

MICROBIOLOGIA DEGLI ALIMENTI

Shelf-life e modellazione microbica predittiva

Maurizio Ferri¹, Valerio Giaccone²

¹ Servizio Veterinario ASL 5 - Pescara

² Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Padova

La conoscenza dei fenomeni appartenenti alla cinetica microbica, rappresenta un fattore essenziale per stabilire la conservabilità o *shelf-life* dei prodotti alimentari e prevenire le infezioni di origine alimentare.

Tradizionalmente gli standard che vengono adottati per definire la *shelf-life* e stabilire la sicurezza microbiologica dei prodotti immessi in commercio, poggiano su test microbiologici condotti in laboratorio. I manager per la sicurezza alimentare però, devono poter prevedere la crescita, sopravvivenza e inattivazione dei microorganismi patogeni negli alimenti, ed ottenere in tal modo vantaggi legati al tempo e ai costi. Infatti tali fenomeni (crescita e morte microbica) sono in relazione alle proprietà sia intrinseche (pH, a_w , NaCl% ecc.) sia estrinseche (processo di lavorazione, temperatura, atmosfera) degli alimenti, e quanto più se ne conosce la relazione quantitativa, tanto più è possibile fornire garanzie riguardo alla sicurezza e qualità degli alimenti.

La microbiologia predittiva, area specialistica della microbiologia degli alimenti, offre questa possibilità in quanto, attraverso l'utilizzo di modelli matematici provenienti dagli studi quantitativi sulle popolazioni microbiche, consente di quantificare, modellare (attraverso equazioni matematiche) e dunque prevedere e descrivere graficamente le relazioni esistenti tra i fattori di controllo presenti negli alimenti e le risposte dei microrganismi patogeni e alteranti. Per far ciò i modelli di microbiologia predittiva necessitano di una enorme quantità di dati sperimentali (es. parametri di crescita di specifici microorganismi ad alcune temperature o valore di pH) ricavati da studi di laboratorio.

I modelli di microbiologia predittiva dunque, considerati come un'integrazione della microbiologia tradizionale con la matematica, statistica e sistemi informativi, migliorano la conoscenza quantitativa della ecologia microbica degli alimenti ed aiutano l'industria alimentare a costruire la qualità e sicurezza microbiologica degli alimenti. Pur rappresentando però strumenti utilissimi di supporto decisionale, non riescono a riprodurre la complessità del comportamento microbico (variabilità della risposta cellulare all'ambiente) e dei sistemi alimentari. Questa limitazione può essere supe-

rata adottando un approccio probabilistico che valuta la risposta della popolazione microbica come somma delle probabilità delle risposte a livello di singola cellula. Tale approccio rende i modelli predittivi elementi essenziali per gli studi di valutazione quantitativa del rischio microbiologico in modo particolare per la fase di esposizione/consumo. Gli strumenti attualmente utilizzati per descrivere gli eventi a livello cellulare o sub-cellulare e che fanno parte della cosiddetta "biologia dei sistemi" sono: fisica microbica, genomica, fisiologia microbica [1].

Riferimenti normativi della *shelf-life*

La determinazione della *shelf-life* dei prodotti alimentari e la sua indicazione in etichetta, per la maggior parte degli alimenti confezionati e destinati al consumo finale, costituisce un obbligo di legge per gli operatori che producono e immettono in commercio prodotti alimentari, con l'eccezione della produzione primaria, somministrazione e produzione per la vendita al dettaglio. In tabella 1 vengono riassunte le principali norme cogenti, comunitarie e nazionali.

Partendo dalla definizione contenuta nell'art. 2 punto f, del Regolamento (CE) 2073/2005, sugli standard microbiologici dei prodotti alimentari, per *shelf-life* si può intendere il periodo che precede il termine minimo di conservazione (TMC) o la data di scadenza, definiti entrambi dal produttore.

Il TMC ("da consumarsi preferibilmente entro"), rappresenta il termine temporale entro il quale il prodotto alimentare conserva le sue proprietà specifiche in adeguate condizioni di conservazione. Diversamente dalla data di scadenza, il superamento di tale termine non prefigura alcun divieto di commercializzazione e di consumo fatta salva la dovuta informazione al consumatore. Pertanto sono da ritenere ingiustificati i sequestri di prodotti alimentari con TMC superato. Infatti il TMC attiene unicamente le caratteristiche organolettiche e di *appeal* del prodotto piuttosto che la sicurezza, e più ci si allontana dalla data di superamento del TMC più vengono meno i requisiti della qualità del prodotto, senza dunque che venga pregiudicato quello della sicurezza.

