

Convegno
Focus su sicurezza d'uso e nutrizionale degli alimenti

**Attività del
Laboratorio Nazionale di Riferimento per il latte
e i prodotti a base di latte**

A.M. Ferrini, V. Mannoni, M. Pourshaban



Istituto Superiore di Sanità
21 - 22 novembre 2005



DPR 14 gennaio 1997, n° 54

**Regolamento recante attuazione delle Direttive 92/46 e
92/47/CEE in materia di produzione e immissione sul
mercato di latte e di prodotti a base di latte**

.....

Art. 19

1. L'ISS è il Laboratorio Nazionale di Riferimento in materia di analisi e di prove sul latte e sui prodotti a base di latte.

metodi per il controllo
dei residui di antibiotici
da trattamento
veterinario negli alimenti
di origine animale

Microbiologici (carne 18h,
latte 3h)

Biosensoriali (latte 4 h)

Attività di ricerca
sugli inibenti

Oli essenziali

M.alternifolia

Antibiotico
resistenza

L.monocytogenes
526 ceppi

Vibrioni spp
105 ceppi

OGM

geni *cryIA (b)* e *bla* TEM-1
del mais Bt176

CPMA meat: a 6 plate-method for simultaneous first and second level screening of antibacterial residues in meat

Ferrini A.M., Mannoni V. and Aureli P. *Food Additives and Contaminants* (in pubblicazione)

Antibatterico	MRL (µg/kg)	Four plate method (µg/kg)	CPMA meat (µg/kg)	Concentrazioni Neutralizzabili
Benzilpenicillina	50	15	9	>2500
ampicillina	50	50	30	>5000
dicloxacillina	300	200	10	>1000
Tetraciclina	100	250	50	>1000
clortetraciclina	100	30	10	>1000
Eritromicina	200	30	15	-
Diidrostreptomicina	500	400	125	>1000
gentamicina	100	100	100	>5000
Sulfadimetossina	100	250-500	100	>50000
sulfadiazina	100	500-1000	100	>50000
Flumechina	200-1500	350	250	2000
marbofloxacin	300-800	150	30	800

CPMA milk: livelli di rilevazione

Antibatterico	MRL (µg/kg)	91/180/CEE (µg/kg)	Star method (µg/kg)**	Kit commerciali (µg/kg)	CPMA milk (µg/kg)
Benzilpenicillina	4	6	5-6	2.5/1	2
ampicillina	4	5	16	3-4/2	2
dicloxacillina	30	35	30	10-15/5	15
Tetraciclina	100	40	200-250	200-400/450	60
clortetraciclina	100	50	50	200-400/450	35
Eritromicina	40	2250	20-30	100-150/600	100
tilosina	50		150-200		<50
Diidrostreptomicina	500	1300	900	1500-3000/1750	125
neomicina	1500	2200	1000-1500	300-1000/3000	100
Sulfadimetossina	100	1000	175	50-100	100
sulfadiazina	100	1000	200	50-100/50	100
Flumechina	75		900		125
ciprofloxacina	100		10		30
marbofloxacina	50		30		30

Attività di ricerca programmata

- sviluppo di un metodo biosensoriale per la ricerca e la identificazione di residui di sulfamidici nel latte
- Valutazione della possibilità di formazione di amine biogene da starter colturali
Progetto di ricerca finalizzata: Tecnologie alimentari innovative e tutela della salute del consumatore (responsabile scient: dott. Coni)
- Progetto Truefood (responsabile scient: prof. Daniele Rossi)

Progetto Truefood - Integrated project

The proposed Integrated Project (IP) aims to improve quality and safety and introduce innovation into Traditional European Food production systems through research, demonstration, dissemination and training activities. It focuses on increasing value to both consumers and producers and on supporting the development of realistic business plans for all components of the food chain, using a fork to farm approach.

WP2-Task 2.1

Subtask 2.1.1: effect of feeding regimes and other selected management practices on: a) the incidence of mastitis; b) the level of veterinary antibiotic use to treat mastitis; c) the level of antibiotic resistance in bacteria

T2.1.1.1

effect of cleaning procedures to cows, sheep and goats in traditional production system by introducing preparations with *Melaleuca alternifolia* essential oil or its component terpinen-4-ol as active ingredient. In addition topical treatments of these active ingredients in combination with antibiotics will be exploited for the prevention and treatment of mastitis

Laboratory for Study & Research on Quality of Foods and on Food Processes (LERQAP) dell'AFSSA: CRL-Milk di Maisons-Alfort (Parigi)

Direttiva 92/46/CEE

centro di eccellenza della comunità europea per i metodi di analisi per il latte e i prodotti a base di latte

