

MODULISTICA DI PRESENTAZIONE

**PROGETTI DI RICERCA DA FINANZIARE**  
**CON RISORSE DEL FONDO SANITARIO NAZIONALE**

**Progetto presentato da:**

**ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA  
SARDEGNA  
STRUTTURA COMPLESSA DI IGIENE DEGLI ALIMENTI  
*LABORATORIO DI ISPEZIONE ALIMENTI***

**Area tematica: Sicurezza Alimentare**

**Titolo del progetto:**

**Studio della dinamica di sviluppo di agenti zoonosici in alimenti *ready to eat*:  
analisi e applicazione di Linee Guida Internazionali e modalità di utilizzo di Software di  
Microbiologia Predittiva finalizzati alla stesura di Procedure Operative e Procedure  
Gestionali adottabili ai fini di un percorso di accreditamento**

**Responsabile Scientifico: Dr Sebastiano Virgilio**

**Progetto elaborato dalla Dr.ssa Piera Mele, Biologa di Medicina Specialistica Ambulatoriale  
del Laboratorio di Ispezione Alimenti**

**Titolo del progetto:**

**Studio della dinamica di sviluppo di agenti zoonosici in alimenti *ready to eat*:**

**analisi e applicazione di Linee Guida Internazionali e modalità di utilizzo di Software di Microbiologia Predittiva finalizzati alla stesura di Procedure Operative e Procedure Gestionali adottabili ai fini di un percorso di accreditamento**

**Durata del progetto (espressa in mesi): 24 mesi**

**Area tematica: Sicurezza Alimentare**

**Responsabile scientifico del progetto:**

Cognome: Virgilio

Nome: Sebastiano

Qualifica: Veterinario Dirigente, Responsabile Laboratorio di Ispezione Alimenti

Telefono 079- 2892334 Fax 079 - 2892324

E-mail: [sebastiano.virgilio@izs-sardegna.it](mailto:sebastiano.virgilio@izs-sardegna.it)

**ALLEGARE** - Curriculum vitae del responsabile scientifico.

Periodo di riferimento: ultimi 5 anni con indicazione anche delle 10 pubblicazioni scientifiche ritenute più significative, con particolare riferimento a quelle dell'area scientifica sulla quale insiste il progetto.

## **Sebastiano Virgilio**

Laureato in Medicina Veterinaria nell'a.a. 1985-86 presso l'Università degli Studi di Torino, ha conseguito le Specializzazioni universitarie in Microbiologia e Virologia (Fac. Medicina e Chirurgia Univ. Sassari, a.a. 1995-96) e in Ispezione e Controllo degli Alimenti di O.A. (Fac. Med. Veterinaria Univ. Sassari, a.a. 1999-2000) e i Perfezionamenti universitari in Ittiopatologia e Controllo sanitario dei prodotti della pesca (Fac. Med. Vet. Univ. Sassari, 1997) e in Diritto, legislazione e Sanità pubblica veterinaria (Fac. Med. Vet. Univ. Sassari, 2002).

E' attualmente Responsabile del Laboratorio di Ispezione degli Alimenti di O.A. presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna in Sassari. Dal 1997 a tutt'oggi è stato responsabile scientifico e di unità operativa di 35 Progetti di Ricerca corrente e finalizzata inerenti la Sicurezza alimentare approvati e finanziati dal Ministero della Salute. Autore di circa 80 pubblicazioni inerenti la sicurezza alimentare su riviste nazionali e internazionali.

### Elenco pubblicazioni attinenti

- Nives M.R., Mele P., Parisi A., Latorre L., **Virgilio S.**, and Tola S. “*Molecular typing of Listeria monocytogenes isolated from ovine sausage*”. ISOPOL XVII International Symposium on Problems of listeriosis –Book of abstracts p. 106, Porto 5-8 maggio 2010
- Mele P., Rosa M.N., Pisanu M., Mula G., Cogoni P., Tola S., **Virgilio S.** “Alimenti trasformati di origine ovina: acquisizione di elementi utili per la valutazione del rischio da agenti batterici di zoonosi e caratterizzazione molecolare”. Atti XIII Congresso nazionale S.I.di.L.V. Trani (BA), 12-14/10/2011;
- P.Mele, G.Piras, M.N.Rosa, G.Terrosu, S.Tola, **S.Virgilio** (2012) “Application of a HACCP plan to control *Listeria monocytogenes* in traditional fermented sardinian ovine sausage “. Atti Kausal 2012 - 05 International Congress OWN-CHECKS and FOOD SAFETY", Barcellona 17-19 Ottobre 2012;
- Mele P., Marongiu E., Piras G., Delogu A., Noli A.C., Coppa G., **Virgilio S.** (2013) “Dinamica di comportamento di *Salmonella spp.* nella salsiccia suina sarda stagionata mediante *Microbial Challenge Test* di processo, nota 1”. Atti XXIII Convegno Nazionale Associazione Italiana Veterinari Igienisti (A.I.V.I.), Roma 12-14 giugno;
- Mele P., Marongiu E., Piras G., Porqueddu G., Terrosu G., Coppa G., **Virgilio S.** (2013) “Dinamica di comportamento di *Salmonella spp.* nella salsiccia suina sarda stagionata mediante *Microbial Challenge Test* di processo, nota 2”. Atti XXIII Convegno Nazionale Associazione Italiana Veterinari Igienisti (A.I.V.I.), Roma 12-14 giugno;
- Mele P., Marongiu E., Piras G., Delogu A., Noli A.C., Coppa G , **Virgilio S.** “*DINAMICA DI COMPORTAMENTO DI SALMONELLA SPP. NELLA SALSICCIA SUINA SARDA STAGIONATA MEDIANTE MICROBIAL CHALLENGE TEST DI PROCESSO : Nota 1 - Studio preliminare di definizione standard di prodotto e di processo*”. XV CONGRESSO

