nd MCT

Processing steps	n. hams	<i>Listeria monocytogenes</i>		<i>Salmonella</i>			
		Average log cfu/g	Dev. st	n. D	Average log cfu/g	St.dev.	n. D
Fattening	8	5.63	0.37		5.77	0.20	
End of seasoning	8	<1		>4.63	<1		>4.77

Fasi di lavorazione	Parametri tecnologici		N. Di riduzioni decimali	
	Giorni	T°C	Elaborazione con software Combase predictor	MCT SSICA 2009
Fine sale	25	5		0,5 log
Fine riposo	65 - 100	5	2,1 log	3,75 log
Lavaggio				
Asciugamento	7	16		4,48 log
Prestagionatura	90	16	7.7 log	
Sugnatura				2°MCT
Stagionatura 1	150	17		
Stagionatura 2		17	11.4 log	> 4,63 log (5,6 log)



Considerazioni conclusive

Il processo produttivo è in grado di garantire l'eliminazione di batteri patogeni.

Documentazione a supporto:

- Note storiche
- Valutazioni con modelli predittivi
- Microbial challenge test

Più step di letalità identificati ma....

meglio parlare di ostacoli multipli con valutazione di una "letalità effettiva" dell'intero processo produttivo

Lavorazione prosciutto crudo

