

**UN MODELLO DI MICROBIOLOGIA PREDITTIVA  
PER LA STIMA DELLA CRESCITA DI  
LISTERIA MONOCYTOGENES NELLA RICOTTA FRESCA**

**ERICA TIRLONI**

Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la  
Sicurezza Alimentare (VESPA) - Università degli Studi di Milano

# VALUTARE LA CRESCITA MICROBICA



**CHALLENGE TESTS,  
STUDI DI SHELF-LIFE**



**RISPOSTE ATTENDIBILI**

**COSTOSI/  
TIME CONSUMING**



**SOFTWARE DI  
MICROBIOLOGIA  
PREDITTIVA**



**RISPOSTE RAPIDE**

**BASSI COSTI**

# REG. (CE) 2073/2005 E S.M.

L 338/26

IT

Gazzetta ufficiale dell'Unione europea

22.12.2005

## ALLEGATO II

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,
- consultazione della letteratura scientifica disponibile e dei dati di ricerca sulle caratteristiche di sviluppo e di sopravvivenza dei microrganismi in questione.

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.

Gli studi summenzionati tengono conto della variabilità intrinseca in funzione del prodotto, dei microrganismi in questione e delle condizioni di lavorazione e conservazione.

Il regola

degli st

aliment

predittiva uno

di sicurezza

# INTRODUZIONE

## MODELLI DI MICROBIOLOGIA PREDITTIVA:



*PMP;  
Combase.*



*Gougouli et al., 2008*



*Augustin et al., 2005,*



*FSSP*



*Rosshaug et al., 2012*



*Augustin et al., 2005,*

## FOCUS



pH

umidità

sale

assenza di microflora naturale



### SCOPO DELLA RICERCA

- ✓ Sviluppo e la validazione di un modello di microbiologia predittiva specifico per ricotta
- ✓ Valutazione delle performance dei modelli già esistenti sul comportamento di *Listeria monocytogenes* in ricotta vaccina industriale
- ✓ Acidi organici: challenge test ad hoc con aggiunta di acido lattico/acetico/citrico



## MATERIALI E METODI

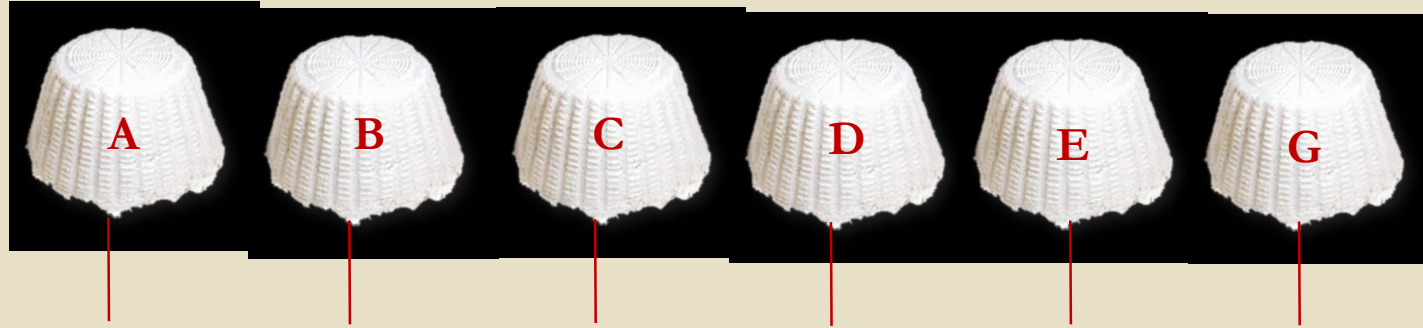
- ✓ 8 brand differenti di ricotta vaccina industriale
- ✓ 100-450 g
- ✓ 20-40 gg shelf-life
- ✓ Ottenute il giorno di produzione



*Contaminazione post processo*

# MATERIALI E METODI

## ✓ Sviluppo del modello:



**Caratterizzazione microbiologica e chimico-fisica:**  $a_w$ , acidi organici (citrico, lattico, acetico), umidità, sale, pH.