NAZIONALE S.I.Di.L.V. (Società Italiana di diagnostica di Laboratorio Veterinaria),  
Monreale (PA), 23-25 ottobre 2013

- Mele P., Marongiu E., Piras G., Porqueddu G., Terrosu G., Coppa G., **Virgilio S.**  
“*DINAMICA DI COMPORTAMENTO DI SALMONELLA SPP. NELLA SALSICCIA SUINA SARDA STAGIONATA MEDIANTE MICROBIAL CHALLENGE TEST DI PROCESSO: Nota 2 – Fase sperimentale*”. XV CONGRESSO NAZIONALE S.I.Di.L.V. ( Società Italiana di diagnostica di Laboratorio Veterinaria) Monreale (PA), 23-25 ottobre 2013
- P. Mele, E. Marongiu, G. Piras, E. Mura, M. L. Rossi, G. Coppa, **S. Virgilio**  
(2013) “*Dinamica di comportamento di Salmonella spp. nella salsiccia suina sarda stagionata mediante Microbial Challenge Test di processo*”. INDUSTRIA CONSERVE  
Quaderno tecnico “Validazione del processo produttivo di salame tradizionale italiano nei confronti di Salmonella spp. “Report N° 4 - 2013 p 21 – 31
- P. Mele, A. Mudadu, G. Piras, M.N. Rosa, S. Tola, **S. Virgilio** (2014) “Control of *Listeria monocytogenes* in traditional fermented sardinian ovine sausage”. 3 EAVLD CONGRESS  
Pisa 12-15 Ottobre 2014

- **Descrizione complessiva del progetto**

Formulare una sintesi del progetto

Dovranno essere chiaramente esplicitati:

1. Breve sintesi delle conoscenze già disponibili sull'argomento;
2. Quali nuove conoscenze/informazioni il progetto si prefigge di produrre;
3. Metodologia;
4. Descrizione dei criteri di trasferibilità e di diffusione dei prodotti e dei risultati da conseguire;
5. Valore aggiunto dell'aggregazione tra soggetti diversi che partecipano al progetto;
6. Output del programma (es. documenti; metodologie; corsi di formazione, attivazione di servizi, etc.) con indicazione dei tempi previsti per la presentazione;
7. Obiettivi e indicatori per la verifica dei risultati raggiunti.

## 1. Breve sintesi delle conoscenze già disponibili sull'argomento;

Gli alimenti *ready to eat* (RTE) dal Regolamento CE 2073/2005 e s.m. sono definiti come :

**Prodotti alimentari destinati dal produttore o fabbricante al consumo umano diretto, senza che sia necessaria la cottura o altro trattamento per eliminare o ridurre a un livello accettabile i microrganismi presenti” (1)**

Questi alimenti, grazie alle loro caratteristiche di freschezza e praticità d'uso, stanno acquisendo nel panorama alimentare nazionale e internazionale un ruolo sempre più importante (2) e un crescente interesse da parte dei ricercatori del settore alimentare.

Gli alimenti RTE infatti per le loro caratteristiche fisico-chimiche e le modalità di conservazione sono in grado di permettere la sopravvivenza e lo sviluppo di vari microrganismi potenzialmente patogeni (*Campylobacter spp.*, *E. coli O 157 H7*, *Staphylococcus aureus*, Stafilococchi coagulasi negativi, *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*, *Salmonella spp.*, *Clostridium spp.*) (3) (4) (5) (6), tra i quali assume un ruolo di primo piano *Listeria monocytogenes* (6), in considerazione della gravità delle conseguenze dell'infezione e dell'elevato tasso di mortalità.

