

GHID
PRIVIND EVALUAREA NECESITĂȚII DE IMPLEMENTARE ȘI
MODUL PRACTIC DE REALIZARE
A STUDIILOR PRIVIND PERIOADA DE CONSERVARE,
SPECIFICATE ÎN ANEXA II A REGULAMENTULUI (CE) NR. 2073/2005

Listeria monocytogenes este o bacterie Gram pozitivă, facultativ anaerobă, care provoacă listerioza – boală ce se transmite de obicei pe cale alimentară. Bacteria este frecvent prezentă în mediul înconjurător, în sol, vegetație și fecalele animalelor, dar poate fi pusă în evidență și în alimente crude, cum ar fi carnea proaspătă, laptele crud și peștele.

Omniprezența și capacitatea deosebită de a se dezvolta sau de a supraviețui în condiții de refrigerare, comparativ cu majoritatea celorlalte microorganisme, fac ca *Listeria monocytogenes* să reprezinte o provocare semnificativă pentru domeniul producției de alimente. Este cazul mai ales al **produselor alimentare gata pentru consum (RTE)** în care *Listeria monocytogenes* se poate dezvolta.

Este esențial ca producătorii de alimente RTE (definite ca ”produse alimentare pe care producătorul sau fabricantul le atribuie consumului uman direct, care nu necesită preparare sau o altă transformare necesară pentru a elimina sau a reduce la un nivel acceptabil microorganismele periculoase”) să ia măsuri pentru a controla atât contaminarea produselor cu *Listeria monocytogenes*, cât și creșterea acesteia în produs până la sfârșitul perioadei de conservare. Potențialul de creștere al microorganismului într-un produs alimentar trebuie astfel cunoscut, documentat și luat în considerare atunci când producătorul stabilește durata de conservare sigură pentru produsul lui.

Pentru a ajuta operatorii din sectorul alimentar care produc alimente RTE să clasifice produsele lor ca și ”Produse alimentare gata pentru consum, **care permit dezvoltarea** *Listeria monocytogenes*, altele decât cele destinate sugarilor sau unor scopuri medicale speciale” sau ”Produse alimentare gata pentru consum, **care nu permit dezvoltarea** *Listeria monocytogenes*, altele decât cele destinate sugarilor sau unor scopuri medicale speciale” și pentru a demonstra conformitatea acestor produse cu criteriile stabilite de Regulamentul CE nr. 2073/2005, au fost emise **două documente ghid:**

1) **EU Guidance Document on *Listeria monocytogenes* shelf-life studies for ready-to-eat foods under Regulation (EC) No 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs** (Document ghid privind studiile de valabilitate la produsele alimentare gata pentru consum, care permit sau nu dezvoltarea *Listeria monocytogenes*, în conformitate cu Regulamentul (CE) nr. 2073/2005 privind criteriile microbiologice pentru produsele alimentare).

Ghidul este **elaborat de DG SANTE** împreună cu Laboratorul European de Referință pentru *Listeria monocytogenes* (EURL L.m.) și **se adresează operatorilor din sectorul alimentar care produc alimente gata pentru consum (RTE)**.

Obiectivul principal al acestui document este de a ajuta operatorii din sectorul alimentar care produc alimente RTE:

- să decidă dacă *Listeria monocytogenes* constituie un risc pentru produsul lor,
- să fie informați despre studiile privind perioada de conservare pe care le pot implementa și când trebuie realizate acestea,
- să-și clasifice produsele în: alimente RTE în care poate apărea o creștere a *Listeria monocytogenes* sau alimente RTE în care creșterea *Listeria monocytogenes* nu va avea loc de-a lungul perioadei de conservare,
- să demonstreze, spre satisfacția autorității competente, că produsele lor vor respecta prevederile legislației comunitare, pe întreaga durată a perioadei de conservare, până la sfârșitul acesteia,
- să înțeleagă gama diferitelor abordări care sunt disponibile în vederea stabilirii unei perioade de conservare sigure a produsului în raport cu *Listeria monocytogenes*, pentru a putea decide ulterior care este cea mai adecvată abordare pentru produsele lor.

De asemenea, documentul poate fi utilizat și de **autoritățile competente**, în acțiunile de verificare a modului de asigurare a conformității produselor alimentare RTE cu legislația în vigoare.

2) **EURL L.m. Technical Guidance Document for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods** (Ghid tehnic pentru realizarea studiilor privind perioada de conservare la produsele alimentare gata pentru consum, care permit sau nu dezvoltarea *Listeria monocytogenes*).

Ghidul este **elaborat de EURL L.m.** împreună cu câteva Laboratoare Naționale de Referință și **se adresează laboratoarelor**, furnizându-le informații detaliate cu privire la modul de implementare a studiilor privind perioada de conservare, în special teste de provocare și studii de durabilitate. Documentul oferă recomandări privind modul de selectare, implementare și realizare a testelor respective.

Aceste documente, inițiate de EURL L.m. în cursul anilor 2007-2008, au suferit în timp numeroase revizuri, în funcție de comentariile realizate de LNR-urile colaboratoare și de Comisia Europeană. Astfel, la momentul actual, Ghidul pentru laboratoare elaborat de EURL L.m. a ajuns la versiunea 3 (din 2014, modificată în februarie 2019), în timp ce Documentul ghid elaborat de DG SANTE este în stadiul de draft din 2013.

Elaborat în baza informațiilor furnizate de documentele menționate anterior, materialul de față, fără să fie prescriptiv, oferă orientări privind evaluarea necesității implementării și modul practic de realizare a studiilor privind perioada de conservare descrise de Anexa II a Regulamentului (CE) nr. 2073/2005.

Având în vedere faptul că documentele ce stau la baza acestui material sunt în permanență supuse revizuirilor de către organismele emitente (EURL L.m., DG SANTE) prin adăugarea de noi informații din domeniu, varianta de față poate fi oricând actualizată.

1. CRITERIILE MICROBIOLOGICE DE SIGURANȚĂ A ALIMENTELOR PENTRU *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Regulamentul (CE) nr. 2073/2005 stabilește criteriile microbiologice privind siguranța alimentelor pentru *Listeria monocytogenes* în produsele alimentare RTE.

Articolul 3 al Regulamentului indică faptul că **”operatorii din sectorul alimentar se asigură că produselor alimentare respectă criteriile microbiologice și limitele relevante stabilite în Anexa I”**. De asemenea, articolul 3 face referire și la **studiile privind perioada de conservare** (enumerare în Anexa II), pe care **operatorii din sectorul alimentar responsabili cu fabricarea produsului le efectuează, ”după caz”**, pentru a cerceta respectarea criteriilor pe parcursul întregii perioade de conservare. Această dispoziție a Regulamentului se aplică în

special produselor alimentare RTE care permit dezvoltarea *Listeria monocytogenes* și care astfel pot prezenta un risc pentru sănătatea publică.

Criteriile specifice de siguranță a alimentelor pentru *Listeria monocytogenes* în produsele alimentare RTE sunt stabilite în Anexa I a Regulamentului. Aici sunt precizate: categoria de produs alimentar, planul de eșantionare, limitele microbiologice, metodele analitice și etapa căreia i se aplică criteriul.

Criteriul de siguranță alimentară definește gradul de acceptabilitate a unui produs sau a unui lot de produse alimentare, aplicabil produselor introduse pe piață.

Atunci când testarea în baza criteriilor de siguranță alimentară oferă rezultate nesatisfăcătoare, produsul sau lotul de produse alimentare trebuie retras de pe piață. În plus, este necesară implementarea de acțiuni corective la nivelul unității de producție, în conformitate cu procedurile HACCP.

Anexa II a Regulamentului (CE) nr. 2073/2005 descrie studiile privind perioada de conservare pe care operatorii din sectorul alimentar responsabili pentru fabricarea produsului RTE le efectuează, **dacă este necesar**, pentru a cerceta respectarea criteriilor pe parcursul întregii perioade de conservare.

Aceste studii se pot realiza în mai multe etape, după cum urmează:

I. Colectarea informațiilor privind caracteristicile produsului alimentar: ingredientele, caracteristicile procesului de producție, condițiile de prelucrare și depozitare, caracteristicile fizico-chimice ale produsului (pH-ul, activitatea apei a_w , conținutul de sare, conținutul în conservanți și concentrația lor, sistemul de ambalare, microflora asociată), posibilitățile de contaminare și perioada de conservare prevăzută, cunoscut fiind faptul că fiecare din acești factori are un puternic impact asupra dezvoltării *Listeria monocytogenes* în produs.

II. Consultarea informațiilor disponibile din literatura științifică de specialitate, precum și a **datelor furnizate de rezultatele cercetărilor privind caracteristicile dezvoltării și supraviețuirii microorganismelor** în cauză. Aici interesează în principal evoluția *Listeria monocytogenes* într-un aliment similar, precum și posibilitățile de dezvoltare pentru *Listeria monocytogenes*, în relație cu alți factori decât pH și a_w (ex. influența acidului lactic).

Atunci când studiile menționate anterior nu oferă suficientă încredere în ceea ce privește siguranța produsului, **operatorul din sectorul alimentar poate realiza studii suplimentare** care să ia în considerare variabilitatea inerentă a produsului, a microorganismelor în cauză și a condițiilor de procesare și depozitare:

III. Colectarea de informații și elaborarea de modele matematice predictive pentru produsele alimentare în cauză, utilizând factori critici de dezvoltare sau supraviețuire pentru *Listeria monocytogenes* din produs. În momentul de față există mai multe software-uri (Sym'Previus, ComBase Predictor, Pathogen Modeling Program (PMP), Seafood Spoilage and Safety Predictor (SSSP)), a căror utilizare poate oferi informații despre: probabilitatea de creștere, simularea dezvoltării patogenului, simularea morții patogenului, baze de date etc. Folosirea acestor software-uri necesită însă o deosebită atenție, pentru că datele furnizate de aceste programe provin din simulări și au nevoie să fie comparate cu rezultate experimentale înainte de a fi validate.

IV. Implementarea testelor de laborator:

- teste care analizează capacitatea microorganismului în cauză, inoculat în mod adecvat, de a se dezvolta sau supraviețui în produs în diferite condiții de depozitare care pot fi prevăzute în mod rezonabil - **teste de provocare pentru evaluarea potențialului de creștere (δ) și a ratei maxime de creștere (μ_{max})**

și/sau

- studii de evaluare a dezvoltării și a supraviețuirii microorganismului în cauză care poate fi prezent în produs în perioada de conservare în condiții de distribuție, depozitare și utilizare ce pot fi prevăzute în mod rezonabil - **studii de durabilitate sau date istorice adecvate.**

Selectarea procedurilor microbiologice potrivite, în funcție de scopul urmărit, trebuie realizată de către operatorul din sectorul alimentar, în colaborare cu laboratorul care va efectua testele. Alegerea ar trebui să fie influențată de informațiile ce vor fi obținute, astfel:

- testele de provocare pentru evaluarea potențialului de creștere (δ) sunt susceptibile de a fi teste de “primă intenție” în majoritatea cazurilor, în special pentru a realiza diferențierea între produsele care permit dezvoltarea *Listeria monocytogenes* și cele care nu permit dezvoltarea *Listeria monocytogenes*;

- implementarea testelor de provocare pentru evaluarea ratei maxime de creștere (μ_{\max}) în cea mai mare parte ar trebui să fie considerate ca teste de “intenție secundară”, în cazurile speciale în care se așteaptă ca informațiile suplimentare pe care ele le pot furniza să fie folositoare. Pentru a interpreta rezultatele sunt necesare cunoștințe de bază de microbiologie predictivă;

- studiile de durabilitate sunt potrivite în special atunci când prevalența *Listeria monocytogenes* este mare.