### **CHALLENGE TEST**

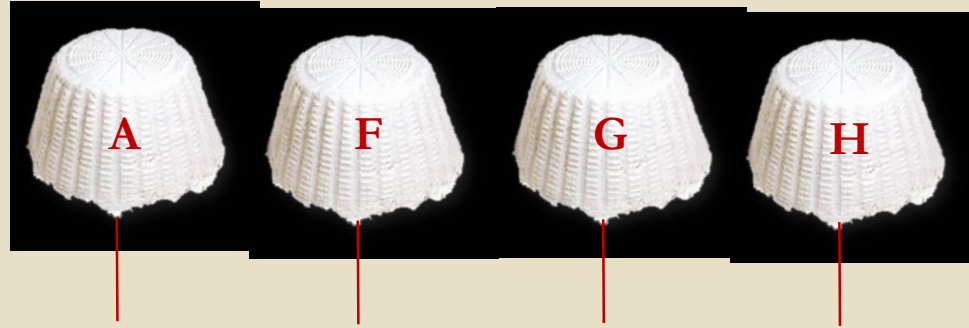
Mixture di 3 ceppi di *L. monocytogenes*  
(1 ATCC, 1 da outbreak, 1 da dairy)

Data-set #	Use of dataset	Average storage temperature (°C)	N. sampling	Temperature variability	Product brand code
1	Calibration	4.1	29	Static	A
2	Calibration	8.3	21	Static	C
3	Calibration	8.3	21	Static	E
4	Calibration	13.4	12	Static	D
5	Calibration	20.6	12	Static	B
6	Calibration	14.7	8	Static	G
7	Calibration	14.7	7	Static	G with added acetic acid

21 curve di crescita

# MATERIALI E METODI

✓ Validazione del modello: data set indipendenti dai precedenti



**Caratterizzazione microbiologica e chimico-fisica:**  $a_w$ , acidi organici (citrico, lattico, acetico), umidità, sale, pH.

## CHALLENGE TEST

Mixture di 3 ceppi di *L. monocytogenes*  
(1 ATCC, 1 da outbreak, 1 da dairy)

Data-set #	Use of dataset	Average storage temperature (°C)	N. sampling	Temperature variability	Product brand code
8	Validation	8.3	21	Static	A
9	Validation	10.3	20	Static	A
10	Validation	13.4	12	Static	A
11	Validation	14.7	8	Static	G with CIT
12	Validation	14.7	8	Static	G with LAC
13	Validation	20.6	12	Static	A
14	Validation	5.6	16	Dynamic 4-8 °C	F
15	Validation	5.6	16	Dynamic 4-8 °C	H
16	Validation	5.9	16	Dynamic 4-8 °C	A
17	Validation	13.5	14	Dynamic 12-16 °C	A
18	Validation	13.5	14	Dynamic 12-16 °C	G

54  
curve  
di  
crescita



## MATERIALI E METODI

### ✓ Valutazione concentrazioni minime di inibizione (MIC) di acido acetico, citrico e lattico nei confronti di *L. monocytogenes*

- ❑ Brand di ricotta con le più basse concentrazioni di acidi organici
- ❑ Sono stati prodotti campioni con diversi contenuti di acidi organici aggiungendo tre diverse quantità per ciascuno dei tre acidi
- ❑ Ciascuno dei tre acidi organici è stato aggiunto ottenendo una concentrazione finale
- ❑ Il pH è stato corretto a 5,0-5,1 con HCl/NaOH, al fine di ottenere una quantità massima indissociata di acido organico.

<b>acido acetico</b>	<b>acido lattico</b>	<b>acido citrico</b>
37,03 mM	35,25 mM	1764,29 mM,
74,96 mM	110,97 mM	2802,76 mM,
173,11 mM	213,65 mM	3914,79 mM

# MATERIALI E METODI

- ✓ Valutazione concentrazioni minime di inibizione (MIC) di acido acetico, citrico e lattico nei confronti di *L. monocytogenes*