Regolamento CE n.178/2002	Stabilisce il requisito generale per la sicurezza alimentare secondo cui non devono essere immessi sul mercato alimenti non sicuri , intendendo con ciò prodotti alimentari contenenti microorganismi, loro tossine o metaboliti in quantità tali da rappresentare un rischio inaccettabile per la salute umana. La <i>shelf-life</i> dei prodotti alimentari viene dunque a rivestire un ruolo essenziale per la sicurezza alimentare.
Regolamento 852 (Art.1.1.a)	Specifica che la responsabilità per la sicurezza degli alimenti incombe sull'OSA
Accordo Stato-Regioni 2182 del 13/01/2005	« <i>Sul documento concernente criteri per la predisposizione dei Piano di autocontrollo, per l'identificazione e la gestione dei pericoli nel settore carni</i> » riporta la procedura per la definizione della conservabilità dei prodotti.
Regolamento CE 2073/2005	Stabilisce che, in virtù dell'applicazione dell'art. 7 del Regolamento 852/2004, i manuali delle buone prassi igieniche elaborati dagli operatori alimentari, dovrebbero contenere anche linee guida per la realizzazione degli studi di <i>shelf-life</i> .
D.Lgs. n. 181 del 23/06/03 (di modifica del Decreto Legislativo 109/92)	« <i>Concernente l'etichettatura e la presentazione dei prodotti alimentari, nonché la relativa pubblicità</i> ». Ai sensi dell'art. 9 (data di scadenza) del D.Lgs. 181 succitato, dopo l'articolo 10 del Decreto Legislativo 27 gennaio 1992, n. 109, è inserito il seguente: Art. 10-bis (Data di scadenza): « <i>Sui prodotti preconfezionati rapidamente deperibili dal punto di vista microbiologico e che possono costituire, dopo breve tempo, un pericolo per la salute umana (es. prodotti lattieri freschi, formaggi freschi, pasta fresca, carni fresche, prodotti della pesca e dell'acquacoltura freschi, uova) il TMC è sostituito dalla data di scadenza, essa deve essere preceduta dalla dicitura "da consumarsi entro" seguita dalla data stessa o dalla menzione del punto della confezione in cui figura</i> ». Ai sensi dello stesso Art. 9 comma 5: « <i>[...] è vietata la vendita dei prodotti che riportano la data di scadenza a partire dal giorno successivo a quello indicato sulla confezione</i> ».

Tabella 1. Principali norme cogenti, comunitarie e nazionali per la determinazione della shelf-life dei prodotti alimentari confezionati e sua indicazione in etichetta.

In proposito, il Regolamento (CE) n. 2073/2005 all'art. 3 affida all'OSA la verifica della conformità delle sostanze alimentari ai criteri microbiologici di processo di sicurezza alimentare fissati negli allegati I e II. La determinazione della *shelf-life* poggia essenzialmente sui criteri di sicurezza alimentare, laddove stabiliti, che applicabili per l'intera durata della vita di scaffale dei prodotti, devono essere rispettati a condizioni ragionevolmente prevedibili di distribuzione, conservazione e uso. Gli OSA per verificare se i criteri sono rispettati per l'intera durata del periodo di conservabilità possono effettuare studi in conformità all'allegato II Regolamento (CE) 2073/2005, in particolare:

- prove per determinare le caratteristiche fisico-chimiche del prodotto: quali pH, aw, contenuto salino, concentrazione di conservanti e tipo di sistema di confezionamento, tenendo conto delle condizioni di lavorazione e di conservazione, delle possibilità di contaminazione e della conservabilità prevista;
- consultazione della letteratura scientifica disponibile e dei dati di ricerca sulle caratteristiche di sviluppo e di sopravvivenza dei microrganismi in questione;
- studi (*storage test*, *challenge test*, modelli matematici predittivi) rivolti soprattutto a quegli alimenti pronti per il consumo (*ready-to-eat*) che possono costituire un rischio per la salute pubblica a causa della presenza potenziale di *Listeria monocytogenes*.

Gli studi di conservabilità servono a valutare lo sviluppo o la sopravvivenza dei microrganismi in questione che possono essere presenti nel prodotto durante il periodo di conservabilità, in condizioni ragionevolmente prevedibili di distribuzione, conservazione e uso. I *challenge test* invece, sono prove effettuate al fine di determinare la capacità dei microrganismi in questione, debitamente inoculati, di svilupparsi o sopravvivere nel prodotto in diverse condizioni di conservazione ragionevolmente prevedibili. Entrambi i test si basano sul conteggio ed individuazione delle caratteristiche fenotipiche dei batteri nell'alimento nei diversi momenti del periodo di conservazione.

I modelli matematici predittivi stabiliti per il prodotto alimentare in esame, utilizzano fattori critici di sviluppo o di sopravvivenza per i microrganismi in questione presenti nel prodotto.

Al fine di facilitare gli operatori nella determinazione della *shelf-life* di alimenti pronti per il consumo, nel 2008 il Ministero ha diramato un documento della Commissione Europea dal titolo "*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*", che fornisce indirizzi operativi per identificare il rischio *Listeria monocytogenes* nei prodotti *ready-to-eat* ed i principi generali per l'effettuazione di studi di *shelf-life*.

