

MAIN RESULTS

ENGLISH language	1
ITALIAN language	5
SPANISH language.....	10
GREEK language	15

*E*nglish language

MAIN RESULTS

Food safety and quality are the primary concerns of consumers and are the priorities of European policy through Agenda 2000 and the White Paper on Food Safety (2000). The recurring food poisoning cases and the dispute on GMO derived food have undermined public confidence on intensive or industrial food producing systems. Consumers are turning to “traditional” products. Traditional and/or organic agro-food production systems, besides responding to the requirements of a sustainable agriculture, can be important means to secure a sufficient income for people working in rural areas not suited for intensive agriculture.

Small producers experience technical and financial difficulties in complying with official food safety regulations (Directive 93/43 EEC, repealed by the Regulation EC 852/2004). In particular, hygiene standards generally defined for large processing plants are not always compatible with such small production units. This difficulty has created acute problems, particularly in the countries of southern Europe. It is crucial, therefore, to give traditional producers the means to produce safe products, as it is the only way to insure the survival of local economies with positive effects on employment and environmental protection.

In this context, the project Tradisausage aimed to evaluate and improve safety of traditional dry sausages from the producers to the consumers while preserving their typical quality. The objective has been pursued according to the following plan.

1. Characterisation of the traditional production of sausages in southern and eastern Europe

A total of 315 traditional processing units from 6 European countries (France, Italy, Portugal, Spain, Greece and Slovakia) covering 7 large regions and all Greece were surveyed for the socio economic aspects, the raw materials and the processes, the characteristics and the marketing of the sausages. The processing units with less than 7.5 tons/week failed into the category of “very small enterprises” (50% have 2 or 3 employees; 93% have less than 10 employees). Farm processing units were numerous in mountainous regions such as Massif Central in France, Trás-os-Montes in Portugal and Abruzzo in Italy. Whereas in Spain, Slovakia, and Greece butchers generally manufactured the traditional dry sausages. Regarding pig breeds, 21% were regional and the others were industrial (mainly porkers are used as raw material). More than 50% of the producers used natural dryers for maturation of the sausages, lasting between few days (small sausages, Greece) to 36 weeks (Italy). A large diversity in the shape and in the weight from 15 g to 2 kg of the dry sausage was observed. These units and the sausages can be described by one word: diversity.

These small traditional processing units often found in lagged regions have an important economic impact in these areas since most of them have at least one employee. These traditional products that may be named “produit de terroir” result from local know-how, as well as from the specific, unique, microbial ecology of the workshops. However, few of these products are protected by an official sign of quality at the moment. Catalonia in Spain has “Llonganissa de Vic” a product with a Protected Geographic Indication (PGI) and Portugal has PGI for traditional sausages.

2. Identification of the consumers of traditional products and characterisation of their habits of preservation and patterns of consumption.

The survey about socio-economic data, purchases, preservation and consumption habits of traditional sausages involved the same countries and regions mentioned above. It concerned 963 consumers of traditional sausages in the Southern Europe and Slovakia.

Three groups of consumers can be distinguished according to socio-economics data. The first group concerned rural consumers, married, 31-50 years old, with 2 to 3 children. The second one gathered urban consumers, 31-50 years old and the third gathered young consumers, single, without child.

MAIN RESULTS

If we considered the behaviour of purchase, preservation and consumption of traditional dry sausages, again 3 groups of consumers can be considered. The *traditional style* concerned consumers that bought sausages at the processing unit, stored them without packaging in the kitchen or in the cellar for more than one week and are used to eat them as starter course. This style of consumption characterised mainly French and Italian consumers. The *modern style* concerned consumers that bought sausages at the market, stored them vacuum packed or wrapped with aluminium and ate sausages as aperitif. It characterised mainly from Portuguese and Spanish consumers. The *new style* concerned consumers that bought sausages for preparing snack; they stored them in plastic in the fridge and kept them 3 to 7 days. It concerned mainly from Greek or Slovak consumers.

3. Assessment of safety from producer to consumer

The hazards associated with traditional sausages and the critical points of the entire chain, consumption included, have been identified to ensure safety and quality of traditional sausages from production to consumption. Hazards considered are microbiological (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, enterohemorrhagic *Escherichia coli*) and chemical with biogenic amines of microbial origin (tyramine, histamine, putrescine and cadaverine).

The safety was evaluated at the producer's level first by studying the manufacturing environments. Thus 54 processing units were surveyed for hygienic level using a questionnaire addressing criteria related to pre-requirements needed for a self-control system based on HACCP, to critical points of the process and to the efficiency of the hygienic program implemented on the equipments. 89% of the workshops had the adequate infrastructures for the implementation of an auto control system. 80% of the workshops had an efficient hygienic program on the equipments. The occurrence of pathogens in 314 environmental samples (machines, cutting tables, knives.....) of the 54 processing units was studied. *Salmonella* was absent in all the processing units except in Greece in which it was detected in 3 ones. *L. monocytogenes* was found in 2.2% of samples. *S. aureus* was numerated in 6.1% of samples. The level of spoilage bacteria (*Enterobacteria*, *Pseudomonas*) varied from processing unit to processing unit and also from sample to sample from a very low level to level of 3 to 4 log CFU/100 cm².

Pathogenic bacteria were found in few cases in the 54 final products. *L. monocytogenes* was numerated in only one product at a level superior to the tolerate one (2.0 log CFU/g). *S. aureus* was detected in four samples with a level superior to the tolerate one (2.7 log CFU/g). By contrast, *Salmonella* was present in 3 products, which would not fit the microbiological criteria for fermented sausages. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* were not detected. The level of spoilage bacteria varied greatly from very low to high level (5 to 6 log CFU/g for both bacteria). The level of biogenic amines was low in initial products (batter) and increased during ripening, generally with the dominance of tyramine. The level of biogenic amines in traditional fermented sausages does not represent a sanitary risk for the general population.