Data-set #	Use of dataset	Average storage temperature (°C)	N. of sampling	Temperature variability	Product brand code
19	Assess MIC	15.2	2	Static	G with added acetic acid
20	value for	15.2	2	Static	G with added acetic acid
21	acetic acid	15.2	2	Static	G with added acetic acid
22	Assess MIC	15.2	2	Static	G with added citric acid
23	value for	15.2	2	Static	G with added citric acid
24	citric acid	15.2	2	Static	G with added citric acid
25	Assess MIC	15.2	2	Static	G with added lactic acid
26	value for	15.2	2	Static	G with added lactic acid
27	lactic acid	15.2	2	Static	G with added lactic acid

*Undiss OA (Mejlholm and Dalgaard, 2009)*     undissociated organic acid (mM) =  $\frac{\text{Organic acid (mM)}}{1 + 10^{pH-pka}}$

*pKa 4.76, 3.13, and 3.86 per ACE, CIT e LAC, rispettivamente*

# MATERIALI E METODI

✓ Modelling - Modello Primario: **Barany-Roberts** (1994) → Excel Add-in Dmfit

$N_0$  (cfu/g)  
Lag time ( $\lambda$ , h)  
 $N_{max}$  (cfu/g)

✓ Modelling - Modello Secondario: **Gamma Type cardinal parameter secondary model**

*Cardinal parameter models rely on the gamma-concept where terms for the effect of environmental parameters are multiplied (Zwietering et al. 1992)*

## 1. T- dipendente

Ratkowsky-type temperature model

$$\mu_{max} = \mu_{ref\ 1} \cdot \left( \frac{T - T_{min}}{T_{ref} - T_{min}} \right)^2$$

Dove :

$T$  è la temperatura di stoccaggio(°C),

$T_{min}$  (°C) la temperatura minima teorica per la crescita di *L. monocytogenes*,

$T_{ref}$  (°C) la temperatura di riferimento di 25°C

$\mu_{ref\ 1}$  il tasso di crescita specifico massimo a  $T_{ref}$

## 2. T-pH- dipendente

Presser et al., (1997)

$$\mu_{max} = \mu_{ref\ 2} \cdot \left( \frac{T - T_{min}}{T_{ref} - T_{min}} \right)^2 \cdot (1 - 10^{(pH_{min} - pH)}) \cdot \xi$$

Dove:

$pH_{min}$  è il **pH** minimo teorico per la crescita di *L. monocytogenes*

$\xi$  interazione tra parametri ambientali (Le Marc et al., 2002)

# MATERIALI E METODI

## 3. Ricalibrato il modello esistente Mejlholm and Dalgaard (2009)

$$\mu_{\max} = \mu_{\text{ref}} * \gamma(\text{temp}) * \gamma(\text{pH}) * \gamma(a_w) * \gamma(\text{lactic acid}) * \gamma(\text{phenol}) * \gamma(\text{CO}_2) * \gamma(\text{diacetate}) * \gamma(\text{acetic acid}) * \gamma(\text{benzoic acid}) * \gamma(\text{citric acid}) * \gamma(\text{sorbic acid}) * \gamma(\text{nitrite}) * \zeta$$

$$\begin{aligned} \mu_{\max} = & \mu_{\text{ref}} \cdot \left[ \frac{(T - T_{\min})}{(T_{\text{ref}} + 2.83)} \right]^2 \cdot \frac{(a_w - 0.923)}{(1 - 0.923)} \cdot [1 - 10^{(4.97 - \text{pH})}] \\ & \cdot \left( 1 - \frac{[\text{LAC}_U]}{3.79} \right) \cdot \frac{(32.0 - P)}{32.0} \cdot \left[ \frac{(350 - \text{NIT})}{350} \right]^2 \\ & \cdot \frac{(3140 - \text{CO}_2 \text{ equilibrium})}{3140} \cdot \left( 1 - \sqrt{\frac{[\text{DAC}_U]}{4.8}} \right) \\ & \cdot \left( 1 - \sqrt{\frac{[\text{AAC}_U]}{10.3}} \right) \cdot \left( 1 - \frac{[\text{BAC}_U]}{0.35} \right) \\ & \cdot \left( 1 - \frac{[\text{CAC}_U]}{2.12} \right) \cdot \left( 1 - \frac{[\text{SAC}_U]}{1.90} \right) \cdot \zeta \end{aligned}$$