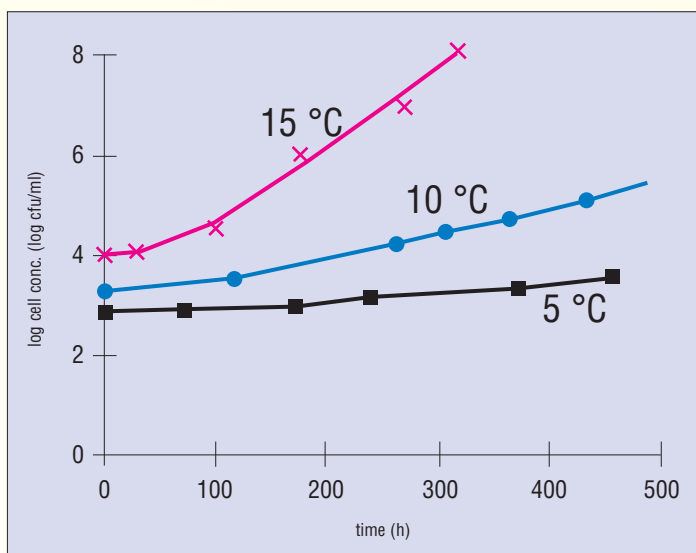


Figura 1. Curva di crescita microbica.

Modellazione predittiva: breve storia

Diversi autori [17, 5] attribuiscono l'origine dei modelli predittivi a Esty e Meyer [2] che per primi hanno descritto il processo termico sufficiente per la distruzione di 10^{12} di spore di *C. botulinum* tipo A.

La loro esperienza ha rappresentato il primo esempio di tecnica matematica applicata alla microbiologia predittiva, e ha sancito il superamento del ruolo prevalentemente descrittivo della microbiologia. In sostanza Esty e Meyer hanno stabilito che per garantire la sicurezza del prodotto occorre una riduzione decimale di 12 unità logaritmiche del numero di spore del patogeno. Il tempo di trattamento termico viene calcolato assumendo una relazione lineare tra la concentrazione delle spore espressa in logaritmi ed il tempo, mantenendo costante il valore della temperatura. Questo modello in sostanza ci dice che ad una data temperatura, la percentuale della popolazione cellulare inattivata è costante nell'unità di tempo.

È dunque dagli anni 20 che l'industria alimentare conserviera utilizza questo specifico modello predittivo per quantificare il trattamento termico necessario per l'eliminazione di *C. botulinum* dai prodotti in scatola.

Negli anni successivi la modellazione matematica viene applicata anche alla relazione biomasse batteriche e utilizzazione dei substrati [7]. Ma l'origine della "moderna" microbiologia predittiva risale agli anni 60 e 70, con l'applicazione dei modelli cinetici [3] ai fenomeni di alterazione degli alimenti [8, 9], seguiti da quelli probabilistici applicati a germi responsabili di intossicazioni, quali il botulismo [4, 14].

Ruolo della microbiologia predittiva

La microbiologia predittiva viene definita come «La scienza di descrivere e prevedere attraverso modelli matematici la

risposta dei microrganismi al loro ambiente». In virtù di tale caratteristica, rappresenta un'alternativa al metodo tradizionale di studio della *shelf-life*, assimilabile ai classici *challenge test* e test di conservabilità. Quest'ultimi rispetto ai modelli predittivi, hanno lo svantaggio di richiedere tempi più o meno lunghi per ottenere i risultati, hanno un costo economico maggiore e non hanno contribuito alla costituzione di un database informativo facilmente accessibile.

I due pilastri su cui poggiano i modelli di microbiologia predittiva sono rappresentati da: biomatematica (modelli matematici) e bioinformatica (database).

Ma in pratica che cosa sono i modelli di microbiologia predittiva? Per spiegare sinteticamente la loro utilità pratica, riportiamo di seguito un esempio di applicazione. Partendo ad esempio dai parametri di crescita di *L. monocytogenes* osservati in un alimento ad una data temperatura di conservazione, la microbiologia predittiva consente di prevedere parametri di crescita a temperature diverse. Se si conosce il comportamento di crescita di *L. monocytogenes* alle temperature di 5,0 °C, 10,0 °C, 15,0 °C (figura 1), caratterizzato da specifici tassi di crescita e tempo lag (fase di latenza o tempo impiegato per la crescita), si possono prevedere tassi di crescita nello stesso alimento a temperature di 12,0 °C e 8,0 °C. In figura 2 sono rappresentati graficamente i risultati che si ottengono con la microbiologia predittiva, partendo proprio dai parametri relativi al tasso di crescita e lag fase.

Utilità dei modelli di microbiologia predittiva

La microbiologia predittiva può essere utilizzata in situazioni diverse, come ad esempio:

- nella fase iniziale di sviluppo di un prodotto alimentare per fornire una previsione della sua durabilità commerciale;
- per valutare gli effetti che si ottengono modificando il processo di produzione o la formulazione di un prodotto per il quale è stata già definita la *shelf-life*. Ad esempio per l'eventuale crescita di *L. monocytogenes* nel prosciutto cotto, si valuta l'effetto prodotto dall'aumento della concentrazione di sale dal 5% al 35%. Il modello predittivo viene così utilizzato per stabilire se la modifica è in grado di condizionare la sicurezza, con notevole risparmio di costi e di tempo. Naturalmente la scelta del modello predittivo terrà conto della presenza di caratteristiche o condizioni (es. formulazione) simili del prodotto alimentare rispetto a quello utilizzato nel modello. I modelli predittivi trovano inoltre felice applicazione sia nell'ambito del sistema HACCP, sia negli studi di valutazione del rischio microbiologico.