Compiti principali:

- scegliere e/sviluppare metodi analitici da utilizzare nel controllo ufficiale del latte e dei prodotti a base di latte
- trasferire questi metodi ai LRN
- valutare la capacità dei LRN di utilizzare tali metodi ufficiali per conformarsi al regolamento sui controlli ufficiali



Direttiva 2004/41/CE: abrogazione dei criteri microbiologici per gli alimenti di origine animale

direttive

parametri

ovoprodotti

.....

molluschi bivalvi vivi

.....

prodotti della
pesca

.....

crostacei e molluschi cotti

.....

carni macinate e di preparazioni di carni

.....

carni fresche

.....

carni fresche di volatili da cortile

.....

Direttiva 92/46/CEE, del 16 giugno 1992, che stabilisce le norme sanitarie per la produzione e la commercializzazione di latte crudo, di latte trattato termicamente e di prodotti a base di latte

Salmonella, Listeria monocytogenes, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, coliformi, germi aerobi



Attività' preparatoria

- il documento sui criteri microbiologici e' il frutto di 24 riunioni del gruppo di lavoro "legislazione veterinaria" e di 7 riunioni del "gruppo esperti privati" che si sono tenute tra il 2001 e il 2005
- le organizzazioni interessate sono state consultate sia a livello bilaterale che collettivo ed in 4 circostanze [2002 (revisione 4), 2003 (revisione 7), 2004 (revisione 9) and 2005 (revisione 14)] sono state invitate a formulare pareri scritti

Alimento	Parametro	Valore
Latte di vacca crudo	Tenore di germi a 30°C	≤100.000/ml
	Tenore di cellule somatiche	≤400.000/ml
Latte crudo di altre specie	Tenore di germi a 30°C	≤1.500.000/ml
Latte crudo di specie diverse per fabbricare prodotti a latte crudo con un processo che non comporta alcun trattamento termico	Tenore di germi a 30°C	≤500.000/ml
Latte crudo di vacca crudo destinato alla preparazione di prodotti “al latte crudo”	Tenore di germi a 30°C	≤300.000/ml
Latte di vacca trattato termicamente destinato alla preparazione di prodotti	Tenore di germi a 30°C	≤100.000/ml

Microrganismi e tossine da verificare ai fini della sicurezza

- *L. monocytogenes*
- *Salmonella* spp
- enterotossine stafilococciche
- *Enterobacter sakazachi*

EC Regulation on microbiological criteria - Chapter 1.

Food safety criteria

Food category	Micro-organisms/ their toxins, metabolites	Sampling-plan ¹		Limits		Analytical reference method ³	Stage where the criterion applies
		n	c	m	M		
1.1 Ready-to-eat foods intended for infants and ready-to eat foods for special medical purposes	<i>Listeria monocytogenes</i>	10	0	Absence in 25 g		EN/ISO 11290-1	Products placed on the market during their shelf-life
1.2 Ready-to-eat foods able to support the growth of <i>L. monocytogenes</i> , other than those intended for infants and for special medical purposes	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 cfu/g		EN/ISO 11290-2	Products placed on the market during their shelf-life
		5	0	Absence in 25 g		EN/ISO 11290-1	Before the food has left the immediate control of the food business operator, who has produced it
1.3 Ready-to-eat foods unable to support the growth of <i>L. monocytogenes</i> , other than those intended for infants and for special medical purposes	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 cfu/g		EN/ISO 11290-2	Products placed on the market during their shelf-life

EC Regulation on microbiological criteria - Chapter 1. Food safety criteria

Food category	Micro-organisms/ their toxins, metabolites	Sampling -plan		Limits		Analytical reference method	Stage where the criterion applies
		n	c	m	M		
1.11 Cheeses, butter and cream made from raw milk or milk that has undergone a lower heat-treatment than pasteurisation	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence	in 25 g	EN/ISO 6579	Products placed on the market during their shelf-life
1.12 Milk powder and whey powder	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence	in 25 g	EN/ISO 6579	Products placed on the market during their shelf-life
1.13 Ice cream, excluding products where the manufacturing process or the composition of the product will eliminate the salmonella risk	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence	in 25 g	EN/ISO 6579	Products placed on the market during their shelf-life
1.21 Cheeses, milk powder and whey powder, as referred to in the coagulase-positive staphylococci criteria in Chapter 2.2 of this Annex	Staphylococcal enterotoxins	5	0	Not detected	in 25g	European screening method of the CRL for Milk	Products placed on the market during their shelf-life