### 14 variabili

- Temperatura
- pH
- NaCl/water activity
- Fenoli
- CO2
- Acido acetico
- Acido benzoico
- Acido citrico
- Diacetato
- Acido lattico
- Acido sorbico
- Nitriti
- Interazione tra parametri



Food Spoilage and Safety Predictor (FSSP)



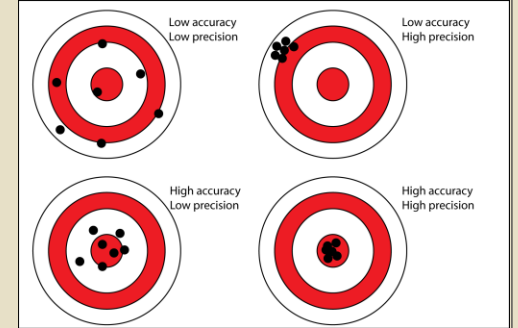
# MATERIALI E METODI

✓ Modelling – Valutazione performance:

□ Bias e Accuracy factor (valori osservati/predetti)

$0.95 < Bf < 1.11$	buone performance
$0.87-0.95 < Bf < 1.11-1.43$	performance accettabili
$0.87 < Bf \text{ o } > 1.43$	performance inaccettabili

Ross, 1999



□ ASZ (zona accettabile è  $\pm 0,5 \log$  ufc/g dei valori osservati dalla curva di crescita predetta).

ASZ: osservazioni > 70%

✓ Modelling – Valutazione altri modelli validati per *L. monocytogenes*: altri 10 modelli validati

# RISULTATI: CARATTERIZZAZIONE E MODELLO PRIMARIO

## ✓ Modelling - Modello Primario:

Data-set #	Product code	Temperature (°C) (AVG±SD)	pH (AVG±SD)	Moisture content (%) (AVG±SD)	WPS (%)	a <sub>w</sub>	Organic acid concentration in the water phase of the products (ppm) (AVG±SD)			μ <sub>max</sub> (h <sup>-1</sup> ; AVG±SD)	Lag time (h)	N <sub>max</sub> (log CFU g <sup>-1</sup> ; AVG±SD)
							Acetic acid	Citric acid	Lactic acid			
1	A	4.1±0.2	6.07±0.08	74.6±0.54	0.41	0.997	1,559±62	46,116±1,314	3,187±349	0.034±0.000	NS	8.62±0.02
2	C	8.3±0.2	6.52±0.08	78.7±0.19	0.20	0.998	1,210±241	32,536±3,308	2,425±471	0.077±0.001	NS	8.73±0.07
3	E	8.3±0.2	6.49±0.10	79.3±0.51	0.42	0.997	1,331±105	32,909±937	2,316±186	0.073±0.001	NS	8.62±0.04
4	D	13.4±0.2	6.22±0.07	82.1±0.87	0.37	0.998	921±301	30,820±13,875	3,878±794	0.162±0.005	NS	8.33±0.08
5	B	20.6±0.2	5.95±0.11	72.5±0.52	0.36	0.998	1,345±150	42,491±2,643	2,929±502	0.310±0.038	NS	8.30±0.02
6	G	14.7±0.1	6.61±0.06	77.5±0.30	0.60	0.996	660±14	14,774±245	< 69.4	0.197±0.012	NS	8.48±0.00
7	G	14.3±0.1	5.69±0.18	77.3±0.65	0.60	0.996	1,153±401	17,867±7029	641±411	0.156±0.107	59.2±37.4	7.58±1.39
8	A	8.3±0.2	6.15±0.07	75.5±0.53	0.41	0.997	1,513±96	36,119±1,750	3,270±300	0.064±0.001	NS	8.64±0.03
9	A	10.3±0.2	6.12±0.07	74.4±0.13	0.41	0.997	1,582±225	49,272±5,263	2,534±795	0.093±0.001	NS	8.54±0.06
10	A	13.4±0.2	6.14±0.12	75.0±0.35	0.41	0.997	2,021±74	49,351±2,850	4,004±136	0.150±0.004	NS	8.25±0.02
11	G	14.7±0.1	5.70±0.15	77.9±2.79	0.60	0.996	579±22	34,994±2296	396±199	0.168±0.003	NS	7.99±0.17
12	G	14.7±0.1	5.49±0.18	78.2±1.00	0.60	0.996	668±45	15,903±2787	4,146±1825	0.151±0.019	NS	7.85±0.08
13	A	20.6±0.2	6.05±0.14	75.0±0.35	0.41	0.997	1,725±221	46,779±5,446	3,414±587	0.320±0.099	NS	8.20±0.08
14	F	5.6±1.9	6.03±0.10	78.4±0.21	0.48	0.997	1,710±175	39,687±1,002	2,911±310	-	-	-
15	H	5.6±1.9	6.56±0.10	77.2±0.45	0.38	0.998	1,051±71	27,456±463	2,600±178	-	-	-
16	A	5.9±1.9	6.12±0.09	74.5±0.10	0.41	0.997	1,696±452	48,956±569	3,352±752	-	-	-
17	A	13.5±2.1	6.07±0.11	74.4±0.17	0.41	0.997	1,977±77	50,862±967	4,138±316	-	-	-
18	G	13.5±2.1	6.61±0.11	72.2±0.24	0.60	0.996	852±66	20,465±917	306±256	-	-	-