Limiti della microbiologia predittiva

In generale, la modellazione predittiva (*predictive modeling*) identifica un processo attraverso il quale viene creato o scelto un modello che poggia su equazioni matematiche e

che consente di prevedere la probabilità del verificarsi di un evento o risultato. I modelli di microbiologia predittiva dunque, come dice il nome, rappresentano di fatto una semplificazione o idealizzazione del sistema oggetto di studio, ed in quanto tale non riescono a riprodurre la variabilità intrinseca ai fenomeni che avvengono in natura. Naturalmente il livello di questa semplificazione, tiene conto delle tecniche matematiche disponibili, software e disponibilità dei dati di osservazione del sistema.

Questo è il motivo per cui negli studi di microbiologia predittiva, bisogna partire da alcune assunzioni che ne limitano l'applicabilità e condizionano il livello di incertezza delle

stime di cinetica batterica. Tra le limitazioni più significative, possiamo citare: le condizioni sperimentali di laboratorio e l'utilizzo di terreni di crescita liquidi o solidi, che non possono riprodurre in modo esatto quanto avviene in natura o meglio le complesse interazioni tra i microrganismi e tra quest'ultimi e l'alimento ed altri organismi competitivi; la variabilità della risposta dei microrganismi sia a livello cellulare che di popolazione alle proprietà intrinseche ed estrinseche degli alimenti.

Per spiegare questo concetto, osserviamo la curva di crescita illustrata in figura 2. Qui i tassi di crescita alle temperature indicate potrebbero non essere quelli previsti dal modello se intervengono fattori nuovi relativi al ceppo batterico, sub-

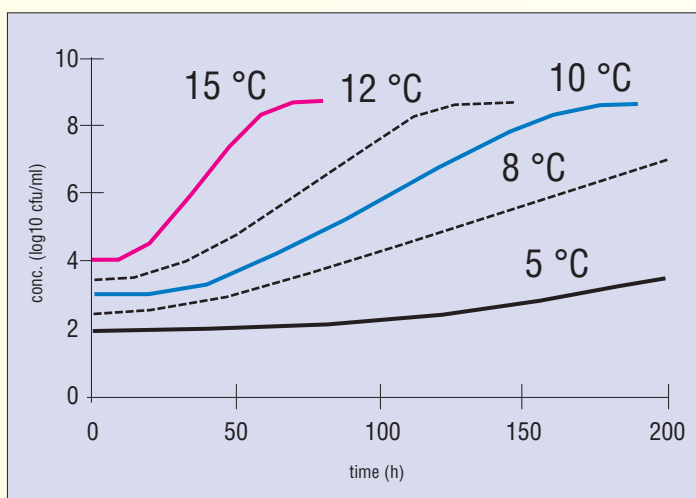


Figura 2. Curva di crescita microbica ottenuta con la modellazione microbica.

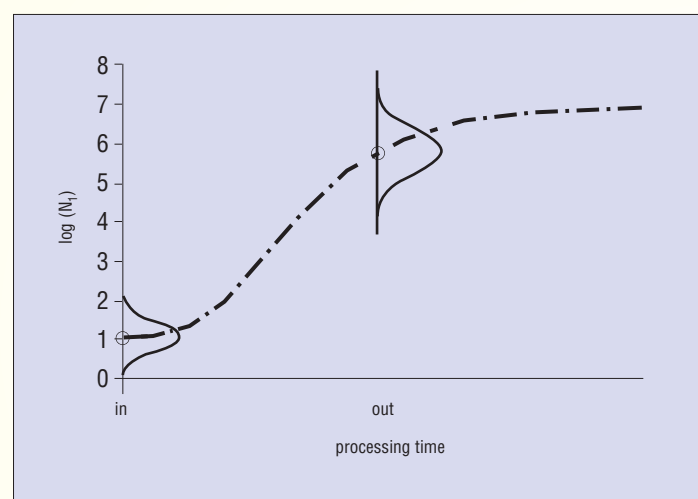


Figura 3. Valore puntuale sostituito da una funzione di probabilità.