2. PRINCIPII ȘI PROCEDURI PENTRU STUDIILE PRIVIND PERIOADA DE CONSERVARE

Determinarea duratei perioadei de conservare este foarte importantă pentru siguranța din punct de vedere microbiologic a alimentelor RTE, în special a celor care permit dezvoltarea *Listeria monocytogenes*.

Perioada de conservare este definită ca perioada de timp în care un produs alimentar rămâne sigur și îndeplinește specificațiile sale de calitate în condițiile de stocare și de utilizare preconizate. Termenul de valabilitate al unui aliment începe din momentul producerii și/sau ambalării lui.

Perioada de conservare înseamnă fie perioada corespunzătoare celei care precedă ”data limită de consum”, fie ”data de valabilitate minimă”, așa cum se descrie în Articolele 9 și 10 din Directiva 2000/13/EC.

Deoarece responsabilitatea generală pentru siguranța alimentară revine operatorilor din sectorul alimentar, nu există o metodă generică de estimare și stabilire a perioadei de conservare a alimentelor. Acest lucru se datorează faptului că multe condiții diferite pot afecta siguranța și calitatea produselor. Ca atare, este nevoie de documente care să evidențieze bunele practici pentru operatorii din sectorul alimentar de a estima, stabili și verifica siguranța produselor alimentare pe parcursul perioadei de conservare.

Validarea termenului de valabilitate al produsului reprezintă obținerea și documentarea oricărei dovezi care să ateste faptul că un produs alimentar este corect realizat și că își va menține siguranța și/sau calitatea până la sfârșitul perioadei de conservare.

Operatorul din sectorul alimentar este responsabil pentru stabilirea duratei perioadei de conservare în condiții definite, care trebuie să țină cont de condițiile de distribuție, depozitare și utilizare previzibile în mod rezonabil.

O parte importantă a acestor condiții preconizate o reprezintă **temperatura de depozitare** pe toată durata perioadei de conservare. Din acest motiv, în procesul de stabilire a duratei perioadei de conservare, decizia privind temperatura sau temperaturile utilizate trebuie justificată.

Astfel, ca o regulă, dacă pentru stabilirea perioadei de conservare este folosită o temperatură de depozitare prea scăzută comparativ cu temperaturile reale din timpul distribuției și utilizării, aceasta poate duce la subestimarea dezvoltării microorganismelor, inclusiv a *Listeria monocytogenes* și, prin urmare, la supraestimarea duratei sigure a perioadei de conservare. Dacă temperaturile reale de depozitare nu sunt cunoscute pentru produsul în cauză, operatorul din sectorul alimentar poate folosi de ex. temperatura de 8-12°C ca temperatură de depozitare atunci când realizează studiile privind perioada de conservare. Cu toate acestea, operatorul din sectorul alimentar trebuie să justifice alegerea temperaturilor utilizate pentru stabilirea perioadei de conservare, luând în considerare înregistrările temperaturilor din timpul distribuției și depozitării de către consumatori.

În practică, **stabilirea perioadei de conservare este considerată parte a sistemului HACCP al producătorului** și ține seama de: controalele furnizorilor care asigură calitatea materiilor prime și rezultatele monitorizărilor materiilor prime; încrederea în controalele GHP aplicate în mediul de fabricație, reflectate de rezultatele prelevărilor de probe din zonele și echipamentele de procesare; experiența câștigată în urma fabricării unor produse similare; rata de alterare microbiologică și menținerea calității organoleptice în condițiile prevăzute de depozitare și utilizare.

Studiile privind perioada de conservare și revizuirea planului HACCP ar trebui să fie efectuate în următoarele situații:

- dezvoltarea de produse noi sau modificate,
- modificarea procesului de fabricație sau dezvoltarea unui proces nou,
- dezvoltarea de noi modalități de ambalare,
- orice schimbare semnificativă a ingredientului (ingredientelor) sau ambalajului la un produs existent,
- modificări survenite la locul de producție sau în echipamentele de producție, sau
- dacă nu au fost efectuate anterior studii privind perioada de conservare.

Durata perioadei de conservare este parte integrantă a siguranței produselor și identificarea agenților patogeni relevanți, inclusiv *Listeria monocytogenes*, în materiile prime și în mediul de producție este esențială pentru evaluarea reușită a unei perioade de conservare sigure. Este important să se conștientizeze faptul că abaterile de la condițiile normale (ex. nivelul ridicat de contaminare inițială a materiilor prime, temperaturile prea ridicate din timpul depozitării sau transportului) sau o durată prea mare a perioadei de conservare ar putea avea un impact semnificativ asupra siguranței produsului.

Scopul realizării studiilor privind perioada de conservare în relație cu *Listeria monocytogenes* este de a demonstra conformitatea produsului alimentar RTE cu limita criteriului de siguranță alimentară stabilită pentru *Listeria monocytogenes*, pe toată durata perioadei de conservare a acestuia.

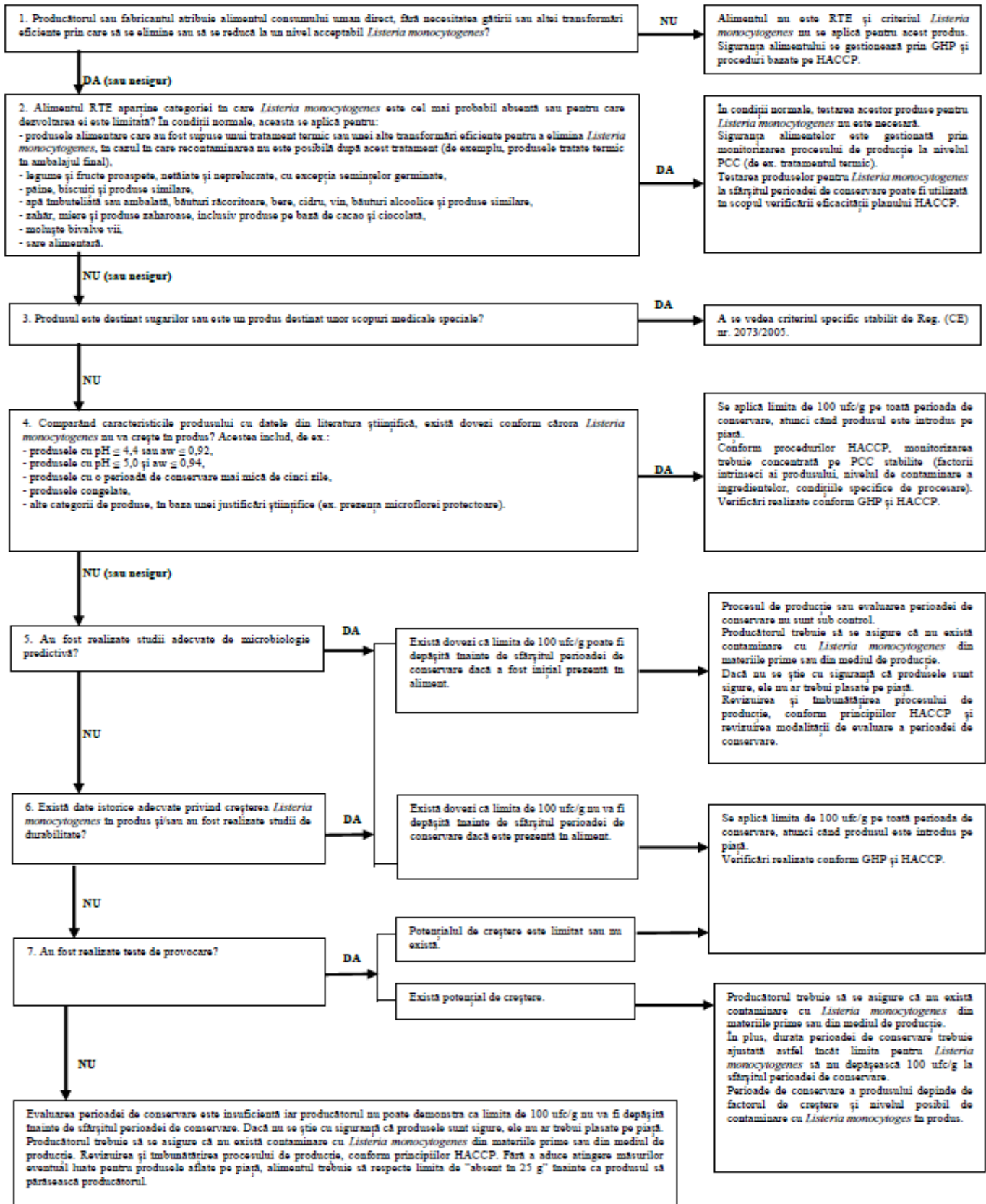
Demonstrarea conformității și studiile privind perioada de conservare pot fi făcute în mai multe moduri, începând cu compararea caracteristicilor produsului cu literatura științifică disponibilă.

În situația în care compararea caracteristicilor produsului cu datele științifice sau alte date disponibile nu este capabilă să furnizeze suficiente date pentru a susține evaluarea perioadei de conservare, sunt necesare studii suplimentare. Acestea pot include microbiologia predictivă, utilizarea unor date istorice adecvate sau studii de laborator speciale, cum ar fi studiile de durabilitate sau testele de provocare. Fiecare dintre aceste instrumente are avantaje și dezavantaje și, atunci când este necesar, pot fi combinate diferite instrumente. Operatorii din

sectorul alimentar pot colabora între ei și pot solicita consiliere din partea diferitelor laboratoare pentru siguranța alimentelor (de ex., institute de cercetare sau laboratoare de referință) atunci când efectuează aceste studii privind perioada de conservare.

Monitorizarea și verificarea în permanență a perioadei de conservare sunt necesare pentru a confirma menținerea perioadei de conservare definite pentru fiecare produs.

Arborele decizional din figura de mai jos prezintă o abordare schematică a etapelor de realizare a studiilor privind perioada de conservare. De asemenea, diagrama oferă operatorilor din sectorul alimentar o indicație asupra momentului în care sunt necesare studii suplimentare specifice (de ex., studii de durabilitate și teste de provocare) pentru a investiga (potențiala) creștere a *Listeria monocytogenes* în produs.