La *Listeria monocytogenes* è un bacillo Gram- positivo, mobile a 20-25°C, asporigeno, aerobio e anaerobio facoltativo; sulla base degli antigeni somatici e flagellari è attualmente suddiviso in 13 sierotipi (7) inclusi in 4 linee genetiche (I,II,III,IV) (8).

Come è noto, è un microrganismo psicrotrofo in grado di replicarsi a temperature di refrigerazione (7), presenta un'elevata resistenza agli agenti fisico-chimici e nell'ambiente può permanere per lunghi periodi di tempo (9).

La *Listeria monocytogenes* è un patogeno opportunista che colpisce più frequentemente alcune categorie di persone, quali pazienti sottoposti a terapia immunosoppressiva, soggetti immunocompromessi, donne in gravidanza, anziani e bambini.

Le forme cliniche di listeriosi possono essere distinte in 2 categorie: invasiva e non invasiva. Quest'ultima è caratterizzata da sintomi gastroenterici con diarrea, febbre, cefalea e mialgia, con periodo di incubazione breve. Le principali forme di listeriosi invasive sono 3: meningoencefalica, granulomatosi settica e listeriosi neonatale.

La listeriosi nell'uomo è dovuta principalmente al consumo di prodotti alimentari contaminati (6) e il microrganismo è stato isolato in molti alimenti di origine animale (latte, formaggi, carne, prodotti a base di carne e prodotti della pesca) e dagli ambienti di lavorazione (9). Nei prodotti cotti la contaminazione può avvenire dopo il trattamento termico o essere la conseguenza di un trattamento risanante inadeguato (6).

Gli alimenti RTE rappresentano un ottimo substrato per la *Listeria monocytogenes* dal momento che hanno, in genere, una prolungata *shelf-life* a temperatura di refrigerazione e vengono consumati tal quali senza subire alcun trattamento risanante (9).

La listeriosi di origine alimentare risulta essere una patologia rara ma grave, con un tasso di mortalità intorno al 20- 30%. Per la sua incidenza e la sua gravità presenta un impatto economico e sociale fra i più alti fra le malattie di origine alimentare (9).

Nell'Unione Europea nel 2012 sono stati riportati 1.642 casi di listeriosi umana, con un incremento del 10,5% rispetto al 2011. Sono riportati 0,41 casi ogni 100.000 abitanti e i Paesi membri più colpiti sono stati la Finlandia, la Spagna e la Danimarca (6).

Dall'ultimo report EFSA relativo all'anno 2013 emerge che nei 27 Stati membri sono stati registrati 1.763 casi umani confermati di listeriosi. Il tasso di notifica UE è stato di 0,44 casi per 100.000 abitanti, che rappresenta un aumento dell'8,6% rispetto al 2012. Sono stati segnalati 191 decessi dovuti a listeriosi, con la Francia che ha registrato il numero più alto (64 casi). Il tasso di letalità UE è del 15,6% .

Questi dati risultano particolarmente allarmanti in quanto le infezioni da *Listeria monocytogenes* notificate sono per lo più forme gravi, invasive della malattia con tassi di mortalità più elevati rispetto alle altre malattie a trasmissione alimentare. L'aumento del numero dei casi è fonte di grande preoccupazione proprio perché tale infezione si contrae attraverso i cibi RTE (10).

Il **Reg. (CE) n. 2073/2005** stabilisce i criteri microbiologici per taluni microrganismi negli alimenti e le norme di attuazione da rispettare per gli operatori del settore alimentare (OSA).

Nei prodotti RTE diversi da quelli destinati ai lattanti e ai fini medici speciali si valuta la capacità del prodotto alimentare di sostenere la crescita di questo microrganismo.

Negli alimenti RTE che *non costituiscono* terreno favorevole per la crescita di *Listeria monocytogenes* i livelli non devono essere superiori a 100 ufc/g per l'intera *shelf life* del prodotto (n=5 c=0). Appartengono a questa categoria i prodotti con  $\text{pH} \leq 4,4$  o  $a_w \leq 0,92$  e i prodotti con  $\text{pH} \leq 5,0$  e  $a_w \leq 0,94$  e i prodotti con conservabilità inferiore ai 5 giorni.

Negli alimenti RTE che *costituiscono* terreno favorevole per la crescita di *Listeria monocytogenes* questo microrganismo non deve essere presente in 25 g di prodotto (n=5) prima che i prodotti alimentari non siano più sotto il controllo diretto dell'OSA che li produce.

Tuttavia, se il produttore può dimostrare in modo soddisfacente per l'autorità competente che il microrganismo non supererà il limite di 100 ufc/g durante il periodo di conservabilità (n=5, c=0), ci si può attenere a questo valore per l'intera *shelf-life* del prodotto.