Lag fase	y	Tempo necessario perché un cellula batterica si adatti al nuovo ambiente prima di iniziare a replicare (crescita).	Rispetto alla fase di crescita e fase stazionaria, è la parte più imprevedibile della curva di crescita in quanto dipendente dalla storia precedente del microrganismo.
Fase di crescita	y_{max}	Rappresenta la replicazione (moltiplicazione) del microorganismo.	Chiamato anche tempo di generazione indica il tempo necessario (ore o giorni) per la divisione di una cellula in due cellule.
Tasso di crescita	μ_{max}	Indica la variazione del numero di cellule in un determinato periodo di tempo tipicamente espresso in \log_{10} per ora o giorno.	Per convertire il tasso di crescita in tempo di generazione, si divide 0.301 (il \log_{10} di 2) per il tasso di crescita.
Fase stazionaria e densità della popolazione massima		Rappresenta il livello di concentrazione massima raggiunto dai batteri nell'alimento.	Questo livello può essere condizionato dalla presenza di altri batteri, es. batteri alteranti, disponibilità di nutrienti, e/o produzione di fattori di inibizione. Nella maggior parte degli alimenti si raggiunge la densità massima della popolazione di 9-10 \log_{10} (da 1 a 10 miliardi) di cellule per grammo o millilitro di alimento.
Fase di morte		Di solito segue la fase stazionaria.	I batteri possono morire dopo un certo periodo di tempo di conservazione dell'alimento.

Tabella 2. Fattori della curva di crescita microbica-definizioni.

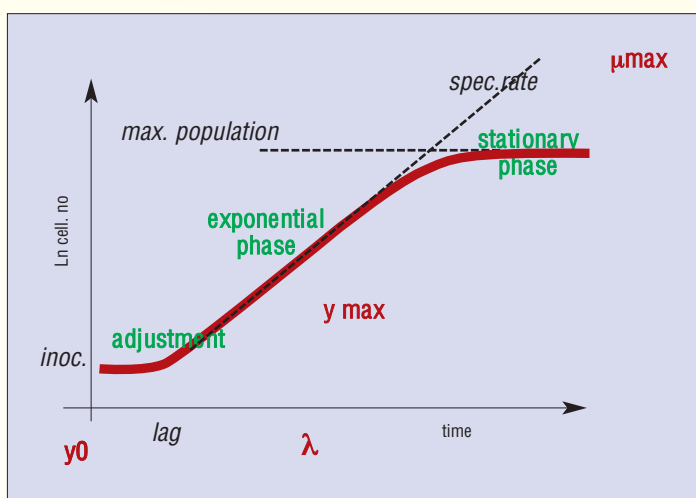


Figura 4. Curva di crescita batterica di tipo sigmoidale.

strato alimentare o condizioni esterne.

Oggi la maggior parte dei modelli matematici utilizzati in microbiologia predittiva sono di tipo deterministico. Ciò significa che l'output del modello è costituito da un valore puntuale della crescita microbica in un determinato unità temporale. I modelli stocastici introdotti di recente invece, prevedono al posto del valore puntuale la funzione o curva di probabilità di massa in un determinato istante, che descrive appunto la probabilità di un evento microbico in un alimento con i rispettivi limiti di confidenza [6, 10] (figura 3). L'approccio stocastico trova frequente applicazione nella modellazione di: interfaccia crescita/non crescita batterica, lunghezza della fase lag [15], inattivazione nella formulazione degli alimenti *ready-to-eat* e per la produzione delle tossine microbiche. Il metodo più frequentemente utilizzato per affrontare la variabilità nei modelli stocastici è l'analisi Monte Carlo.

Modelli predittivi

I modelli predittivi vengono tradizionalmente classificati in modelli primari, secondari e terziari. Essi si applicano non solo al fenomeno della crescita microbica, ma anche alla, inattivazione termica, sopravvivenza, fase lag e produzione

di tossina. Vediamoli brevemente in relazione alla crescita batterica.

Modello predittivo primario

Per poter costruire un modello predittivo della crescita microbica, bisogna partire dalla classica curva di crescita di tipo sigmoidale rappresentata in figura 4 denominata "funzione Gompertz". Il modello predittivo viene definito primario e si sviluppa su scala logaritmica con nelle ascisse il tempo e nelle ordinate la carica batterica espressa in unità logaritmiche (es. log ufc/ml). In sostanza riproduce l'andamento della crescita batterica in funzione del tempo. Solitamente vengono utilizzati programmi di adattamento della curva ai dati (*data-fitting-curve*). Sono quattro i parametri che vengono presi in considerazione come indicati in figura 4, e cioè: logaritmo naturale del livello di inoculo (y_0); tempo di replicazione batterica (y_{max}); tasso di crescita specifica massima nella fase esponenziale (λ) che indica in sostanza la pendenza della curva in qualsiasi punto; tempo che indica la fine della fase lag (λ). In tabella 2 sono riportate le descrizioni relative ai suddetti parametri.

Modello predittivo secondario

A differenza del modello predittivo primario che descrive il comportamento microbico tenendo costanti i fattori ambientali durante la crescita batterica, i modelli predittivi secondari cercano di stabilire una relazione tra i fattori dell'ambiente (pH, a_w , composizione dell'atmosfera, conservanti, flora competitiva ed inibitoria) ed i parametri di crescita batterica. Ad esempio un modello predittivo secondario è quello che prevede il tasso di crescita in funzione della temperatura o delle condizioni ambientali multiple come la concentrazione di sale, l' a_w e la temperatura. I modelli secondari possono essere semplici regressioni lineari o più complessi modelli polinomiali che richiedono l'uso di software sofisticati. Il fattore ambientale più importante è la temperatura, seguito da pH ed a_w .