AL PH DEL PRODOTTO, IL 95-99% DELL'ACIDO ACETICO TOTALE, 99,9-100% DELL'ACIDO CITRICO TOTALE E 99,4-99,8% DELL'ACIDO LATTICO TOTALE SONO NELLA FORMA DISSOCIATA: LA MAGGIOR PARTE DEGLI ACIDI NON È EFFICACE NELL'INIBIZIONE DELLA CRESCITA DI LISTERIA



## RISULTATI: CARATTERIZZAZIONE E MODELLO PRIMARIO

*T0: gg produzione*

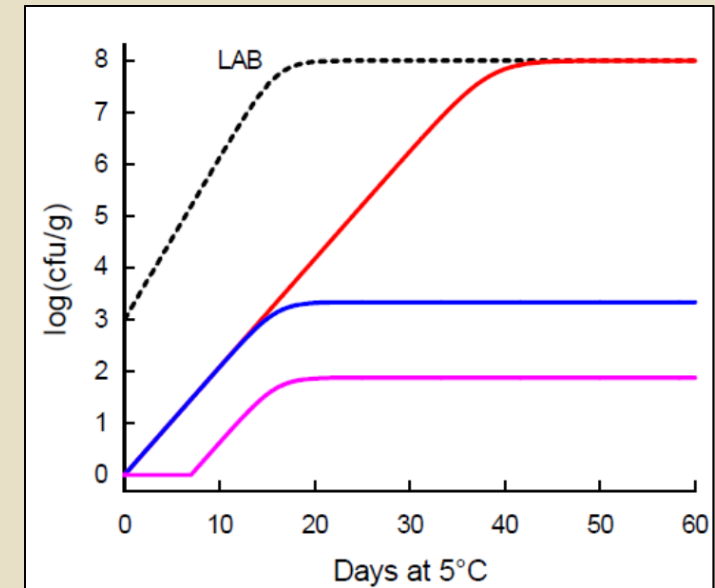
*T1: 1/2 shelf life*

*T2: fine shelf-life*

- CBT (T0) < 2.7 log ufc/g (37/42 < 2.0 log ufc/g)
- LAB (T0) < 2.0 log ufc/g
- CBT (T1) 2.0 - 3.5 log ufc/g in 4/8 brand (gli altri 4 brand < 2 log)
- CBT (T2) < 4.0 log ufc/g in tutti i brand
- LAB (T1) (T2) < 2.0 log ufc/g



$$\frac{dLAB}{dt} = \left( \frac{LAB_t}{LAB_{max}} \right)$$



*Giménez and Dalgaard (2004)*

# RISULTATI:

✓ Modelling – Valutazione modello sviluppato e di altri modelli validati per *L. monocytogenes*