L'aspetto innovativo della normativa risiede nel fatto che l'OSA:

- è responsabile della sicurezza dei prodotti alimentari che immette sul mercato;
- deve rispettare i criteri microbiologici previsti per alcuni alimenti RTE, sulla base di giustificazioni scientifiche che siano perfettamente coerenti con le caratteristiche del processo produttivo;
- deve essere in grado di garantire il mantenimento del controllo del processo di produzione in qualsiasi momento del processo produttivo;
- può effettuare studi, in conformità all'allegato II (art. 3), per verificare che i criteri microbiologici siano rispettati per tutto il periodo di conservabilità.

Gli studi di cui **all'articolo 3, paragrafo 2**, comprendono:

prove per determinare le caratteristiche fisico-chimiche del prodotto, quali pH,  $a_w$ , 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.

Se necessario, in base agli studi summenzionati, l'operatore del settore alimentare effettua studi ulteriori, che possono comprendere.

— **modelli matematici** predittivi stabiliti per il prodotto alimentare in esame, utilizzando fattori critici di sviluppo o di sopravvivenza per i microrganismi in questione presenti nel prodotto,

— **prove** per determinare la capacità dei microrganismi in questione, debitamente inoculati, di svilupparsi o sopravvivere nel prodotto in diverse condizioni di conservazione ragionevolmente prevedibili,

— **studi** per 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.

La **Microbiologia Predittiva** è la branca della microbiologia degli alimenti che si occupa dello sviluppo di modelli matematici in grado di prevedere la crescita e l'inattivazione dei microrganismi in condizioni ambientali note, la cui importanza, per la valutazione del rischio microbiologico e l'ottimizzazione dei processi dell'industria alimentare, è ormai indiscussa e riconosciuta anche dalla normativa comunitaria.

Gli alimenti infatti possono essere considerati degli **ecosistemi in divenire**, in quanto le relazioni che intercorrono tra le loro caratteristiche e le popolazioni microbiche in essi presenti sono influenzate da fattori (quali, ad esempio, pH,  $a_w$ , potenziale di ossido-riduzione, presenza o assenza di ossigeno, temperatura di conservazione, umidità relativa dell'ambiente, biocompetizione, ecc..) che possono cambiare nel corso della vita del prodotto.

I **microbial challenge test (MCT)** hanno lo scopo di fornire informazioni sul comportamento, in determinate condizioni di conservazione, di un microrganismo inoculato artificialmente in un alimento. Possono tener conto della variabilità dei prodotti alimentari e della contaminazione specifica degli stessi. E' disponibile una ricca produzione bibliografica che fa riferimento a MCT sia in ambito extraeuropeo (13) (14) (15) che in ambito europeo (12) (7).

Le linee guida europee emanate dall'**AFSSA** attraverso **EURL Lm** attualmente esistenti fanno riferimento esclusivamente a *Listeria monocytogenes*.

**AFSSA and CRL *L. monocytogenes*, EURL Lm Technical guidance document document for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods, Version 2- 14 November 2008**

Questo documento tecnico di orientamento fornisce indicazioni su come selezionare, implementare ed eseguire un MCT e sulle modalità di redazione del report finale. Esso descrive infatti le procedure microbiologiche per determinare la crescita di *Listeria monocytogenes* utilizzando un MCT nel quadro applicativo del Regolamento (CE) n. 2073/2005.

Il documento prevede la possibilità di effettuare:

- la valutazione del Potenziale di Crescita di *Listeria monocytogenes* nell'alimento
- la stima del tasso di crescita massimo

Questo documento fornisce inoltre suggerimenti su come implementare ed eseguire studi di durabilità, che consentono una valutazione della *shelf-life* degli alimenti per quanto riguarda la *Listeria monocytogenes* in un alimento naturalmente contaminato durante lo stoccaggio in base alle condizioni ragionevolmente prevedibili (12).

In risposta alle sempre crescenti esigenze espresse dagli Stati membri dell'UE e per via delle difficoltà e criticità riscontrate nell'applicazione rigorosa delle linee guida emanate nel 2008, nel giugno 2014 sono state emanate da parte dell'**ANSES** attraverso l'**EURL Lm** le nuove linee guida europee.

**ANSES, EURL Lm TECHNICAL GUIDANCE DOCUMENT for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods, Version 3- 6 June 2014**



In letteratura scientifica infatti sono stati descritti MCT su diverse matrici alimentari (prodotti a base di carne, prodotti della pesca, derivati del latte, vegetali) condotti utilizzando metodiche differenti. Pertanto, nonostante la normativa europea consenta l'utilizzo di questa letteratura per stimare la capacità di crescita della *Listeria monocytogenes* su alcuni prodotti alimentari, questo comporta la **mancanza di un approccio armonizzato**. Inoltre, molti risultati ottenuti con MCT appartengono agli OSA e non sono generalmente resi pubblici e fruibili, generando un vuoto di informazione e conoscenza. Le linee guida di recente pubblicazione pur non definendo con precisione la metodologia da seguire in alcune fasi (fase di inoculazione nel prodotto alimentare), garantiscono comunque un approccio più armonizzato e il confronto dei risultati ottenuti nei vari laboratori risulta più semplice.