2.1. Întrebări pentru operatorii din sectorul alimentar

Întrebarea 1:

Prima întrebare la care trebuie să răspundă operatorul din sectorul alimentar este dacă există dovezi că produsul va fi gătit sau va fi prelucrat într-o manieră eficientă pentru a elimina sau a reduce *Listeria monocytogenes* la un nivel acceptabil înainte de consum.

În acest caz, produselor alimentare nu li se aplică niciun criteriu specific cu privire la *Listeria monocytogenes*, deoarece **aceste produse nu trebuie considerate produse alimentare RTE**. Siguranța alimentelor ar trebui gestionată prin implementarea procedurilor bazate pe GHP și HACCP, care ar trebui să includă controlul statusului microbiologic al materiei prime, minimizarea contaminării inițiale la nivelul producției, controlul procesului de producție etc.

Întrebarea 2 :

A doua întrebare la care trebuie să răspundă operatorul din sectorul alimentar este dacă există dovezi că *Listeria monocytogenes* este cel mai probabil absentă în produsul alimentar sau dacă dezvoltarea ei este limitată. În condiții normale și în conformitate cu nota de subsol 4 din Anexa I a Regulamentului (CE) nr. 2073/2005, în acest grup pot fi incluse următoarele alimente RTE:

- produsele alimentare care au fost supuse unui tratament termic sau unei alte transformări eficiente pentru a elimina *Listeria monocytogenes*, în cazul în care recontaminarea nu este posibilă după acest tratament (ex. produsele tratate termic în ambalajul final),
- legume și fructe proaspete, netăiate și neprelucrate, cu excepția seminșelor germinate,
- pâine, biscuiți și produse similare,
- apă îmbuteliată sau ambalată, băuturi răcoritoare, bere, cidru, vin, băuturi alcoolice și produse similare,
- zahăr, miere și produse zaharoase, inclusiv produse pe bază de cacao și ciocolată,
- moluște bivalve vii,
- sare alimentară.

În condiții normale, testarea acestor produse pentru *Listeria monocytogenes* nu este necesară. Siguranța alimentelor este gestionată prin monitorizarea procesului de producție la nivelul punctelor critice de control (ex. tratamentul termic). Testarea produselor pentru *Listeria monocytogenes* la sfârșitul perioadei de conservare poate fi utilizată în scopul verificării eficacității planului HACCP.

Întrebarea 3 :

Atunci când se produc sau se manipulează produse destinate sugariilor sau alimente destinate unor scopuri medicale speciale, trebuie aplicat un criteriu specific pentru *Listeria monocytogenes* (absență în 25 g, n = 10, c = 0).

Întrebarea 4 :

În cazul în care operatorul din sectorul alimentar deține dovezi științifice că *Listeria monocytogenes* nu se dezvoltă în produs, limita de 100 ufc/g trebuie aplicată atunci când produsul este pe piață.

În conformitate cu nota de subsol 8 din Anexa I a Regulamentului (CE) nr. 2073/2005, următoarele produse ar putea fi incluse direct în acest grup:

- produsele cu $\text{pH} \leq 4,4$ sau $a_w \leq 0,92$,
- produsele cu $\text{pH} \leq 5,0$ și $a_w \leq 0,94$,
- produsele cu o perioadă de conservare mai mică de cinci zile,
- produsele congelate,
- alte categorii de produse, în baza unei justificări științifice.

De asemenea, produsele menționate în nota de subsol 4 din Anexa I a Regulamentului (CE) nr. 2073/2005, sunt considerate inapte să susțină creșterea *Listeria monocytogenes* (a se vedea întrebarea 2).

În acest grup pot fi incluse și alte categorii de produse, sub rezerva dovezilor științifice.

Conform procedurilor HACCP, siguranța alimentelor trebuie gestionată prin monitorizare la punctele critice de control stabilite (ex., monitorizarea factorilor intrinseci ai produsului, cum ar fi a_w și pH). Controlul nivelului inițial de contaminare a materiilor prime și a ingredientelor și GHP (contaminare încrucișată etc.) trebuie să garanteze faptul că nivelul *Listeria monocytogenes* este de 100 ufc/g de-a lungul întregii perioade de conservare a produsului.

Întrebările 5 și 6:

Atunci când dezvoltarea *Listeria monocytogenes* în produs nu poate fi exclusă în baza justificărilor științifice sau așa cum se menționează în notele de subsol 4 și 8 din Anexa I a Regulamentului (CE) nr. 2073/2005, operatorul din sectorul alimentar trebuie să efectueze studii specifice pentru a investiga respectarea criteriilor pe toată durata perioadei de conservare,

utilizând date istorice adecvate, modele matematice predictive, studii de durabilitate sau teste de provocare.

► În cazul în care aceste studii au fost efectuate și există date adecvate conform cărora alimentele nu vor conține *Listeria monocytogenes* peste 100 ufc/g la sfârșitul perioadei de conservare, operatorul din sectorul alimentar este în măsură să demonstreze respectarea limitei de 100 ufc/g. Siguranța alimentului trebuie gestionată prin aplicarea GHP, prin implementarea și monitorizarea punctelor critice de control adecvate, prin controlul nivelului inițial de contaminare microbiologică a materiilor prime și a ingredientelor. Testarea produselor pentru *Listeria monocytogenes* ar trebui utilizată în scopul verificării GHP și a procedurilor bazate pe HACCP.

► Atunci când există date care să indice faptul că limita de 100 ufc/g este posibil să fie depășită la sfârșitul perioadei de conservare, operatorul din sectorul alimentar nu poate demonstra conformitatea cu prevederile Regulamentului (CE) nr. 2073/2005 și, în conformitate cu principiile HACCP, procesul de producție și perioada de conservare definită trebuie revizuite și îmbunătățite. Aceasta ar trebui să includă controlul calității microbiologice a materiilor prime și a ingredientelor, reducerea potențialului de creștere a *Listeria monocytogenes*, ajustarea factorilor intrinseci ai produsului final, tratamentul termic suplimentar etc.

Întrebarea 7 :

► Atunci când a fost efectuat un test de provocare și nu s-a determinat niciun potențial de creștere în timpul perioadei de conservare estimată, pentru acest produs ar trebui aplicată o limită de 100 ufc/g. Siguranța alimentară trebuie gestionată prin implementarea GHP și a procedurilor bazate pe HACCP. Testarea produselor pentru *Listeria monocytogenes* ar trebui utilizată în scopul verificării eficacității controlului punctelor critice de control.

► Atunci când testul de provocare a demonstrat că există un potențial de creștere pentru *Listeria monocytogenes*, operatorul din sectorul alimentar trebuie să ajusteze durata perioadei de conservare pentru a garanta respectarea limitei de 100 ufc/g de-a lungul perioadei de conservare a produsului. Testarea produselor pentru *Listeria monocytogenes* ar trebui utilizată în scopul verificării GHP și a procedurilor bazate pe HACCP.

► În cazul în care nu sunt disponibile informații despre produs și despre posibilitatea de dezvoltare a *Listeria monocytogenes* în produs, respectarea criteriilor pentru *Listeria monocytogenes* nu poate fi garantată și, prin urmare, nici siguranța alimentelor.

În acest caz procesul de producție, inclusiv cerințele privind materiile prime, ingredientele etc., trebuie revizuit și îmbunătățit în conformitate cu principiile HACCP. Operatorul din sectorul alimentar trebuie să respecte limita de "absență în 25g" înainte ca produsul să părăsească producătorul.

3. CARACTERISTICILE PRODUSULUI ȘI LITERATURA ȘTIINȚIFICĂ

3.1. Caracteristicile produsului

La stabilirea perioadei de conservare a unui produs alimentar RTE este important să se ia în considerare dacă produsul alimentar este capabil să susțină supraviețuirea sau dezvoltarea *Listeria monocytogenes*. Supraviețuirea și creșterea *Listeria monocytogenes* în alimentele RTE depind de caracteristicile acestora și de condițiile în care sunt produse, ambalate și depozitate.

Toate alimentele au propriile lor caracteristici unice care pot afecta siguranța alimentelor și perioada de conservare. Unele caracteristici prelungesc perioada de conservare, în timp ce altele o diminuează. Descrierea, măsurarea și înțelegerea acestor caracteristici vor permite operatorilor din sectorul alimentar să le identifice pe acelea care vor face alimentele să devină nesigure și vor afecta perioada de conservare.

Caracteristicile produselor alimentare sunt intrinseci și extrinseci. Caracteristicile **intrinseci** sunt cele inerente compoziției alimentelor, cum ar fi ingredientele și formularea acestora. Caracteristicile **extrinseci** sunt cele legate de mediul de procesare, care pot afecta alimentele, cum ar fi temperatura de depozitare și modul de ambalare.

Cele mai importante caracteristici ale produsului, care influențează supraviețuirea și creșterea *Listeria monocytogenes* în produsele alimentare RTE, sunt pH-ul, activitatea apei (a_w), temperatura și timpul de depozitare a alimentelor. Mai mult, conservanții și microflora protectoare, inclusiv posibilele culturi starter, pot avea un impact semnificativ asupra supraviețuirii și creșterii *Listeria monocytogenes* în produs.

Cunoscând caracteristicile (ex., pH, a_w , temperatura de depozitare) alimentelor RTE, operatorul din sectorul alimentar poate determina dacă există posibilitatea ca *Listeria*

monocytogenes să supraviețuiască sau să crească într-un anumit aliment RTE. Aceste informații pot, de asemenea, permite întreprinderilor din sectorul alimentar să-și reformuleze produsele pentru a preveni sau a minimiza supraviețuirea sau creșterea *Listeria monocytogenes*.

3.2. Literatura științifică

O resursă bogată de date despre *Listeria monocytogenes* și perioada de conservare este disponibilă din diferite cărți, jurnale științifice, publicații ale unor universități sau instituții tehnice. În plus, multe organisme naționale, europene (de ex., Autoritatea Europeană pentru Siguranța Alimentară - EFSA) și internaționale dețin date privind acest subiect.

Atunci când un operator din sectorul alimentar stabilește, pentru produsul său alimentar RTE, caracteristicile (ex., pH, a_w , temperatura de depozitare) și condițiile de fabricare, ambalare și depozitare, aceste informații pot fi utilizate pentru a compara produsul cu datele existente în literatura științifică privind supraviețuirea și creșterea *Listeria monocytogenes*. Câteva dintre limitele factorilor de supraviețuire și creștere ai *Listeria monocytogenes* sunt prezentate în tabelul de mai jos. Alți factori sau combinații de diferiți factori pot fi de asemenea relevanți, sub rezerva justificării științifice.