Di solito per la modellazione della fase lag e del tasso di crescita vengono modellati utilizzando i seguenti approcci: radice quadrata, gamma e cardinale. La struttura dei modelli secondari può essere espressa con l'equazione matematica seguente: $g(p)=f(x)$

Produzione dei dati	Modelli primari	Modelli secondari	Validazione del prodotto
Generazione delle curve di crescita per combinazione dei fattori di controllo (T° , atmosfera, pH, a_w ecc.). Vengono spesso utilizzati terreni liquidi.	Valutano i parametri cinetici, principalmente, lag fase, tasso di massima crescita specifica, attraverso l'adattamento delle curve di crescita con modelli appropriati.	Modellano gli effetti dei fattori di controllo sulla lag fase e tassi di crescita.	Valutazione della performance del modello confrontando i risultati con la previsione ed i valori dei parametri cinetici ottenibili dagli studi sul prodotto.

Tabella 3. Sviluppo dei modelli predittivi di crescita microbica.

dove:

- p è il parametro del modello primario;
- g è la funzione di legame (radice quadrata o logaritmo naturale, usato solo per ragioni numeriche);
- $x = (x_1 \dots x_n)$ è il vettore dei fattori ambientali dell'ambiente attuale
- f è la funzione multivariata.

Nei modelli secondari il parametro p più comunemente studiato è quello relativo al tasso specifico di crescita batterica (o il suo reciproco, il tasso medio di generazione), dal momento che dipende solo dall'ambiente attuale.

La funzione f è il nucleo del modello secondario. Spesso viene utilizzata l'equazione polinomiale multivariata per studiare proprio l'effetto combinato di diversi fattori di controllo sui valori del tempo lag e dei tassi di crescita specifica massima.

Come già accennato, per affrontare la variabilità della cinetica batterica è sempre più frequente l'uso dei modelli stocastici che descrivono la probabilità di un evento microbico in un alimento.

Nella tabella 3 viene sinteticamente descritta la metodologia generale per lo sviluppo dei modelli predittivi di crescita microbica.

Modelli predittivi terziari

Il modello terziario converte i modelli primari e uno o più modelli secondari in software di microbiologia predittiva, alcuni dei quali fruibili gratuitamente come applicativi Web, quali: *Growth Predictor*, *Food MicroModel* o *Pathogen Modelling Program*. Non è necessario essere dei modellatori per l'utilizzo di questi software. È sufficiente infatti inserire i valori dei fattori ambientali per i diversi microrganismi oggetto di studio ed ottenere la previsione di specifici parametri della popolazione microbica.

Validazione del modello predittivo

I modelli di microbiologia predittiva solitamente vengono validati confrontando i risultati ottenuti con i dati relativi alla crescita e sopravvivenza dei microrganismi nei prodotti alimentari. Questi dati possono essere ricavati da pubblicazioni scientifiche e disponibili in database internazionali. La previsione di crescita microbica dunque non è precisa al 100%. Come indice di performance del modello viene di solito utilizzato il *bias factor* che confronta la crescita prevista con i valori derivati dagli studi sul prodotto e dunque misura il livello di soprastima o sottostima sistematica del modello. Un valore uguale a 1 indica che i valori attesi e quelli osservati sono identici. Per i prodotti ittici un valore di *bias factor* compreso tra 0,75 e 1.25 viene generalmente indicato come criterio per una validazione positiva dei modelli microbici per la *shelf-life* dei prodotti ittici.

L'imprecisione delle stime di cinetica batterica è dovuta ai fattori di variabilità ed incertezza introdotte attraverso gli errori sperimentali, variazioni dei ceppi, modelli primari e secondari. L'errore può essere anche espresso attraverso il

livello più basso e più alto di confidenza. Ad esempio, il limite di un modello predittivo che include il 95% dei dati osservati, viene definito con un intervallo di confidenza del 95%.

Uso dei modelli predittivi nei piani HACCP

I modelli di microbiologia predittiva costituiscono strumenti importanti per la gestione della sicurezza degli alimenti e offrono una base scientifica per affrontare alcuni aspetti chiave dei piani HACCP [16]. In particolare possono aiutare a definire i CCP (punti critici di controllo) e stabilire i limiti critici, oltre che a determinare le azioni correttive in caso di deviazione del processo. Non va però tralasciato il fatto che i modelli vengono sviluppati con riferimento a specifiche condizioni ambientali, ad esempio a partire dai dati ottenuti in un brodo microbiologico, in un alimento specifico o in un alimento sintetico. Pertanto l'accuratezza della previsione del modello è relativa all'alimento per il quale è stato sviluppato. Per questo motivo la microbiologia predittiva può fornire informazioni accurate solo se si dispone di esperienza pratica.