In Europa, ad esempio, solamente la Francia dispone di una rete di laboratori accreditati di MCT per *Listeria monocytogenes*. Questi laboratori sono accreditati da un gruppo di lavoro costituito da autorità competente e dal laboratorio nazionale di riferimento per *Listeria monocytogenes* (NRL) che attraverso un audit valuta le capacità tecniche del laboratorio anche attraverso test interlaboratorio per *Listeria monocytogenes*.

Nei Paesi dove non è presente una procedura di MCT armonizzata, invece, si assiste a una **mancanza di coordinamento tra Autorità competente, OSA e Laboratori** e si riscontra un'interpretazione "flessibile" del documento di orientamento tecnico e della adeguata categorizzazione dei prodotti RTE in grado di supportare la crescita di *Listeria monocytogenes*.

L'ente italiano unico di accreditamento **ACCREDIA**, tra l'altro, si è espresso solamente in merito all'applicazione delle linee guida AFSSA EU CRL for *Listeria monocytogenes* Vers 2 2008:

.....13 marzo 2013, il Comitato Settoriale di Accreditamento dei Dipartimenti laboratori di prova e laboratori di prova per la sicurezza degli alimenti ha deliberato, riguardo ai test in oggetto, le seguenti decisioni:

**Alimenti e bevande:** sono accreditabili le prove microbiologiche per determinare la crescita di *L. monocytogenes* su prodotti pronti (RTE) utilizzando challenge test e studi di conservabilità nel quadro dell'applicazione del Regolamento (CE) n. 2073/2005 a condizione che il laboratorio:

- applichi il protocollo definito nel documento "AFSSA - EU Community Reference laboratory for *Listeria monocytogenes*";
- utilizzi per la ricerca di *Listeria monocytogenes* il metodo EN ISO 11290-2 accreditato. E' accettabile l'uso di metodi di analisi alternativi quando tali metodi sono validati rispetto al metodo di riferimento e, se è utilizzato un metodo proprietario, certificato da una terza parte in base al protocollo definito nella norma EN/ISO 16140 o ad altri standard accettati a livello internazionale (Rif. Reg. 2073/2005 e s.m.i. art. 5).
- riporti le informazioni previste dal documento AFSSA nei par. "Test report " (2.2.10 / 3.2.11/ 4.5) nell'apposito capitolo del rapporto di prova "Pareri ed interpretazioni - non oggetto dell'accREDITAMENTO ACCREDIA".

Matrice	Determinazione	Metodo
Alimenti pronti al consumo (RTE)	<i>Listeria monocytogenes</i> (challenge test)	AFSSA EU CRL for <i>Listeria monocytogenes</i> Vers 2 2008 - cap 2 o 3
Alimenti pronti al consumo (RTE)	<i>Listeria monocytogenes</i> (test di durabilità)	AFSSA EU CRL for <i>Listeria monocytogenes</i> Vers 2 2008 - cap 4

La realizzazione di reti nazionali (**networks**) e reti di Laboratori accreditati contribuirebbe a creare delle basi per una migliore applicazione delle linee guida europee (6).

Anche in Italia si assiste alla necessità di redigere delle procedure che possano fungere da supporto per l'adeguata elaborazione di documenti da parte dei vari attori coinvolti.

Questo aspetto è stato recepito dagli II.ZZ.SS. che in vario modo e, con particolare e recente attenzione, stanno focalizzando gli sforzi in questo campo.

Specificamente, questo tema è stato sviluppato nell'ambito della Ricerca Corrente **RC IZSLER 12/12** (17), ancora in esecuzione.

Nel corso di questa attività è stata inoltrata nel giugno del 2015, alla attenzione del Ministero della Salute, una proposta di costituzione di un Gruppo Tecnico per la valutazione degli studi di *shelf-life* di cui all'articolo 3, punto 2 del Regolamento CE 2073/2005 e s.m.i..

Il Gruppo Tecnico, coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità e formato dai rappresentanti delle unità operative degli II.ZZ.SS. coinvolti nella ricerca corrente PRC IZSLER 12/12, dovrebbe avere il compito di valutare gli studi condotti da Laboratori pubblici e privati per conto degli OSA.