Listeria monocytogenes are caracteristici specifice, ce sporesc importanța sa ca organism implicat în producerea bolilor cu transmitere alimentară. Este capabilă să crească la 0°C (putând astfel să se dezvolte în alimentele refrigerate), să supraviețuiască în condiții de uscare și sărare, să crească la concentrații scăzute de oxigen și chiar fără oxigen disponibil (capacitate ce-i oferă un avantaj în alimentele ambalate în vid).

Câțiva factori cu impact asupra creșterii și supraviețuirii *Listeria monocytogenes*^a

Factor	Capacitate de creștere ^b			Capacitate de supraviețuire (fără creștere) ^c
	Limita inferioară de creștere	Optim	Limita superioară de creștere	
Temperatura (°C)	-1.5 – +3.0	30.0 – 37.0	45.0	-18.0
pH ^d	4.2 – 4.3	7.0	9.4 – 9.5	3.3 – 4.2

Activitatea apei (a _w)	0.90 – 0.93	0.99	> 0.99	< 0.90
Concentrația în sare (%)	< 0.5	0.7	12 – 16	≥ 20
Atmosfera	Facultativ anaerobă (poate crește în prezența sau absența oxigenului, de ex. în ambalaje cu vacuum sau atmosferă modificată)			
Tratament termic în timpul procesului de producție	O combinație temperatură/timp (de ex., 70 °C pentru 2) minute este necesară pentru o reducere decimală 6-D a numărului celulelor de <i>Listeria monocytogenes</i> (adică 10 ⁶). Alte combinații temperatură/timp pot furniza aceeași reducere.			

^a Limitele pentru creșterea și supraviețuirea *Listeria monocytogenes* prezentate în tabel se bazează în principal pe cercetări efectuate în laborator în condiții optime și ar trebui utilizate numai ca estimări pentru impactul asupra alimentelor

^b ”Optim” indică valorile pentru care creșterea *Listeria monocytogenes* se realizează cel mai rapid

^c Perioada de supraviețuire variază în funcție de natura alimentului și de alți factori

^d Inhibiția *Listeria monocytogenes* este dependentă de tipul de acid prezent

4. DATE ISTORICE

Datele istorice reprezintă o componentă a înregistrărilor pe care o întreprindere cu activitate în domeniul alimentar le păstrează ca parte a afacerii lor în curs de desfășurare. Unele dintre aceste date vor fi înregistrate de operatorul din sectorul alimentar ca parte a obligațiilor lui legale în conformitate cu legislația privind siguranța alimentară, cum ar fi trasabilitatea, HACCP și planurile de control propriu, inclusiv calitatea materiei prime, prelevarea de probe din zonele de prelucrare și echipamente (pentru a demonstra eficiența igienizării și dezinfecției) și testarea produselor, în special în ziua producției și la sfârșitul perioadei de conservare (pentru a verifica funcționarea eficientă a sistemului HACCP).

În funcție de natura sau de proveniența lor, datele istorice deținute de operatorul din sectorul alimentar sunt utile pentru verificarea siguranței și perioadei de conservare a alimentelor RTE din următoarele motive:

- datele istorice indică nivelurile de *Listeria monocytogenes* găsite în mediul de producție, materiile prime și produsele finite RTE, în conformitate cu practicile curente ale întreprinderilor privind GHP, GMP și HACCP,

- datele istorice privind nivelurile de *Listeria monocytogenes* în produsele finite RTE, la începutul și la sfârșitul perioadei de conservare, pot fi utilizate pentru a evalua potențialul de

creștere al bacteriei în alimente RTE similare, cu caracteristici intrinseci/extrinseci comparabile, produse în condiții identice,

- datele istorice generate și colectate în mod continuu pentru alimente RTE comparabile pot fi utilizate pentru analiza tendințelor.

Mai jos sunt oferite exemple pentru modul în care datele istorice pot fi utilizate în relație cu *Listeria monocytogenes*:

- în cazul în care nivelurile de *Listeria monocytogenes* în produsele alimentare RTE la sfârșitul perioadei de conservare sunt în mod constant scăzute sau absente și nu s-au obținut rezultate care depășesc 100 ufc/g, aceste date pot fi utilizate în combinație cu date provenite din analiza probelor prelevate din zonele de procesare și echipamente și cu date privind calitatea materiilor prime, pentru a oferi un nivel suficient de încredere că astfel de alimente RTE nu prezintă un risc pentru sănătatea publică. Nivelul de încredere crește cu cantitatea de date disponibile. Cu cât sunt testate mai multe unități de produs, cu atât devin mai fiabile datele istorice;

- datele istorice privind nivelurile de *Listeria monocytogenes* în produsele finite RTE, la începutul și la sfârșitul perioadei de conservare sunt, de asemenea, utilizate pe scară largă în practică pentru a verifica durabilitatea produselor și pentru a confirma că durata perioadei de conservare alocată rămâne adecvată atunci când sunt depozitate, manipulate și utilizate în condiții previzibile în mod rezonabil.

Cu toate acestea, operatorii din sectorul alimentar ar trebui să fie conștienți de faptul că datele istorice provenite din testările microbiologice pentru *Listeria monocytogenes*, care în mod constant nu reușesc să detecteze agentul patogen țintă, nu confirmă absența acestuia în alimente.

Operatorul din sectorul alimentar trebuie să ofere autorității competente garanții că datele istorice pe care le deține sunt suficiente pentru a demonstra că limita de 100 ufc/g nu va fi depășită în produs în timpul perioadei de conservare. În anumite situații, autoritatea competentă poate solicita ca aceste date să fie completate cu studii suplimentare, de ex. cu studii de laborator.

5. MICROBIOLOGIE PREDICTIVĂ (ELABORAREA DE MODELE MATEMATICE PREDICTIVE)

Microbiologia predictivă (elaborarea de modele matematice predictive) își propune să prezică comportamentul microorganismelor în produsele alimentare, în timpul fabricării sau depozitării lor.

Există date și modele disponibile în literatura de specialitate, implementate în software-uri ușor de utilizat. Unele dintre aceste modele au fost dezvoltate pentru a prezice comportamentul microbial atunci când sunt cunoscute caracteristicile fizico-chimice ale alimentelor (de ex., pH-ul, activitatea apei, concentrațiile de acizi organici) și temperatura de depozitare. Alte modele au fost dezvoltate pentru a prezice comportamentul microorganismelor în anumite alimente, indiferent de condițiile în care acestea sunt depozitate.

Unele modele se bazează pe date obținute din medii microbiologice lichide și sunt utilizate pentru a descrie impactul posibil al mai multor factori. Unele dintre aceste modele nu reușesc să descrie cu exactitate comportamentul microbial în alimente, deși cele mai robuste modele de acest tip au fost validate în alimente. Modelele bazate pe alimente pot descrie în mod eficient impactul condițiilor de depozitare asupra unui anumit produs alimentar, însă capacitatea lor de a descrie impactul variabilității caracteristicilor fizico-chimice ale alimentelor sau de a face previziuni în alte produse alimentare este discutabilă.

În ciuda limitărilor, modelele predictive rămân instrumente valoroase pentru estimarea creșterii *Listeria monocytogenes* în alimente, dacă limitările sunt cunoscute.

Modelele care preconizează timpul de adaptare microbială și ratele de creștere în alimente pot ajuta operatorul din sectorul alimentar să evalueze creșterea *Listeria monocytogenes* în produsele alimentare în timpul depozitării acestora, ținând cont de variabilitatea tulpinilor, de prelucrarea inerentă și de variabilitatea alimentelor și a condițiilor de depozitare.

Astfel, modelele care prezic probabilitatea de creștere a *Listeria monocytogenes* în alimente pot ajuta operatorul din sectorul alimentar să-și clasifice produsele.

Modelele microbiologice predictive trebuie utilizate cu prudență și numai de personal instruit și experimentat, cunoscător al limitărilor și condițiilor de utilizare.

Aplicarea în practică a microbiologiei predictive

Microbiologia predictivă poate fi utilă pentru următoarele aplicații:

- pentru a prezice creșterea bacteriilor în diferite condiții,
- pentru a prezice probabilitatea de creștere a microorganismelor în alimente,
- pentru a estima nivelul de contaminare într-o anumită zi a perioadei de conservare,
- pentru a testa variabilitatea între 2 loturi,
- pentru a optimiza formula (aditivi, pH, sare) pentru a asigura cea mai bună stabilitate,
- pentru a evalua impactul întreruperilor în lanțul termic și pentru a testa diferite scenarii de stocare,
- pentru a ajuta la identificarea punctelor critice de control într-un proces.

Unele modele recunoscute pe scară largă și utilizate frecvent în mod liber sunt enumerate mai jos, deși nu este vorba despre o listă exhaustivă:

- Growth Predictor - disponibil gratuit de la Institutul de Cercetare Alimentară din Marea Britanie (www.Ifri.ac.uk/safety/growthpredictor)

- Pathogen Modelling Programme - disponibil gratuit de la Departamentul de Agricultură al Statelor Unite ale Americii, Serviciul de Cercetare în Agricultură (<http://ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=6786>).

Alte produse software sunt disponibile în comerț.