**conservativi**

Reference/Software	Substrate	Variables included	Bf	Af
PMP (aerobic) (USDA, 2013)	Broth	T, pH, NaCl, (NIT)	1.86	1.86
PMP (anaerobic) (USDA, 2013)	Broth	T, pH, NaCl, (NIT)	2.01	2.01
Combase (2012)	Broth/Food	T, pH, Aw,	1.32	1.32
Mejlholm and Dalgaard, 2009 (FSSP)	Meat and fish products	T, pH, Aw, LAC, ACE, CIT, (NIT, P, CO <sub>2</sub> , SAC, DAC, BAC)	0.43	2.34
Gougouli et al., 2008	Ice cream	T	0.64	1.56
Rosshaug et al., 2012	Blue-white cheese	T, pH, LAC, NaCl	0.37	2.71
Østergaard et al., 2014	Cottage cheese-fresh cream	T, pH, Aw, LAC, (SAC)	1.18	1.28
Østergaard et al., 2014	Cottage cheese-cultured cream	T, pH, Aw, LAC, (SAC)	0.56	1.79
Augustin et al., 2005, model #5	Cheese	T, pH, Aw, (NIT, P, CO <sub>2</sub> )	0.25	3.96
Augustin et al., 2005, model #5	Liquid dairy products	T, pH, Aw, (NIT, P, CO <sub>2</sub> )	0.88	1.13
Model 1, T fitted parameter	Fresh ricotta	T	1.10	1.11
Model 2, T- pH fitted parameters	Fresh ricotta	T, pH	1.06	1.09
Recalibrated Mejlholm and Dalgaard, 2009 model; <i>one fitted parameter</i>	Fresh ricotta	T, pH, Aw, LAC, (NIT, P, CO <sub>2</sub> ), ACE CIT, (SAC, DAC, BAC)	0.78	1.31

0.95 < Bf < 1.11

0.87-0.95 < Bf < 1.11-1.43

0.87 < Bf o > 1.43

buone performance

performance accettabili

performance inaccettabili

T: temperature; Aw: water activity; pH: pH value; NIT: nitrite; P: phenol; CO<sub>2</sub>: carbon dioxide; NaCl: natrium chloride; LAC: lactic acid; SAC: sorbic acid; ACE: acetic acid; CIT: citric acid; DAC: diacetate; BAC: benzoic acid; NaLac: sodium lactate; NaAcet: sodium acetate; KSorb: potassium sorbate; PLAC: potassium lactate.

## RISULTATI: CALIBRAZIONE DATI DI CRESCITA

Model #	Parameter values	RMSE/R <sup>2</sup>	Reference
1 T- dependent	$\mu_{\text{ref } 1} = 0.433 \text{ h}^{-1}$	0.009 / 0.988	This study
	$T_{\text{min}} = -4.06 \text{ }^{\circ}\text{C}$		This study
2 T-pH- dependent	$\mu_{\text{ref } 2} = 0.471 \text{ h}^{-1}$	0.005 / 0.997	This study
	$\text{pH}_{\text{min}} = 4.91$		This study
3 Recalibrated Mejlholm and Dalgaard, 2009	$\mu_{\text{ref } 3} = 0.808 \text{ h}^{-1}$	0.040 / 0.794	This study