Secondo questa proposta il Gruppo Tecnico emetterebbe documenti/linee guida, destinati sia ai Laboratori pubblici e privati che conducono gli studi per conto degli OSA, sia alle strutture del SSN che hanno il compito di valutare tali studi, al fine di rendere omogenea la conduzione degli studi stessi, l'interpretazione e la gestione dei risultati. In particolare, tali documenti/linee guida sarebbero finalizzati anche alla conduzione degli studi diversi da quelli per *Listeria monocytogenes* e all'interpretazione e gestione dei risultati per i quali al momento non sono stati emessi protocolli condivisi.

Tale attività troverebbe, quale punto di raccolta e divulgazione delle informazioni, il sito del Ministero della Salute [www.ars-alimentaria.it](http://www.ars-alimentaria.it).

L'applicazione di **criteri comuni** da parte del Gruppo Tecnico nella valutazione degli studi sarebbe inoltre garantita dalla predisposizione di schede di valutazione. Il Gruppo Tecnico valuterebbe solo gli studi richiesti dall'Autorità competente e non direttamente dagli OSA (17).

Inoltre, con la ricerca **IZS SA 02/12 RC** (ancora in esecuzione) l'IZS Sardegna partecipa, insieme alla rete degli II.ZZ.SS., che hanno presentato ricerche analoghe, all'implementazione del sistema informativo ARS ALIMENTARIA (19) e ComBase (20).

ARS ALIMENTARIA come applicativo acquisito dal Ministero della Salute, rappresenta l'elemento fondamentale per la costruzione di un sistema di garanzia di sicurezza alimentare, nel quale confluiscono tutte le informazioni utili alla categorizzazione dei prodotti nazionali, verifica dei processi, documentazione delle informazioni di sicurezza come contemplate dalla normativa comunitaria; ComBase come strumento in linea con i fondamenti della Microbiologia Predittiva che si basa su Database strutturati e organizzati in modo sistematico e Modelli matematici (18).

## Bibliografia

(1) Regolamento (CE) n. 2073/2005 DELLA COMMISSIONE del 15 novembre 2005 **sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari**, Gazzetta ufficiale dell'Unione Europea, L 338

(2) Martin B., Perich A., Gomez D., Yangüela J., Rodriguez A., Garriga M., Aymerich T., **Diversity and distribution of *Listeria monocytogenes* in meat processing plant**, Food Microbiology 44, (2014), 119-127

(3) Chajacka-Wierzchowska W., Zadernowska A., Nalepa B., Sierpinska M., Łaniewska-Trokenheim L., **Coagulase-negative Staphylococci (CoNS) isolated from ready to eat food of animal origin- phenotypic and genotypic antibiotic resistance**, Food Microbiology 46, (2015), 222-226

- (4) Pesavento G., Calonico C., Ducci B., Magnanini A., Lo Nostro A., **Prevalence and antibiotic resistance of *Enterococcus spp.* Isolated from retail cheese, ready to eat salads, ham and raw meat**, Food Microbiology 41, (2014), 1-7
- (5) Akbar A., Kumar Anal A., **Zinc oxidase nanoparticles loaded active packaging, a challenge study against *Salmonella tiphimurium* and *Staphylococcus aureus* in ready to eat poultry meat**, Food Control 38, (2014), 88-95
- (6) Alvarez- Ordóñez A., Leong D., Hickey B., Beaufort A., Jordan K., **The challenge of challenge testing to monitor *Listeria monocytogenes* growth on ready- to- eat foods in Europe by following the European Commission (2014) Technical Guidance document**, Food Reaserch International 75, (2015), 233-243
- (7) ANSES, EURL Lm **TECHNICAL GUIDANCE DOCUMENT for conducting *shelf-life* studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods**,Version 3- 6 June 2014
- (8) Orsi R. H., den Bakker H. C., Wiedmann M., ***Listeria monocytogenes* lineages: Genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics**, International Journal of Medical Microbiology 301 (2011) 79–96
- (9) Nuvoloni R., Pedonese F., D'Ascenzi C., Rindi S., **La valutazione del rischio da *Listeria monocytogenes* in alimenti pronti al consumo**,(2007)
- <http://www.researchgate.net/publication/31592947>
- (10) EFSA and ECDC, **The European Union summary report, Trends and sources of zoonoses, zoonotic agent and food-borne outbreaks in 2013**, EFSA Journal 2015; 13(1): 3991
- (11) Gardini F. e Parente E., **Manuale di microbiologia predittiva**, maggio 2013, Springer
- (12) AFSSA and CRL *L. monocytogenes*, **EURL Lm Technical guidance document document for conducting *shelf-life* studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to eat foods**, Version 2- 14 November 2008
- (13) Health Canada, ***Listeria monocytogenes* challenge testing of refrigerated ready-to-eat foods**,[http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/legislation/pol/listeria\\_monocytogenes\\_test\\_eng.php](http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/legislation/pol/listeria_monocytogenes_test_eng.php)
- (14) Health Canada, ***Clostridium botulinum* challenge testing of ready-to-eat foods**, 24 november 2010, <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/legislation/pol/sop-cbot-eng.php>
- (15) Food standards Australia New Zeland, **Guidance on the application of microbiological criteria for *Listeria monocytogenes* in RTE food**,  
<http://www.foodstandards.gov.au/code/proposals/Documents/P1017-ListeriaMicro-2CFS->
- (16) [http://www.accredia.it/context\\_extsearch.jsp?ID\\_LINK=745&area=55](http://www.accredia.it/context_extsearch.jsp?ID_LINK=745&area=55)
- (17) Progetto di Ricerca corrente IZS LER 12/12 RC “ **Sviluppo e validazione di modelli matematici di microbiologia predittiva per la documentazione scientifica della sicurezza igienico sanitaria dei prodotti tradizionali italiani**”
- (18) Progetto di Ricerca corrente IZS SA 02/12 RC “**Documentazione delle caratteristiche di qualità e sicurezza dei prodotti alimentari della Sardegna**”
- (19) [www.ars](http://www.arsalimentaria.it) alimentaria.it
- (20) [www.ComBase.cc](http://www.ComBase.cc)