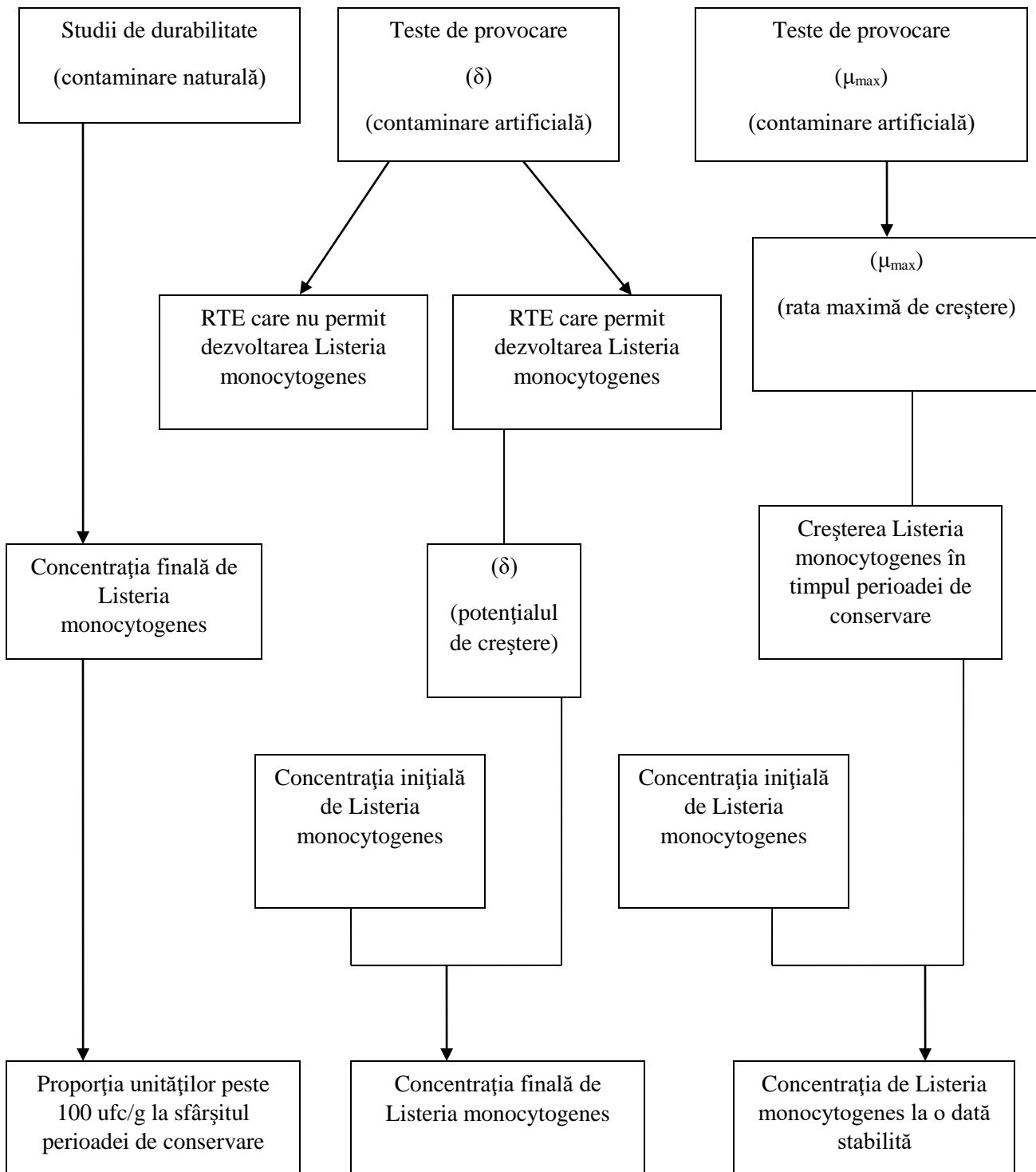
6. STUDII DE LABORATOR SPECIFICE PENTRU INVESTIGAREA RESPECTĂRII CRITERIILOR PRIVIND *Listeria monocytogenes* ÎN ALIMENTELE RTE, PE TOATĂ DURATA PERIOADEI DE CONSERVARE

Această secțiune descrie procedurile microbiologice folosite pentru determinarea creșterii *Listeria monocytogenes* utilizând studii de durabilitate și teste de provocare. Testele de provocare pot fi în continuare împărțite în două categorii: evaluarea potențialului de creștere (δ) și evaluarea ratei maxime de creștere (μ_{\max}).

Scopul **testelor de provocare** îl reprezintă furnizarea de informații privind comportamentul *Listeria monocytogenes* inoculată artificial într-un produs alimentar, în condiții de depozitare specificate. Testele de provocare pot lua în considerare variabilitatea loturilor, a probelor de aliment și a tulpinilor inoculate. Nivelul de contaminare, heterogenitatea contaminării și statusul fiziologic al bacteriilor sunt dificil de simulat într-un test de provocare; metoda de contaminare nu poate întotdeauna să imite în întregime contaminarea naturală.

Studiile de durabilitate permit o evaluare a duratei perioadei de conservare a alimentelor în ceea ce privește *Listeria monocytogenes* într-un produs alimentar contaminat natural de-a lungul perioadei de depozitare de la producție până la consum, în condiții care pot fi prevăzute în mod rezonabil (temperatură/timp).

Studiile de durabilitate sunt considerate mai realiste decât testele de provocare, deoarece contaminarea este apărută în mod natural, însă implementarea lor este limitată în cazul prevalenței scăzute și al nivelului scăzut de contaminare.



6.1. TESTE DE PROVOCARE

Atunci când un produs alimentar nou, cu un set unic de caracteristici intrinseci și extrinseci, este dezvoltat de un operator din sectorul alimentar, datele privind efectul caracteristicilor intrinseci și extrinseci asupra *Listeria monocytogenes* s-ar putea să nu fie disponibile în literatura științifică.

În consecință, poate fi necesar ca evaluarea siguranței alimentelor să se realizeze folosind teste de provocare, care determină dacă *Listeria monocytogenes* poate crește și/sau supraviețui în alimente și, dacă da, cât de rapidă va fi această creștere.

Testele de provocare vizează furnizarea de informații privind **comportamentul *Listeria monocytogenes* inoculată artificial** într-un produs alimentar, depozitat în anumite condiții, considerate a fi cele mai favorabile pentru creșterea *Listeria monocytogenes*.

În majoritatea cazurilor, operatorii din sectorul alimentar nu vor solicita realizarea testelor de provocare pentru produsele alimentare. Dar, pentru acele alimente care ar putea necesita acest tip de teste, este important de reținut că această procedură este extrem de specializată, complexă și costisitoare. Astfel, înainte de a se decide utilizarea testelor de provocare, se recomandă cu fermitate consultarea unui organism competent sau a unui laborator experimentat.

Se pot distinge două tipuri de teste de provocare, implementate în scopuri diferite: evaluarea potențialului de creștere sau estimarea parametrilor de creștere (ex., rata maximă de creștere).

6.1.1. Testele de provocare pentru evaluarea potențialului de creștere (δ)

Un test microbiologic de provocare pentru evaluarea potențialului de creștere (δ) este un studiu realizat în laborator care măsoară creșterea *Listeria monocytogenes* într-un produs alimentar contaminat artificial, depozitat în condiții previzibile de transport, distribuție și depozitare până la consum. Un astfel de test trebuie să reflecte condițiile care pot apărea cel mai probabil în realitate de-a lungul lanțului frigorific, incluzând condițiile de depozitare de după producție până la consum. Perioada de testare începe în ziua contaminării și se finalizează la sfârșitul perioadei de conservare.

Potențialul de creștere (δ) reprezintă diferența dintre concentrația *Listeria monocytogenes* la sfârșitul testului și concentrația ei la începutul testului și se calculează conform formulei:

$$\delta = ([\text{L.m.}] \text{ la sfârșitul testului}) - ([\text{L.m.}] \text{ la începutul testului})$$

unde concentrația *Listeria monocytogenes* se exprimă ca \log_{10} ufc/g.

Potențialul de creștere (δ) depinde de mulți factori, dintre care cei mai importanți sunt:

- tulpina (tulpinile) inoculate,
- nivelul de inoculare,
- statusul fiziologic al tulpinii/tulpinilor inoculate,
- proprietățile intrinseci ale alimentului (ex., pH-ul, conținutul de NaCl, a_w , conținutul nutrițional, microflora asociată, constituenții antimicrobieni) și
- proprietățile extrinseci (ex., profilul timp-temperatură, atmosfera de gaz, umiditatea).

În cadrul aplicării prevederilor Regulamentului (CE) nr. 2073/2005, potențialul de creștere (δ) poate fi folosit:

► pentru a clasifica un aliment:

• **dacă $\delta > 0,5 \log_{10}$ ufc/g**, alimentul este clasificat în categoria 1.2, "Produse alimentare gata pentru consum, care **permit dezvoltarea *Listeria monocytogenes***, altele decât cele destinate sugarilor sau unor scopuri medicale speciale"

• **dacă $\delta \leq 0,5 \log_{10}$ ufc/g**, alimentul este clasificat în categoria 1.3, "Produse alimentare gata pentru consum, care **nu permit dezvoltarea de *Listeria monocytogenes***, altele decât cele destinate sugarilor sau unor scopuri medicale speciale"

► pentru a cuantifica comportamentul *Listeria monocytogenes* într-un aliment din categoria 1.2, conform condițiilor definite, previzibile în mod rezonabil, între producție și consum (estimarea concentrației finale, de la sfârșitul perioadei de conservare, cunoscând concentrația inițială/determinarea concentrației inițiale, de la începutul perioadei de conservare, care ar permite alimentelor să respecte limita de 100 ufc/g la sfârșitul perioadei de conservare).

Principalele **avantaje** ale acestei metode: este relativ simplu de implementat; rezultatele ei pot fi folosite în mod direct; se ia în considerare faza de adaptare legată de temperatură.

Dezavantajul este reprezentat de lipsa de flexibilitate în interpretare - rezultatele sunt valide numai pentru alimentul testat, în condiții specifice de testare; de fiecare dată când survine o schimbare (se modifică rețeta produsului, se folosesc alte profile timp-temperatură) trebuie realizate noi experimente. De asemenea, potențialul de creștere acoperă în general perioade lungi de timp (întreaga perioadă de conservare) și deci nu poate fi folosit pentru a anticipa creșterea pe o perioadă limitată de timp.

Protocolul realizării unui astfel de test cuprinde mai multe etape:

1) alegerea loturilor – numărul de loturi

- numărul de loturi care vor fi testate se determină utilizând fie un soft de microbiologie predictivă (care ține cont de pH, a_w și temperatură), fie un calculator pentru determinarea variabilității inter-lot a caracteristicilor fizico-chimice ale produsului în relație cu *Listeria monocytogenes* (care ține cont de pH, a_w , temperaturile de depozitare, valorile cardinale ale tulpinilor (temperatura minimă de creștere, temperatura optimă de creștere, pH-ul minim de creștere, pH-ul optim de creștere, a_w minim de creștere, a_w optim de creștere)).

- se testează cel puțin 3 loturi diferite ale aceluiași aliment, produse în condiții normale ale procesului de fabricație, în timpi diferiți.

2) alegerea tulpinilor

- testarea se realizează cu un amestec format din cel puțin 2 tulpini de *Listeria monocytogenes*, pentru a lua în calcul variațiile în creștere dintre tulpini.

3) pregătirea inoculului

Fiecare tulpină se subcultivă de două ori:

- prima subcultură, realizată în scopul de a aduce celulele la același status fiziologic,
- a doua subcultură, realizată în scopul adaptării tulpinii la condițiile de depozitare a produsului.

Fiecare subcultură secundară se combină în cantități egale, din acest amestec obținându-se un inocul cu o concentrație cunoscută, ce se utilizează imediat.

4) pregătirea și inocularea unităților test

Etapa de inoculare reprezintă un punct critic în realizarea unui test de provocare.

Inocularea trebuie să realizată cât mai eficient, astfel încât să se mențină proprietățile intrinseci ale alimentului. Volumul de inocul nu trebuie să depășească 1% din masa sau volumul unității test.

În mod obișnuit, pentru un astfel de test se folosesc câte 14 unități test pentru fiecare din cele 3 loturi. Jumătate din aceste unități vor fi testate în prima zi (în ziua de începere a testului), cealaltă jumătate în ultima zi (în ziua de finalizare a testului). Cu toate acestea, se recomandă să se ia în calcul în plus cel puțin încă 2 zile intermediare care, chiar dacă nu sunt obligatorii, sunt foarte folositoare, pentru o mai corectă interpretare a rezultatelor testului.