# RISULTATI: VALIDAZIONE-ASZ

ASZ: osservazioni > 70%

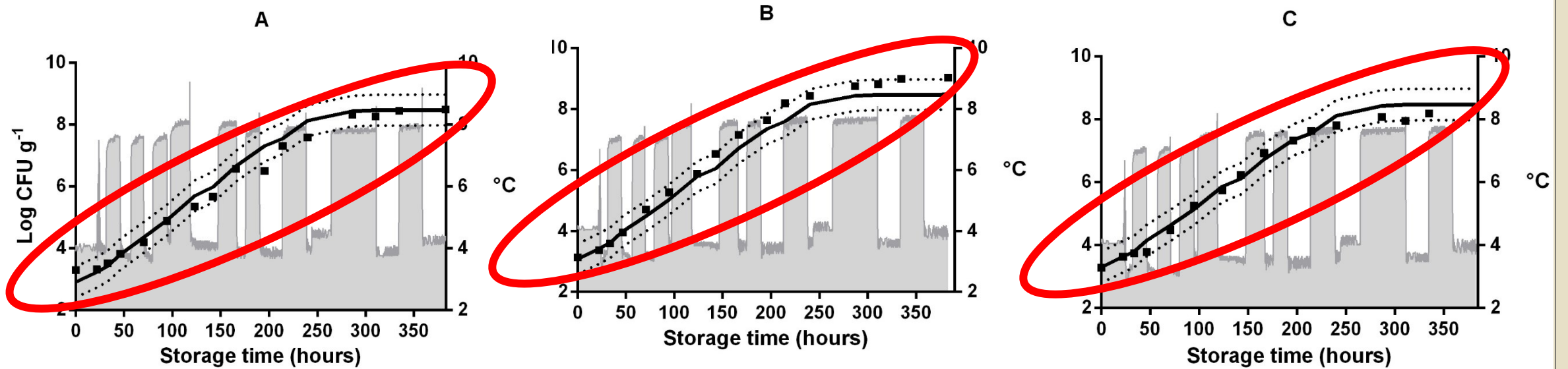
Augustin et al., 2005, model #5 | Liquid dairy products | T, pH, Aw, (NIT, P, CO<sub>2</sub>) | 0.88 | 1.13

Percentages of measurements within a  $\pm 0.5 \log \text{CFU g}^{-1}$  band along the simulated values

Product brand code	Temperature (°C)	Augustin et al. (2005), model #5 (liquid dairy)	Model 1 T-dependent	Model 2 T-pH dependent	Recalibrated Model Mejlholm and Dalgaard (2009)
A	8.3	95	87	84	97
A	10.3	98	100	97	97
A	13.4	100	100	100	83
A	20.6	100	94	94	94
A	4-8	77	83	83	29
F	4-8	56	92	92	21
H	4-8	29	65	81	90
A	12-16	90	100	100	48
G	12-16	98	93	98	55
G with added lactic acid	14.7	88	33	83	38
G with added citric acid	14.7	88	92	96	63
<b>Mean ASZ score (%)</b>		<b>83</b>	<b>85</b>	<b>91</b>	<b>65</b>



## RISULTATI: VALIDAZIONE-ASZ-PROFILO TERMICO DINAMICO



Observed (■) and predicted (—) growth for *L. monocytogenes* in three brands of fresh ricotta

Predictions and the acceptable simulation zone (·····) by using Model 2 (T-pH)

Temperature profiles are illustrated with grey lines

# RISULTATI: VALUTAZIONE CONCENTRAZIONI MINIME DI INIBIZIONE (MIC)

Data-set #	Product brand code	Average temperature (°C)	pH Initial	pH Final	Moisture content (%)	Total organic acid concentration in the water phase (undissociated conc.) (mM)			Growth during seven days at 12°C			G/NG
						Acetic acid	Citric acid	Lactic acid	Log N Initial (log CFU/g)	Log N Final (log CFU/g)	Δ Log N (log CFU/g)	
19	G <sup>d</sup>	15.2	5.27	5.57	76.7	37.3 (8.8)	77.5 (0.6)	5.7 (0.2)	4.20	4.11±0.14	-0.09	NG
20	G <sup>d</sup>	15.2	5.21	5.29	76.7	75.5 (19.8)	88.6 (0.7)	6.3 (0.3)	4.34	2.89±0.40	-1.45	NG
21	G <sup>d</sup>	15.2	4.95	4.90	74.6	174.4 (68.4)	117.3 (1.7)	12.7 (1.0)	4.45	2.87±0.03	-1.58	NG
22	G <sup>e</sup>	15.2	4.99	5.04	75.0	7.6 (2.8)	1764.3 (24.0)	1.3 (0.1)	4.20	4.81±0.13	0.61	G
23	G <sup>e</sup>	15.2	4.90	4.84	75.7	5.2 (2.2)	2802.8 (46.8)	6.0 (0.5)	3.86	2.84±0.09	-1.02	NG
24	G <sup>e</sup>	15.2	4.92	5.01	76.6	4.9 (2.0)	3914.8 (62.5)	3.6 (0.3)	4.25	<2.00	<-2.25	NG
25	G <sup>f</sup>	15.2	5.11	6.03	75.8	4.2 (1.3)	53.1 (0.6)	35.2 (1.9)	3.74	>6.00	>2.26	G
26	G <sup>f</sup>	15.2	5.18	5.13	74.5	9.4 (2.6)	76.7 (0.7)	111.0 (5.1)	4.13	5.08±0.21	0.95	G
27	G <sup>f</sup>	15.2	4.99	5.02	75.2	14.4 (5.4)	84.7 (1.2)	213.6 (14.7)	4.33	3.05±0.06	-1.28	NG