## **2. Quali nuove conoscenze/informazioni il progetto si prefigge di produrre;**

- Acquisizione di competenze, attraverso lo studio della documentazione bibliografica più recente, sulla corretta applicazione di linee guida internazionali e europee applicabili presso l'IZS Sardegna
- Acquisizione di competenze attraverso il confronto, su queste tematiche, con analoghi gruppi di lavoro nell'ambito di altri II.ZZ.SS. e I.S.S.
- Perfezionamento nella gestione tecnico-operativa delle attività laboratoristiche necessarie nella fase attuativa sperimentale
- Perfezionamento nella gestione tecnico-operativa delle attività inerenti l'elaborazione dei risultati
- Perfezionamento nella gestione tecnico operativa dell'utilizzo di software di Microbiologia predittiva in particolare di ComBase
- Perfezionamento nella gestione tecnico-operativa delle attività inerenti l'inserimento dei dati in banche dati di Microbiologia predittiva nazionali e internazionali –Ars Alimentaria e ComBase

## **3. Metodologia;**

- Redigere procedure operative e procedure tecniche da inserire nel Sistema Qualità dell'IZS Sardegna relative alla dinamica di sviluppo di *Listeria monocytogenes* in RTE (WP 1)
- Redigere procedure operative e procedure tecniche da inserire nel Sistema Qualità dell'IZS Sardegna relative alla dinamica di sviluppo di altri agenti zoonosici in alimenti RTE sotto forma di “modello base” utilizzabile in diverse sperimentazioni aventi come oggetto patogeni diversi da *Listeria monocytogenes* (WP 1)
- Applicazione delle procedure operative e tecniche redatte attraverso lo studio della dinamica di comportamento della *Listeria monocytogenes*, della flora lattica e dei parametri fisico-chimici durante il processo di trasformazione con anche l'obiettivo di evidenziare eventuali criticità utilizzabili in fase di revisione della documentazione (WP2)
  - ✓ Stesura protocollo sperimentale in linea con le procedure redatte
  - ✓ Selezione e preparazione delle sospensioni batteriche costituenti l'inoculo
  - ✓ Contaminazione artificiale della materia prima
  - ✓ Pianificazione del piano di campionamento
- Elaborazione dei risultati ottenuti (WP3)
- Inserimento dei risultati ottenuti in banche dati di Microbiologia predittiva nazionali e internazionali (WP4)
- Operazione di divulgazione e disseminazione dei risultati (WP5)

#### **4. Descrizione dei criteri di trasferibilità e di diffusione dei prodotti e dei risultati da conseguire;**

- I risultati ottenuti nel presente progetto permetteranno di ampliare le competenze interne sulla corretta applicazione delle linee guida internazionali ed europee in argomento e la loro diretta fruibilità attraverso il SQ dell'Ente;
- I risultati ottenuti porteranno a un perfezionamento della gestione tecnico-operativa nell'elaborazione dei dati e nell'inserimento degli stessi in banche dati di Microbiologia predittiva nazionali e internazionali;
- I risultati saranno divulgati attraverso la partecipazione e la comunicazione di lavori in convegni scientifici, seminari, giornate a tema e attraverso la pubblicazione su riviste scientifiche, sito istituzionale dell'IZS Sardegna, Ars Alimentaria e ComBase.