Numărul minim de unități test/lot pregătite

	D ₀ (ziua inoculării)	D _F (sfârșitul perioadei de conservare)
Numărarea <i>Listeria monocytogenes</i> în unitățile test inoculate	3	3
Detecția <i>Listeria monocytogenes</i> în unitățile test neinoculate	3	3
Măsurarea caracteristicilor fizico-chimice în unitățile test neinoculate		
Măsurarea caracteristicilor atmosferei de gaz în unitățile test neinoculate (pentru produsele conservate în atmosferă de gaz)	1	1
Numărarea microflorei asociate în unitățile test neinoculate		

- pentru fiecare lot, se inoculează ser fiziologic steril în 2 unități test care vor fi folosite pentru determinarea concentrației microflorei, a caracteristicilor fizico-chimice și a atmosferei gazoase dacă este cazul (o probă se va analiza la D₀ și una la D_F); pentru toate aceste determinări se poate utiliza aceeași unitate test.

- în unitățile folosite ca blank (6 la număr pentru fiecare lot) nu se inoculează nimic (3 probe se vor analiza la D₀ și 3 la D_F și se va realiza detecție de *Listeria monocytogenes*). Dacă *Listeria monocytogenes* este prezentă în aceste unități, rezultatul testului nu este valid.

- pentru fiecare lot, se inoculează cultură de *Listeria monocytogenes* în 6 unități test, astfel încât să se simuleze condițiile de contaminare naturală și să se mențină proprietățile

alimentului (3 probe se vor analiza la D_0 și 3 la D_F și se va realiza numărare de *Listeria monocytogenes* în scopul determinării concentrației acesteia în produs).

Nivelul de contaminare țintă este aproximativ 100 ufc/g.

5) condiții de depozitare pentru alimentele inoculate

Condițiile de depozitare (incubare) aplicate în decursul testului realizat în laborator trebuie să fie în concordanță cu cele la care produsul este cel mai probabil să fie supus în condiții normale de utilizare, până la consumul lui final. Acestea ar trebui să includă intervalul tipic de temperaturi de-a lungul lanțului de frig: de la producție la comercializare (prima perioadă), depozitarea la comercializare (a 2-a perioadă) și depozitarea la consumator (a 3-a perioadă).

Temperatura (temperaturile) utilizată(e) pentru a determina durata perioadei de conservare a produsului trebuie justificată și documentată în mod corespunzător de către operatorul din sectorul alimentară.

- Pentru prima etapă a lanțului de frig (de la fabricație până la sosirea la locul de vânzare cu amănuntul), atunci când operatorul din sectorul alimentară are propriile sale date (temperaturi justificate prin informații detaliate), utilizarea de către laborator a acestor informații este preferată. În acest caz se folosește a 95-a percentilă din lista ce cuprinde valorile observate de operatorul din sectorul alimentară, ordonate în ordine crescătoare. Dacă nu există date disponibile, se utilizează temperatura prestabilită de 7°C.

- Pentru a doua etapă (la comerțul cu amănuntul: vitrina) și a treia etapă (depozitarea la consumator) a lanțului de frig, atunci când sunt disponibile informații, se preferă utilizarea datelor naționale (date rezultate din observații realizate la nivel național) din țara în care are loc comercializarea și consumul produselor respective. În acest caz se folosește a 95-a percentilă din lista ce cuprinde valorile observate, ordonate în ordine crescătoare. Dacă nu există date disponibile, se utilizează temperaturile prestabilite de 7°C (pentru etapa 2), respectiv 12°C (pentru etapa 3).

Exemplu:

- se poate alege o combinație de 12 zile (1/3 din durata testului) la 4°C și 26 zile (2/3 din durata testului) la 8°C, pentru a simula mai întâi transportul de la producător până la nivelul vânzării cu amănuntul, apoi etapa de depozitare la nivelul vânzării cu amănuntul și la consumator (un total de 38 de zile perioadă de conservare).

6) analize microbiologice

- metode de numărare pentru *Listeria monocytogenes* – ISO 11290-2 sau metode validate AFNOR

- metode de detecție pentru *Listeria monocytogenes* – ISO 11290-1 sau metode validate AFNOR

- numărarea microflorei asociate (ex., bacterii acidolactice, *Pseudomonas*, drojii și mucegaiuri) – orice document CEN, ISO sau standard național pentru organismul sau tipul de matrice urmărit.

7) calcularea potențialului de creștere (δ)

Potențialul de creștere (δ) este diferența dintre \log_{10} ufc/g concentrația finală și \log_{10} ufc/g concentrația inițială.

Pentru fiecare lot se calculează concentrațiile inițiale și finale (pentru fiecare din cele 3 probe analizate). Concentrațiile se transformă în \log_{10} ufc/g și se ia în considerare valoarea intermediară între cele 3. Se face diferența între valorile intermediare pentru prima zi a testului și pentru ultima zi. Va rezulta câte o valoare pentru fiecare lot. Se alege δ valoarea diferenței maxime dintre ziua finală și ziua inițială între cele 3 loturi.

8) exploatarea rezultatelor – responsabilitatea operatorului din sectorul alimentar

► Abilitatea de a permite dezvoltarea *Listeria monocytogenes*

- dacă $\delta > 0,5 \log_{10}$ ufc/g, se consideră că alimentul poate permite dezvoltarea *Listeria monocytogenes*

- dacă $\delta \leq 0,5 \log_{10}$ ufc/g, se consideră că alimentul nu poate permite dezvoltarea *Listeria monocytogenes*

► Utilizarea valorii δ

În cazul în care se admite că alimentul poate permite dezvoltarea *Listeria monocytogenes*, valoarea lui δ ($> 0,5 \log_{10}$ ufc/g) poate fi folosită pentru predicția creșterii astfel:

concentrația finală = concentrația inițială + δ sau

concentrația inițială = concentrația finală – δ

În practică, concentrația finală obținută prin calculul de mai sus poate fi folosită pentru a determina, pentru un produs dat, cu o concentrație cunoscută în ziua inițială, dacă concentrația preconizată în ziua finală va depăși limita de 100 ufc/g sau nu.

Exemple:

- **întrebarea 1:** alimentul permite creșterea *Listeria monocytogenes* conform valorii δ ?
 - dacă $\delta = 0,10 \log_{10} \text{ ufc/g}$, δ este sub valoarea 0,5, deci este acceptat faptul că alimentul nu permite creșterea *Listeria monocytogenes*
 - dacă $\delta = 0,70 \log_{10} \text{ ufc/g}$, δ este mai mare decât valoarea 0,5, deci este acceptat faptul că alimentul permite creșterea *Listeria monocytogenes*

• **întrebarea 2:** cunoscând concentrația inițială de $1 \log_{10} \text{ ufc/g}$ și valoarea δ de 0,70, concentrația previzionată la sfârșitul testului va fi:

$$\text{concentrația finală} = \text{concentrația inițială} + \delta$$

$$1 + 0,70 = 1,70 \log_{10} \text{ ufc/g},$$

adică sub limita legală de $2 \log_{10} \text{ ufc/g}$ (100 ufc/g).

6.1.2. Testele de provocare pentru evaluarea ratei maxime de creștere (μ_{\max})

Principalul dezavantaj al testelor de provocare pentru evaluarea potențialului de creștere (δ), respectiv lipsa de flexibilitate în interpretare, poate fi rezolvat combinând modelele microbiologiei predictive cu testele de provocare pentru evaluarea ratei maxime de creștere (μ_{\max}). Aceste experimente sunt mult mai costisitoare și consumatoare de timp decât testele prezentate anterior și sunt rezervate cazurilor în care microbiologia predictivă poate fi aplicată, în laboratoare specializate.

Un test microbiologic de provocare pentru evaluarea ratei maxime de creștere (μ_{\max}) este un studiu realizat în laborator care măsoară rata de creștere a *Listeria monocytogenes* într-un produs alimentar contaminat artificial, depozitat în condiții previzibile la o temperatură fixă.

Odată ce testul a fost efectuat, viteza maximă de creștere (μ_{\max} exprimată ca logaritm natural) a tulpinii de *Listeria monocytogenes* la temperatura selectată se calculează pornind de la curba de creștere.

Pe o reprezentare grafică, în faza exponențială de creștere, raportarea numărului de celule (exprimat logaritmic) la timp produce o linie dreaptă. Panta acestei linii reprezintă rata maximă de creștere (μ_{\max}) a bacteriei.

Rata maximă de creștere (μ_{\max}) este un parametru important al curbei de creștere și depinde de:

- tulpina (tulpinile) inoculate,
- proprietățile intrinseci ale alimentului (de ex., pH-ul, conținutul de NaCl, a_w , conținutul nutrițional, microflora asociată, constituenții antimicrobieni) și
- proprietățile extrinseci (de ex., profilul de temperatură, atmosfera de gaz, umiditatea).

Testele microbiologice de provocare pentru evaluarea ratei maxime de creștere (μ_{\max}) permit estimarea concentrației *Listeria monocytogenes* într-o anumită zi din decursul perioadei de conservare (în special la sfârșit), atunci când se cunoaște concentrația inițială și estimarea concentrației maxime permise de *Listeria monocytogenes* într-un aliment în etapa de producție, în scopul respectării limitei de 100 ufc/g la sfârșitul perioadei de conservare.

Avantajul acestor teste de provocare este flexibilitatea: este posibilă extrapolarea unei μ_{\max} la o temperatură pentru a prezice alte valori μ_{\max} la alte temperaturi (sub 25°C) în același produs alimentar. Temperatura folosită pentru experiment nu este neapărat cea folosită pentru predicție, de vreme ce este posibil să anticipezi creșterea la o altă temperatură decât cea testată, sau de-a lungul unui profil timp-temperatură ales pentru a fi reprezentativ pentru condițiile previzibile de transport, distribuție și depozitare.

Dezavantajul constă în faptul că faza de adaptare și faza staționară nu sunt luate în considerare.

Protocolul realizării unui astfel de test cuprinde mai multe etape:

1) *alegerea loturilor – numărul de loturi*

- se testează cel puțin 3 loturi diferite ale aceluiași produs.

2) *alegerea tulpinilor*

- cel puțin 2 tulpini se testează separat pentru fiecare lot.

3) pregătirea inoculului

- condițiile pentru pregătirea inoculului sunt identice celor descrise pentru testele de provocare pentru evaluarea potențialului de creștere (δ), cu excepția faptului că tulpinile provenite din a doua subcultivare nu sunt combinate în cantități egale, fiecare tulpină fiind utilizată individual.

4) pregătirea și inocularea unităților test

Condițiile pentru pregătirea și inocularea unităților test sunt identice celor descrise pentru testele de provocare pentru evaluarea potențialului de creștere (δ), cu excepția faptului că pentru situația de față inocularea se realizează cu o singură tulpină (nu cu un amestec) pentru fiecare curbă de creștere.