EC Regulation on microbiological criteria - Chapter 1. Food safety criteria

Food category	Micro-organisms/ their toxins, metabolites	Sampling- plan		Limits		Analytical reference method ³	Stage where the criterion applies
		n	c	m	M		
1.22 Dried infant formulae and dried dietary foods for special medical purposes intended for infants below 6 months of age, as referred to in the Enterobacteriaceae criterion in Chapter 2.2 of this Annex	<i>Salmonella</i>	30	0	Absence in 25 g		EN/ISO 6579	Products placed on the market during their shelf-life
1.23 Dried infant formulae and dried dietary foods for special medical purposes intended for infants below 6 months of age, as referred to in the Enterobacteriaceae criterion in Chapter 2.2 of this Annex	<i>Enterobacter sakazakii</i>	30	0	Absence in 10 g		ISO/DTS 22964	Products placed on the market during their shelf-life

Microrganismi per il controllo dell'igiene di processo

- Enterobatteriaceae
- E.coli
- Stafilococchi coagulasi positivi

EC Regulation on microbiological criteria - Chapter 2. Process hygiene criteria

Food category	Micro-organisms	S. plan		Limit		Analytical reference method	Stage where the criterion applies
		n	c	m	M		
2.2.1 Pasteurised milk and other pasteurised liquid dairy products ⁴	Enterobacteriaceae	5	2	<1 cfu/ml	5 cfu/ml	ISO 21528-1	End of the manufacturing process
2.2.2 Cheeses made from milk or whey that has undergone heat treatment	<i>E. coli</i>	5	2	100 cfu/g	1 000 cfu/g	ISO 16649-1 or 2	At the time during the manufacturing process when the <i>E. coli</i> count is expected to be highest ⁶
2.2.3 Cheeses made from raw milk	Coagulase-positive staphylococci	5	2	10 ⁴ cfu/g	10 ⁵ cfu/g	EN/ISO 6888-2	At the time during the manufacturing process when the number of staphylococci is expected to be highest
2.2.4 Cheeses made from milk that has undergone a lower heat treatment than pasteurisation and ripened cheeses made from milk or whey that has undergone pasteurisation or a stronger heat treatment	Coagulase-positive staphylococci	5	2	100 cfu/g	1 000 cfu/g	EN/ISO 6888-1 or 2	

Chapter 2. Process hygiene criteria

Food category	Microorganisms	Sampling plan ¹		Limit		Analytical reference method	Stage where the criterion applies
		n	c	m	M		
2.2.5 Unripened soft cheeses (fresh cheeses) made from milk or whey that has undergone pasteurisation or a stronger heat treatment	Coagulase-positive staphylococci	5	2	10 cfu/g	100 cfu/g	EN/ISO 6888-1 or 2	End of the manufacturing process
2.2.6 Butter and cream made from raw milk or milk that has undergone a lower heat treatment than pasteurisation	<i>E. coli</i> ⁵	5	2	10 cfu/g	100 cfu/g	ISO 16649-1 or 2	End of the manufacturing process
2.2.7 Milk powder and whey powder	Entero-bacteriaceae	5	0	<10 cfu/g		ISO 21528-1	End of the manufacturing process
	Coagulase-positive staphylococci	5	2	10 cfu/g	100 cfu/g	EN/ISO 6888-1 or 2	End of the manufacturing process
2.2.8 Ice cream and frozen dairy desserts	Entero-bacteriaceae	5	2	10 cfu/g	100 cfu/g	ISO 21528-2	End of the manufacturing process

Partecipazione a inter-laboratory proficiency testings per il 2004-2005

•LRC latte

•numerazione di *E.coli* β -glucuronidasi positivi (ISO 16649-1*; ISO 16649-2*; IDF 170A-3/11866-3; ISO/CD 16649-3*; IDF 170A-2/11866-2)

•conta delle cellule somatiche in latte bovino (ISO 13366-1)

•numerazione di stafilococchi coagulasi positivi (ISO 6888 -1-2)

•ricerca delle enterotossine stafilococciche (Metodo di screening comunitario VIDAS2-Transia)

•Trial IDF sulla numerazione dei microrganismi a 30°C nel latte in polvere (ISO8261:2001)

•Workshop dei LRN

•LRC residui antibatterici

•Ricerca, identificazione e quantificazione di residui di antibiotici in campioni di latte/carne

•Workshop sulla validazione dei metodi di screening per il controllo dei residui



Attività del LRN per il latte per il 2006

definizione delle priorità di azione e di un programma di lavoro con i laboratori del controllo ufficiale

programmazione di un circuito interlaboratorio di prove comparative su metodi ufficiali

workshop a fine anno per la valutazione dell'attività