#### **5. Valore aggiunto dell'aggregazione tra soggetti diversi che partecipano al progetto;**

- Il progetto è caratterizzato dalla azione sinergica e integrata di diverse componenti professionali (Medici Veterinari, Biologi, Informatici) dell'I.Z.S. della Sardegna, degli altri IZS, dell'I.S.S. e dei Centri di Referenza nazionale CRESA e LNR per *Listeria monocytogenes* caratterizzate, ciascuna nel proprio ambito, da elevata specializzazione tecnico-scientifica (esperti nel campo della sicurezza alimentare, della batteriologia alimentare, della microbiologia predittiva, del Sistema Qualità e delle Banche dati). Il lavoro fra i partecipanti di diverse professionalità, appartenenti a Enti di ricerca diversi, rappresenta un momento di attività integrata, secondo quanto dettato dalle più moderne modalità di lavoro in equipe.

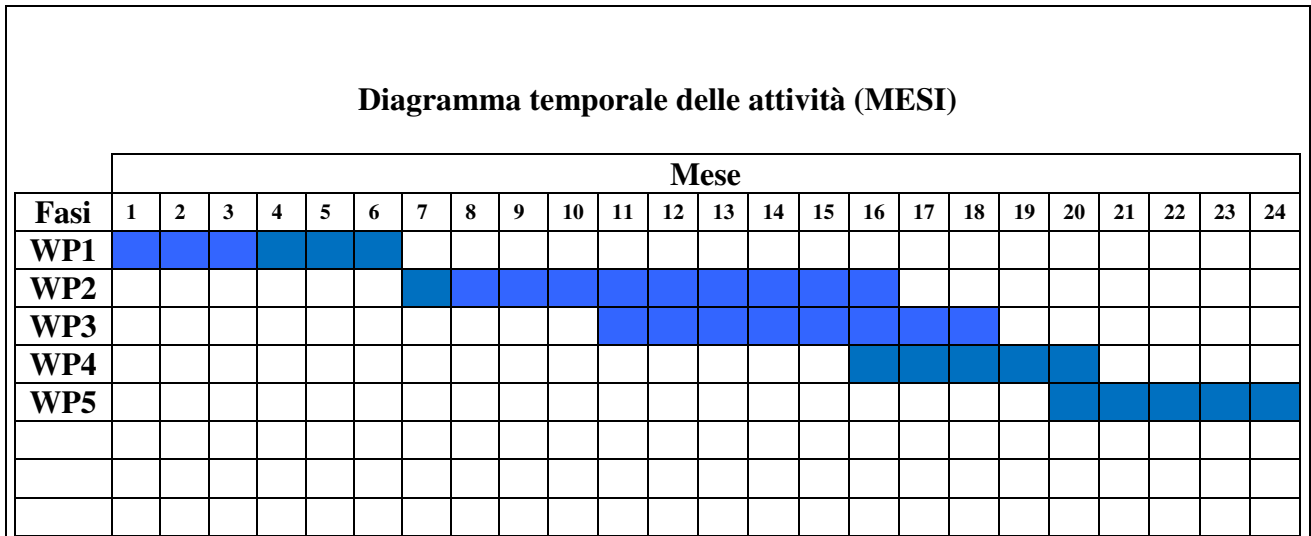
#### **6. Output del programma (es. documenti; metodologie; corsi di formazione, attivazione di servizi, etc.) con indicazione dei tempi previsti per la presentazione;**

- Produzione di Procedure Tecniche e Procedure operative relative alla dinamica di comportamento di *Listeria monocytogenes* e altri microrganismi zoonosici nel corso di MCT utilizzabili dal personale dell'Ente
- Fornitura di servizi di consulenza sull'argomento a soggetti esterni;
- Allestimento di percorsi formativi teorico-pratici sull'argomento per utenza interna ed esterna
- Inserimento dei risultati ottenuti in banche dati di Microbiologia predittiva nazionali e internazionali.

#### **7. Obiettivi e indicatori per la verifica dei risultati raggiunti.**

- Relazione intermedia al termine della prima annualità
- Relazione finale del lavoro
- Divulgazione dei dati mediante pubblicazioni su riviste scientifiche e sul sito dell'Ente
- Disponibilità dei risultati ottenuti all'interno di banche dati di Microbiologia predittiva

## Cronogramma del progetto (Max.1 pagina)



WP1: redazione PO e PT per *Listeria monocytogenes*

WP2: applicazione PO e PT su studio dinamica di comportamento di *Listeria monocytogenes*

WP3: elaborazione risultati

WP4: inserimento risultati in banche dati di Microbiologia predittiva nazionali e internazionali

WP5: divulgazione risultati

**Tabella n. 1 (compilare solo per la voce “Borse di Studio”)**

**Titolo del progetto:**

**Durata del progetto** (24 mesi):

**Responsabile scientifico** Cognome

Nome

VOCE DI SPESA	Importo	Descrizione
Borsa di studio		Veterinario con Specializzazione in Ispezione degli Alimenti

Firma del Responsabile Scientifico del progetto

Firmato : Dr. Sebastiano Virgilio