În mod obișnuit, pentru un astfel de test se folosesc între 18-23 unități test pentru fiecare lot (adică între 54 - 63 unități test pentru toate cele 3 loturi).

Numărul minim de unități test/lot pregătite

	Unități test	
Numărarea <i>Listeria monocytogenes</i> în unitățile test inoculate	10 - 15 (din care 5 - 7 în faza exponențială)	
Detecția <i>Listeria monocytogenes</i> în unitățile test neinoculate	D ₀ (ziua inoculării) 3	D _F (sfârșitul perioadei de conservare) 3
Măsurarea caracteristicilor fizico-chimice în unitățile test neinoculate	D ₀ (ziua inoculării) 1	D _F (sfârșitul perioadei de conservare) 1
Măsurarea caracteristicilor atmosferei de gaz în unitățile test neinoculate (pentru produsele conservate în atmosferă de gaz)		
Numărarea microflorei asociate în unitățile test neinoculate		

- pentru fiecare lot, se inoculează ser fiziologic steril în 2 unități test care vor fi folosite pentru determinarea concentrației microflorei, a caracteristicilor fizico-chimice și a atmosferei gazoase dacă este cazul (o probă se va analiza la D₀ și una la D_F); pentru toate aceste determinări se poate utiliza aceeași unitate test.

- în unitățile folosite ca blank (6 la număr pentru fiecare lot) nu se inoculează nimic (3 probe se vor analiza la D_0 și 3 la D_F și se va realiza detecție de *Listeria monocytogenes*). Dacă *Listeria monocytogenes* este prezentă în aceste unități, rezultatul testului nu este valid.

- pentru fiecare lot, se inoculează cultură de *Listeria monocytogenes* în 10-15 unități test și se va realiza numărare de *Listeria monocytogenes* în scopul determinării concentrației acesteia în produs.

Nivelul de contaminare țintă este aproximativ 100 ufc/g.

5) condiții de depozitare pentru alimentele inoculate

- testele se realizează la temperatură fixă, de preferat apropiată de temperatura aleasă pentru predicție.

6) analize microbiologice

- metode de numărare pentru *Listeria monocytogenes* – ISO 11290-2 sau metode validate AFNOR

- metode de detecție pentru *Listeria monocytogenes* – ISO 11290-1 sau metode validate AFNOR

- numărarea microflorei asociate (ex. bacterii acidolactice, *Pseudomonas*, drojzii și mucegaiuri) – orice document CEN, ISO sau standard național pentru organismul sau tipul de matrice urmărit.

7) calcularea ratei maxime de creștere (μ_{max})

Pentru a putea interpreta rezultatele sunt necesare cunoștințe de bază de microbiologie predictivă.

Astfel, odată testul realizat, se calculează rezultatele pentru numărare, conform ISO 7218, apoi se exprimă ca \log_{10} ufc/g. Folosind software-uri de tipul DMFit, se desenează curbele de creștere, câte una pentru fiecare tulpină și fiecare lot. Pentru fiecare curbă (adică toate punctele experimentale dintr-un lot) rata de creștere poate fi ușor estimată prin regresie non-liniară.

Software-ul DMFit furnizează o diagramă cu punctele experimentale și curba corespunzătoare. De asemenea, extrage parametrii de creștere ai curbei, în special rata de creștere denumită ”rată” (exprimată în logaritm zecimal).

Pe reprezentarea grafică menționată anterior, în faza exponențială de creștere, raportarea numărului de celule (exprimat logaritm) la timp produce o linie dreaptă. Panta acestei linii reprezintă rata maximă de creștere (μ_{\max} exprimată ca logaritm natural) a bacteriei.

Astfel, rata maximă de creștere (μ_{\max}) pentru tulpina de *Listeria monocytogenes* studiată la temperatura stabilită se calculează din curba de creștere.

Se calculează rata pentru fiecare curbă de creștere. Dacă se folosește 1 lot și 2 tulpini, se vor interpreta 2 curbe de creștere. Dacă se folosesc 3 loturi și 2 tulpini, se vor interpreta 6 curbe de creștere. Apoi, pentru exploatarea rezultatelor, se va reține curba de creștere cu cea mai mare valoare a ratei de creștere.

Rata maximă de creștere (μ_{\max}) este exprimată ca logaritm natural, în timp ce rata de creștere este exprimată ca logaritm zecimal, de unde μ_{\max} (în logaritm natural) = \ln_{10} x rata (în logaritm zecimal).

8) exploatarea rezultatelor – responsabilitatea operatorului din sectorul alimentară

► Rata de creștere

Cunoscând valoarea ratei de creștere la temperatura de referință T_{ref} , este posibil să se calculeze o altă rată de creștere la o altă temperatură T .

Astfel, dintr-o curbă de creștere la T_{ref} , rata estimată folosind DMFit este indicată ca rata_{ref} . Apoi, calculul ratei în același produs alimentară (cu aceleași caracteristici fizico-chimice) la o altă temperatură T va fi obținut folosind următoarea formulă simplificată, dacă T și T_{ref} sunt ambele inferioare valorii de 25°C:

$$\text{rata} = \text{rata}_{\text{ref}} \times \frac{(T - T_{\text{min}})^2}{(T_{\text{ref}} - T_{\text{min}})^2}$$

cu T_{min} temperatura minimă de creștere pentru *Listeria monocytogenes* $\approx -1,5^{\circ}\text{C}$ și rata și rata_{ref} exprimate în \log_{10} ufc/g pe unitate de timp.

► Determinarea creșterii

Presupunând un model primar foarte simplu (fără faza de adaptare sau faza staționară, care poate conduce la un rezultat sigur în mod fals):

- creșterea (în \log_{10}) obținută la T_{ref} la ziua de depozitare d_1 (în zile) = rata_{ref} (\log_{10} ufc/g per zi) x d_1

- creșterea (în \log_{10}) obținută la T la ziua de depozitare d_2 (în zile) = rata (\log_{10} ufc/g per zi) x d_2

Predicția se poate aplica astfel oricărui profil timp-temperatură, și în special condițiilor la care produsul este cel mai probabil de a fi supus în condiții normale, până la consumul final.

Exemple:

• date cunoscute:

- perioada de conservare: 9 zile, d_0 este ziua de producție

- condiții de depozitare: 4°C pentru 3 zile (d_1) și 8°C pentru 6 zile (d_2)

- testul de provocare a fost realizat la $T_{ref} = 8^\circ\text{C}$

- $T_{min} = -1,5^\circ\text{C}$

- rata_{ref} = 1,00 \log_{10} cfu/g; rata_{refmax} = 1,08 \log_{10} ufc/g per zi

Este permisă astfel predicția ratei la $T = 4^\circ\text{C}$, conform formulei

$$\text{rata}_{\max} = \text{rata}_{\text{refmax}} \times \frac{(T - T_{\min})^2}{(T_{\text{ref}} - T_{\min})^2} = 0,36 \log_{10} \text{ ufc/g per zi}$$

Deci, rata maximă de creștere previzionată la 4°C este 0,36 \log_{10} ufc/g per zi.

• **întrebarea 1:** care este creșterea *Listeria monocytogenes* previzionată de-a lungul perioadei de conservare?

Creșterea = [(rata₁ în \log_{10} ufc/g per zi) x d_1] + [(rata₂ în \log_{10} ufc/g per zi) x d_2] unde

Creșterea_{max} = (0,36 x 3) + (1,08 x 6) = 7,56 \log_{10} ufc/g

Acest calcul nu include faza de adaptare și faza staționară și, deci, rezultatul poate fi (foarte) lipsit de siguranță.

• **întrebarea 2:** care este concentrația *Listeria monocytogenes* la sfârșitul perioadei de conservare dacă nivelul *Listeria monocytogenes* la ziua 7 este egal cu 1,65 \log_{10} ufc/g?

Nivelul maxim al *Listeria monocytogenes* la d_f va fi 1,65 + (1,08 x 2) = 3,81 \log_{10} ufc/g.

Limita de 100 ufc/g va fi astfel depășită pentru acest produs.

6.2. STUDII DE DURABILITATE

Studiile de durabilitate (durability studies) permit **evaluarea creșterii *Listeria monocytogenes* într-un produs alimentar contaminat natural**, de-a lungul perioadei lui de depozitare de la producție până la consum, în condiții care pot fi prevăzute în mod rezonabil (temperatură/timp).

Studiile de durabilitate sunt considerate mult **mai realiste decât testele de provocare**, de vreme ce **contaminarea este naturală**. Ele pot fi folosite atunci când *Listeria monocytogenes* este în mod obișnuit detectată în alimentele testate la sfârșitul procesului de fabricație.

Interpretarea rezultatelor studiilor de durabilitate poate fi însă dificilă, pe de o parte deoarece este foarte probabil să existe o prevalență relativ scăzută a unităților de produs alimentar contaminate cu *Listeria monocytogenes*, pe de altă parte din cauza numărului foarte scăzut de *Listeria monocytogenes* prezent inițial în produs și a heterogenității distribuției *Listeria monocytogenes* în aliment. Prin urmare, în astfel de situații, poate fi necesară utilizarea altor instrumente, cum ar fi testele de provocare, pentru a colecta informația necesară în vederea stabilirii duratei perioadei de conservare și pentru a asigura conformitatea de ≤ 100 ufc/g la sfârșitul perioadei de conservare a produsului.

Un istoric al studiilor de durabilitate efectuate pentru același produs în cadrul aceluiași proces, reprezentativ pentru variabilitatea condițiilor de fabricație, va permite ca nivelurile *Listeria monocytogenes* din aliment să fie evaluate la sfârșitul testului. Acesta poate fi utilizat pentru a evalua proporția (cu intervalul de încredere asociat) unităților (unităților comerciale) care depășesc valoarea limită de 100 ufc/g la sfârșitul perioadei de conservare, după o perioadă de depozitare care reflectă condițiile previzibile de distribuție și depozitare. Nivelul de încredere crește cu cantitatea de date disponibile. Cu cât sunt testate mai multe unități de produs, cu atât devin mai fiabile studiile privind perioada de conservare.

La realizarea studiilor de durabilitate trebuie luate în considerare următoarele aspecte: procedura de prelevare a probelor, condițiile de depozitare, metoda de numărare pentru *Listeria monocytogenes* și modul de calcul.

► Prelevarea probelor este considerată responsabilitatea operatorului din sectorul alimentar, care trebuie însă să colaboreze cu echipa laboratorului care realizează studiile de durabilitate. Procedura de prelevare trebuie să fie reprezentativă pentru lot (să ia în considerare heterogenitatea producției) și să aibă o bună precizie, ceea ce depinde de dimensiunea lotului din care se prelevează probele.