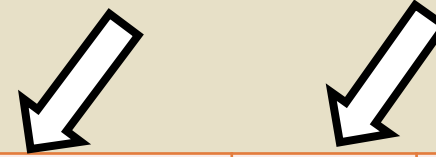
<sup>d</sup> Acetic acid added

<sup>e</sup> Citric acid added

<sup>f</sup> Lactic acid added



# RISULTATI: VALUTAZIONE CONCENTRAZIONI MINIME DI INIBIZIONE (MIC)



References	MIC Undissociated acid (mM)			Substrate	Temp. (°C)	Species
	Citric acid	Acetic acid	Lactic acid			
<b>Present study</b>	<b>&gt;24.0</b>	<b>&lt; 8.8</b>	<b>5.1-14.7</b>	<b>Fresh ricotta</b>	<b>15.2</b>	<b><i>L. monocytogenes</i></b>
Coroller et al. 2005	0.2-3.6	21.5	6.4	BHI	30	<i>L. innocua</i>
Le Marc et al., 2002	-	20.3	8.0	Modified BHI	20	<i>L. innocua</i>
Mejlholm and Dalgaard, 2009	2.12	10.3	3.79	BHI pH 6.0	8	<i>L. monocytogenes</i>
Wemmenhove et al., 2016	3.8±0.9	19.0±6.5	5.0±1.5	BHI at pH 4.6-5.8	30°C	<i>L. monocytogenes</i>


## CONCLUSIONI



- ✓ Sono stati sviluppati e validati due modelli specifici che predicono la crescita di *Listeria monocytogenes* in ricotta vaccina industriale: un modello T-dipendente, un modello T-pH dipendente;
- ✓ I modelli sono stati validati in brand differenti: possibilità di estenderlo a tutti i brand del commercio;
- ✓ Solo 3/10 dei modelli esistenti validati per *Listeria monocytogenes* sono risultati accettabili nella descrizione della crescita del patogeno;

## CONCLUSIONI



- ✓ Il modello T-pH può essere utilizzato nella riformulazione del prodotto;
- ✓ Possibilità di ricalibrazione estendendo il modello ad altri lattiero-caseari;
- ✓ A breve nel FSSP? 
- ✓ Stimate MIC per acido lattico, acetico e citrico nei cfr di *Listeria monocytogenes*: utile per riformulare il prodotto, carenza i dati sui prodotti lattiero caseari-primi dati su ricotta

## BUSINESS POTENTIAL (AZIENDE)

- ✓ Documentation (HACCP plans)
- ✓ QMRA

- ✓ Reduction of LAB analyses: *time consuming, labor demanding, costly*




- ✓ Product development
- ✓ Product reformulation
- ✓ Determination of shelf-life and safe shelf-life

# GRAZIE!


*Simone Stella  
Cristian Bernardi  
Per Sand Rosshaug  
Paw Dalgaard*

Food Microbiology 78 (2019) 123–133

Contents lists available at ScienceDirect

 **Food Microbiology**


journal homepage: [www.elsevier.com/locate/fm](http://www.elsevier.com/locate/fm)



---

Predicting growth of *Listeria monocytogenes* in fresh ricotta

Erica Tirloni<sup>a,\*</sup>, Simone Stella<sup>a</sup>, Cristian Bernardi<sup>a</sup>, Paw Dalgaard<sup>b</sup>, Per Sand Rosshaug<sup>b</sup>



<sup>a</sup> Department of Health, Animal Science and Food Safety, University of Milan, Milan, Italy  
<sup>b</sup> Technical University of Denmark, National Food Institute (DTU Food), Kemitorvet, Building 202, 2800, Kgs. Lyngby, Denmark