L'industria alimentare nel caso volesse utilizzarli, ad esempio per l'esecuzione di *challenge test*, deve garantire la disponibilità di microbiologi esperti. Se nell'ambito della formulazione di un prodotto o per la determinazione della *shelf-life* si decidesse di utilizzare un modello predittivo già sviluppato, la scelta verrà dettata dalla presenza di caratteristiche o condizioni (es. formulazione) simili del prodotto alimentare rispetto a quello utilizzato nel modello. Se le condizioni non corrispondono, sarà necessario validare il modello per l'applicazione specifica. La validazione prevede che vengano effettuati studi di laboratorio indipendenti inoculando il prodotto con un batterio specifico e registrando i livelli di crescita o inattivazione. I dati ottenuti possono essere confrontati con quelli previsti dal modello per verificare se si è all'interno degli intervalli del 95% di confidenza. Nel caso in cui i dati non corrispondano, il modello non è valido per lo scopo previsto e non dovrebbe essere utilizzato nel piano HACCP.

Shelf-life e ruolo degli organismi di controllo ufficiale

Nell'ambito dei controlli ufficiali (ispezioni, audit) finalizzati a valutare i sistemi adottati dagli OSA per la gestione della sicurezza alimentare (prerequisiti ed HACCP), è essenziale raccogliere e poter valutare gli elementi necessari che hanno giustificato la determinazione della *shelf-life*, (laddove necessaria) da parte dell'OSA e l'indicazione in etichetta delle modalità di conservazione/preparazione del prodotto. Questi ultimi elementi cautelano certamente il produttore in



ordine alla sua responsabilità (anche nel rispetto del Regolamento 852/2004 - Responsabilità del produttore).

Per poter svolgere questo compito, sarà inoltre necessario che l'organo di controllo acquisisca le conoscenze scientifiche che sono alla base degli studi di *shelf-life* condotti dai produttori, quali ad es. prove di conservabilità, challenge test e software di microbiologia predittiva. Tale approccio serve a salvaguardare la professionalità di chi effettua il controllo e a migliorare il rapporto con i consulenti della sicurezza alimentare o con gli stessi produttori.

Modelli microbici predittivi negli studi di valutazione quantitativa del rischio

I modelli di microbiologia predittiva sono divenuti componenti essenziali degli studi di valutazione quantitativa del rischio microbiologico. Ad esempio sono stati utilizzati per la fase di esposizione degli studi di valutazione quantitativa del rischio *L. monocytogenes* nel salmone affumicato a freddo [11] e *V. parahaemolyticus* [12] e *V. vulnificus* nelle ostriche crude [13]. L'uso combinato dei modelli predittivi e software che utilizzano la simulazione Monte Carlo (es. @Risk, Palisade), consente di prevedere gli effetti che la contaminazione iniziale del prodotto, sua temperatura e caratteristiche hanno sui livelli del patogeno nelle diverse fasi del processo e dunque sul prodotto al momento del consumo.

Software applicativi di modellazione predittiva

I pacchetti software di modelli predittivi disponibili in commercio, poggiano sostanzialmente su due elementi: modelli matematici e dati microbiologici. Negli ultimi 20 anni è stata

accumulata una quantità significativa di dati provenienti da laboratori di ricerca internazionali che sono confluiti nella microbiologia predittiva e negli studi di valutazione quantitativa del rischio microbiologico. Si sono successivamente costituiti database internazionali caratterizzati da format standard e facilità di accesso. Il risultato ha portato alla creazione di un format denominat *ComBase* (COMMon relational dataBASE) disponibile sul sito <http://wyndmoor.arserrc.gov/combase/>, frutto della collaborazione dei seguenti istituti e centri di ricerca internazionali: *Food Standards Agency, Institute of Food Research* (UK); *USDA Agricultural Research Service, Eastern Regional Research Center* (USA); *Australian Food Safety Centre of Excellence*. Il database contiene più di 20.000 curve di crescita e sopravvivenza batterica ed oltre 8000 record contenenti i parametri dei tassi di crescita e sopravvivenza. L'uso di *ComBase* aiuta ad evitare la ripetizione inutile di esperimenti, aumenta l'efficienza degli sforzi di ricerca, migliora la sicurezza e qualità degli alimenti, standardizza la fonte dati per i valutatori del rischio microbiologico e riduce l'impatto delle dispute commerciali. Uno dei più modelli predittivi più utilizzati è il *Pathogen Modelling Program* (PMP) che comprende 13 modelli per la crescita e sopravvivenza e 9 modelli per l'inattivazione dei batteri patogeni. Il *Food MicroModel* inglese invece, comprende 23 modelli per la crescita e sopravvivenza e 7 modelli per l'inattivazione termica dei più importanti microorganismi patogeni. A volte ci sono più modelli di crescita per lo stesso microorganismo. Ciò consente all'utilizzatore di scegliere un modello che più riflette l'alimento per il quale viene effettuato lo studio predittivo.

Nel riquadro 1 sono riportati i database e modelli predittivi disponibili su Internet.