Atunci când nu sunt disponibile informații despre structura lotului, modul obiectiv de a extrage unitățile test este de a oferi tuturor unităților din acel lot aceeași șansă de a fi selectate. **Procedura de prelevare randomizată simplă** este recomandată pentru a estima proporția de unități test peste limita de 100 ufc/g.

Procedura de prelevare randomizată simplă **se bazează pe principiul echiprobabilității**. Acest principiu garantează fiecărei unități din lot șansa egală de a fi selectată. Pentru a satisface acest principiu, se presupune că dimensiunea lotului (N) trebuie să fie destul de mare în comparație cu numărul (n) al unităților test: $n / N < 10\%$.

Una din posibilitățile de a realiza prelevarea randomizată simplă este de a numerota fiecare unitate din lot sau timpii de producție și apoi de a folosi numere la întâmplare pentru a selecta numărul necesar de unități test. De exemplu, numere la întâmplare pot fi obținute dintr-o foaie de calcul Excel, cu formula = RAND(), sau din tabele cu numere aleatorii.

► Condițiile de depozitare (incubare) aplicate în decursul testului realizat în laborator trebuie să fie în concordanță cu cele la care produsul este cel mai probabil să fie supus în condiții normale de utilizare, până la consumul lui final. Acestea ar trebui să includă intervalul tipic de temperaturi de-a lungul lanțului de frig: de la producție la comercializare (prima perioadă), depozitarea la comercializare (a 2-a perioadă) și depozitarea la consumator (a 3-a perioadă).

Temperatura în timpul perioadei de conservare este o parte critică a testelor realizate în laborator. Este responsabilitatea operatorului din sectorul alimentar să se asigure că condițiile de depozitare utilizate sunt realiste, având în vedere faptul că temperaturile de stocare inscripționate pe ambalaj nu pot fi întotdeauna menținute pe tot parcursul lanțului de frig (de la producție la consum). Dacă se folosește o temperatură de depozitare necorespunzătoare (temperatură mai scăzută decât cea întâlnită de obicei), poate exista o subestimare a creșterii *Listeria monocytogenes* și deci o supraestimare a duratei sigure a perioadei de conservare.

Temperatura (temperaturile) utilizată(e) pentru a determina durata perioadei de conservare a produsului trebuie justificată și documentată în mod corespunzător de către operatorul din sectorul alimentară.

- Pentru prima etapă a lanțului de frig (de la fabricație până la sosirea la locul de vânzare cu amănuntul), atunci când operatorul din sectorul alimentară are propriile sale date (temperaturi justificate prin informații detaliate), utilizarea de către laborator a acestor informații este preferată. În acest caz se folosește a 95-a percentilă din lista ce cuprinde valorile observate de operatorul din sectorul alimentară, ordonate în ordine crescătoare. Dacă nu există date disponibile, se utilizează temperatura prestabilită de 7 grade Celsius.

- Pentru a doua etapă (la comerțul cu amănuntul: vitrina) și a treia etapă (depozitarea la consumator) a lanțului de frig, atunci când sunt disponibile informații, se preferă utilizarea datelor naționale (date rezultate din observații realizate la nivel național) din țara în care are loc comercializarea și consumul produselor respective. În acest caz se folosește a 95-a percentilă din lista ce cuprinde valorile observate, ordonate în ordine crescătoare. Dacă nu există date disponibile, se utilizează temperaturile prestabilite de 7 (pentru etapa 2), respectiv 12 grade Celsius (pentru etapa 3).

► Analizele microbiologice - la sfârșitul perioadei de depozitare se analizează toate unitățile test folosind **metoda de numărare pentru *Listeria monocytogenes***, în scopul de a evalua dacă nivelul de 100 ufc/g este depășit sau nu.

Conform Anexei I a Regulamentului (CE) nr. 2073/2005, **metoda de referință pentru numărarea *Listeria monocytogenes* este metoda standard EN ISO 11290-2**. Conform art. 5 al aceluiași Regulament, se acceptă utilizarea metodelor analitice alternative, atunci când acestea sunt validate comparativ cu metoda de referință. Alte metode trebuie validate conform protocoalelor internaționale acceptate, iar folosirea lor trebuie autorizată de către autoritățile competente.

Limita de numărare trebuie să fie de 10 ufc/g, în scopul de a putea cuantifica cu precizie nivelul de contaminare cu *Listeria monocytogenes* la sfârșitul perioadei de depozitare.

► Modul de calcul

În cazul testării unui lot, criteriul de acceptabilitate a produsului definit în Regulamentul (CE) nr. 2073/2005 este $n=5$, $c=0$, $m=M=100\text{ufc/g}$ la momentul consumului. Când limita

stabilită de criteriu este depășită, produsul este considerat nesigur și nu poate fi introdus în piață, caz în care sunt necesare revizuirea și îmbunătățirea procesului de producție.

Interpretarea studiilor de durabilitate, care constă în validarea faptului că limita de 100 ufc/g nu este depășită la momentul consumului, reprezintă un caz diferit. Această interpretare poate fi ușurată prin evaluarea proporției (împreună cu intervalul de încredere asociat) unităților ce depășesc 100 ufc/g la sfârșitul perioadei de conservare, după o perioadă de depozitare ce reflectă condițiile prevăzute de distribuție și depozitare.

Din numărul (n) de unități test luate în mod aleatoriu dintr-un lot (cu dimensiunea N), proporția estimată (p) a unităților ce depășesc 100 ufc/g la sfârșitul perioadei de conservare este derivată simplu ca proporția observată $p = r/n$ (unde r este numărul de unități test peste 100 ufc/g).

Pentru a calcula intervalul de încredere asociat proporției estimate (p) putem folosi un calculator (astfel de calculatoare sunt disponibile în mod gratuit pe Internet).

Pentru unitățile testate, după perioada de depozitare, tabelul de mai jos furnizează proporțiile estimate (p) cu intervalele de încredere asociate, pentru trei valori ale lui (r) (număr de unități test > 100 ufc/g *Listeria monocytogenes*). Este foarte important să se extragă dintr-un lot și să se analizeze un număr suficient de unități, pentru a putea estima corect proporția unităților ce depășesc 100 ufc/g, cu un interval de încredere cât mai redus.

n numărul de unități test analizate	r numărul de unități test > 100 ufc/g	p proporția estimată	CI Intervalul de încredere la 95%
20	0	0%	[0% – 16%]
100		0%	[0% – 4%]
20	1	5%	[1% – 24%]
100		1%	[0.2% – 5%]
20	2	10%	[3% – 30%]
100		2%	[0.6% – 7%]

Cu cât se analizează mai multe unități, cu atât intervalul de încredere va fi mai restrâns (de ex., din tabelul de mai sus se poate concluziona faptul că limita maximă a intervalului de

încredere pentru “2 unități test ce depășesc 100 ufc/g din 100 unități test” (7%) este mai scăzută decât cea obținută pentru “0 unități test ce depășesc 100 ufc/g din 20 unități test”(16%).

Pentru a obține un număr mare de unități analizate, este posibilă colectarea rezultatelor testelor repetate, efectuate pe un produs alimentar gata pentru consum obținut din același proces. De exemplu, pentru un număr de 100 unități test analizate, completând un tabel similar celui de mai sus, se poate observa că limita superioară a intervalului de încredere pentru ”0 unități test ce depășesc 100 ufc/g din 5 unități test” este mai mare decât cea obținută pentru ”0 unități test ce depășesc 100 ufc/g din 30 unități test”.

7. COLABORAREA ÎNTRE ÎNTREPRINDERILE DIN SECTORUL ALIMENTAR

Dacă este necesar, operatorii din sectorul alimentar realizează **studii** (determinarea caracteristicilor fizico-chimice ale produsului, elaborarea de modele matematice predictive, datele istorice, teste de durabilitate sau teste de provocare) **pentru a investiga respectarea criteriilor** pe parcursul perioadei de conservare.

Operatorii din sectorul alimentar pot colabora la efectuarea acestor studii, cu condiția de a lua în considerare mediul din fiecare unitate de producție.

Operatorii din sectorul alimentar care fabrică produse similare în condiții similare pot folosi rezultatele aceluiași studii. Cu toate acestea, utilizarea aceluiași/acelorași studiu/studii pentru produsele fabricate în unități de producție diferite necesită luarea în considerare a următoarelor aspecte:

- pentru ca studiile să fie valabile, **produsele trebuie să aibă aceleași caracteristici** (pH, a_w , conținutul de sare, concentrația conservanților, tipul de ambalaj, microflora asociată sau orice altă caracteristică importantă pentru supraviețuirea și creșterea *Listeria monocytogenes*). Dacă una sau mai multe caracteristici sunt diferite, studiile nu pot fi utilizate fără evaluarea efectului acestora asupra supraviețuirii și creșterii *Listeria monocytogenes*.

- **rețeta produsului trebuie să fie aceeași**; dacă nu, ingredientele ar trebui evaluate pentru efectele lor asupra creșterii *Listeria monocytogenes*.

- **procesul de fabricație al produselor ar trebui să fie similar**. Etapele procesului trebuie comparate în detaliu și trebuie evaluat efectul oricăror diferențe dintre procese asupra

supraviețuirii și creșterii *Listeria monocytogenes*. Studiile trebuie să ia în considerare variabilitatea inerentă legată de produs.

- **condițiile de depozitare și durata perioadei de conservare trebuie să fie similare;** în caz contrar, diferențele ar trebui evaluate pentru efectele lor asupra creșterii *Listeria monocytogenes*.

- **microflora asociată trebuie să fie identică;** dacă nu, trebuie să aibă același efect asupra *Listeria monocytogenes*.

Operatorii din sectorul alimentar care colaborează la efectuarea studiilor trebuie să demonstreze autorității competente că produsele și modul de fabricare a acestora sunt similare. În caz contrar, aceștia ar trebui să poată demonstra diferențele și să poată documenta modul în care acestea afectează supraviețuirea și creșterea *Listeria monocytogenes*. În acest scop, operatorii din sectorul alimentar pot consulta informații disponibile din literatura științifică de specialitate, precum și date furnizate de rezultatele cercetărilor privind caracteristicile dezvoltării și supraviețuirii *Listeria monocytogenes*.

8. DOCUMENTAREA STUDIILOR PRIVIND DURATA DE CONSERVARE

Operatorii din sectorul alimentar ar trebui să păstreze documentația legată de studiile privind perioada de conservare și verificarea acestora ca parte a procedurilor GHP și HACCP. Documentația trebuie să includă toate datele necesare (caracteristicile produsului, literatura științifică utilizată, tipurile și rezultatele altor studii privind perioada de conservare) care au fost utilizate pentru stabilirea duratei perioadei de conservare.

Este esențial ca documentația să fie disponibilă în permanență, de ex. pentru ca operatorii din sectorul alimentar să poată demonstra, spre satisfacția autorității competente, că produsele lor vor respecta prevederile legislației comunitare, până la sfârșitul perioadei de conservare. Formatul documentației poate fi stabilit de operator.