Riquadro 1. Database e modelli predittivi disponibili su Internet

ComBase – COMBined DataBASE of Predictive Microbiology Information. United States Department of Agriculture.; Institute of Food Research; Food Standards Agency.	www.combase.cc/index.php/en/
DMFit , Institute of Food Research	www.ifr.ac.uk/safety/dmfit/
Food MicroModel, Arrow Scientific.	www.arrowscientific.com.au/predictive_micro_sw.html
Growth Predictor, Institute of Food Research	www.ifr.ac.uk/Safety/GrowthPredictor/
Pathogen Modeling Program, USDA. Agricultural Research Service.	http://ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=6786
Seafood Spoilage Predictor (SSP), Ministry of Food, Agriculture and Fisheries, Danish Institute for Fisheries Research	http://sssp.dtuaqua.dk/
Sym'Previs Predictive Microbiology Tool	www.symprevius.net/index.php?rub=predictive_microbiology

Bibliografia

1. Brul S, Westerho HV. Systems biology and food science. In S. Brul, M. Zwietering, & S. Van Gerwen (Eds.), Modelling microorganisms in food. Cambridge, England: Woodhead Publishing. 2007: 250-286.
2. Esty J., Meyer KF. The heat resistance of the spore of *B. botulinum* and allied anaerobes XI. Journal of Infectious Diseases. 1922; 31: 650-663.
3. Federickson AG, Ramkrishna D, Tsuchiya HM. Statistics and dynamics of pro-cariotic cell populations. Mathematical biosciences. 1967;1 (3).
4. Genigeorgis CA. Factors affecting the probability of growth of pathogenic microorganisms in foods. Journal of the American Veterinary Medicine Association. 1981; 179: 1410-1417.
5. McMeekin TA, Olley J, Ratkowsky DA, Ross T. Predictive microbiology: towards the interface and beyond. International Journal of Food Microbiology. 2002; 73: 395-407.
6. McMeekin TA. Predictive microbiology: Quantitative science delivering quantifiable benefits to the meat industry and other food industries. Meat Science. 2007; 77: 17-27.
7. Monod J. The growth of bacterial cultures. Annual Review of Microbiology. 1949; 3: 371-394.
8. Nixon PA. Temperature integration as a means of assessing storage conditions. Report on Quality in Fish Products, Seminar No. 3. Fishing Industry Board, Wellington, New Zealand. 1971: 34-44.
9. Olley J, Ratkowsky DA. The role of temperature integration in monitoring fish spoilage. Food Technology in New Zealand. 1973; 8: 147-153.
10. Ponciano JM e coll. Use of Stochastic Models To Assess the Effect of Environmental Factors on Microbial Growth. Applied and Environmental Microbiology. 2005: 2.355-2.364.
11. Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in French cold-smoked salmon: I. Quantitative exposure assessment. Pouillot R, Miconnet N, Afchain AL, Delignette-Muller ML, Beaufort A, Rosso L, Denis JB, Cornu M. records. Risk Anal. 2007; 27(3): 683-700.
12. Quantitative risk assessment of the public health impact of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in raw oysters. US Food and Drug Administration's Center for Food Safety and Applied Nutrition. July 2005.
13. Risk assessment of *Vibrio vulnificus* in raw oysters, MRA series 8. Microbiological Risk Assessment Series, N. 8 ISBN 92 4 156310 9 (WHO)
14. Roberts TA, Jarvis B. Predictive modelling of food safety with particular reference to *Clostridium botulinum* in model cured meat systems. In: Roberts TA, Skinner FA (Eds.), Food Microbiology: Advances and Prospects. Academic Press, New York. 1983: 85-95.
15. Swinnen IAM, Bernaerts K, Dens EJJ, Geeraerd AH, Van Impe JF. Predictive modelling of the microbial lag phase: a review. International Journal of Food Microbiology. 2004; 94 (2):137-159.
16. T.A. McMeekin, T. Ross. Predictive microbiology: providing a knowledge-based framework for change management. International Journal of Food Microbiology. 2002; 78: 133-153.
17. Whiting RC, Buchanan RL. 2001. Predictive microbiology and risk assessment. In: Doyle, MP, Beauchat LR, Montville TJ. (Eds.), Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers, 2nd ed. American Society for Microbiology Press, Washington. 2001: 813-831.

EDIZIONI **LE POINT VÉTÉRIKAIRE ITALIE**

Dizionario del Medicinale Veterinario

- 2.700 prodotti, oltre 5000 presentazioni
- Rapida consultazione grazie al triplice indice (per classe terapeutica, principio attivo e azienda)
- tempi di sospensione
- aggiornamento legislativo 2011
- prezzi al pubblico

Prezzo di copertina: € 66,00

Prezzo Club*: € 56,10

Spese di spedizione escluse

Brossura, 210x150 mm



NOVITÀ
IX EDIZIONE

* Club degli abbonati ai periodici di Le Point Vétérinaire Italie

PER ORDINARE IL VOLUME



inviando una mail a: diffusionelibri@pointvet.it



02/60 85 23 32 (dal lunedì al venerdì dalle 9.00 alle 13.00 e dalle 14.00 alle 18.00)



POINT VÉTÉRIKAIRE ITALIE Via Medardo Rosso 11 - 20159 Milano