The safety was evaluated at the consumer's level by studying the microbial stability of the sausages. Considering the main consumers habits of storage of south and east European consumers and the characteristics of the sausages, 3 groups can be considered:

1-French, Spanish and Italian sausages contained black pepper and are ripened for minimum 3 weeks. They were shortly stored for 7-10 days under refrigeration or at room temperature. Little changes occurred irrespective of the storage conditions.

MAIN RESULTS

2- Portuguese sausages were smoked *chouriço*-like products, containing red pepper, ripened for only 1 week. The products were stored under refrigeration up to 7 days. During this period neither any significant modification was observed nor was any decrease in safety detected.

3- Sausages from Greece and Slovakia were stored sliced. Little changes occurred in the technological parameters, but both spoilage microorganisms and biogenic amines increased in some cases, most probably due to the contamination during the slicing process.

Summarising the data from consumers, a brochure was designed to explain to consumers that European traditional fermented sausages (*tradisausage*) can be considered safe products, irrespective of the typology of the product manufactured and the consumer's habits of handling. As an overall recommendation, *tradisausage* should be better placed in a cold and dry place for their storage at home.

Quantitative microbial risk assessment was based on data for prevalence and concentration of pathogens, in combination with data on pH, a_w , and time/temperature combinations of raw materials and products at different stages of manufacturing process and storage (distribution) until consumption. Validated pathogen growth and survival models were used to assess the probability of exposure to *L. monocytogenes* at the time of consumption, whereas a well established dose-response model was employed to assess the risk of listeriosis due to consumption of heavily or low contaminated products. Exposure assessment revealed that if initial pathogen contamination is high ($>10^2$ CFU/g), then no significant reduction is expected, mainly because the observed variability of pH varying from 4.6 to 6.3 with the majority of the final products having a pH higher than 5.0. However, *L. monocytogenes* is not able to grow more than 2 logs in any product, regardless of workshop and country, due to the low a_w of traditional sausages, which seems to be the most crucial hurdle for the safety of these products. This observation suggests that traditional sausages may be considered safe if the initial pathogen contamination is low, and specifically below 10^2 CFU/g as it usually occurs.

4. Improvement of safety

The safety of products and the hygiene of processing units could be improved and assured by directed microbial ecology which is based on (i) the introduction of targeting disinfecting procedures towards spoilage and pathogenic bacteria, while preserving technological bacteria; (ii) the development of starter cultures that prevent the growth of pathogenic and spoilage bacteria in products.

To select targeting disinfectant we considered mainly essential oils of *Satureja thymbra* plant and components of essential oils (*thymol*, *eugenol*) as they can inhibit certain bacteria. The efficiency of these components was tested on bacteria grown in biofilm. The essential oil of *Satureja thymbra* was the most efficient disinfectant against spoilage bacteria with a reduction of 5 logs of *Pseudomonas* and *E. coli*. The reduction was about 2 logs for pathogenic bacteria (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Salmonella enterica* serovar Enteritidis) while technological bacteria (lactic acid bacteria and staphylococci) were weakly affected. In parallel, the inhibitory activities of bacteriocins (enterocins) produced by *Enterococcus faecium* strains were shown against spoilage (*E. coli*, *Pseudomonas*) and pathogenic bacteria (*S. aureus*).

To select starter culture we have first identified the technological bacteria (Lactic Acid Bacteria, and staphylococci). Tools were developed, such as “*Staph. Array*” that allowed the identification of 36 species of staphylococci, fluorescence spectroscopy and real time PCR methods to identify LAB. In the final products, *S. equorum* or *S. xylosus* were often dominant and *S. saprophyticus*, *S. carnosus* and *S. warneri* were less frequently isolated. Considering

MAIN RESULTS

the LAB, *L. sakei* was often the dominant species and variable levels of *L. curvatus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *Leuconostoc*, *Weissella* and enterococi were identified. The selection was based on criteria such as: their safety (no production of biogenic amines, no resistance to antibiotics), their competitiveness (ability to colonise environment or to grow in sausage, to inhibit pathogenic or spoilage bacteria), their diversity (pulsed gel field electrophoresis, RAPD-PCR), or their technological properties (proteolytic and lipolytic activities).

Finally a process to improve sanitary quality of the products has been done according different strategies: addition of glucide, starter cultures or natural antimicrobial agent. The addition of glucide alone did not improve the sanitary quality of the products. Whereas the addition of selected starters with or without natural antimicrobial agent improved it, either by reducing the spoilage and or pathogenic bacteria, the biogenic amine content, the lipid and cholesterol oxidation. The sensorial qualities of the products manufactured in these conditions were often close to the naturally fermented control, thus the typicality of the traditional products was preserved.

A guide of good hygienic practice has been elaborated to help the small producers to control sanitary risks and thus to produce safe products. This guide focuses on traditional fermented sausages. It is written as recommendations sheets easy to understand and apply for the small producers. This guide will be distributed and explained directly to the producers by organising a specific workshop in each country.

*I*talian language

PRINCIPALI RISULTATI DEL PROGETTO TRADISAUSAGE

La sicurezza degli alimenti, oltre ad essere una delle principali preoccupazioni dei consumatori, rappresenta una priorità della politica dell'Unione Europea che, a partire dal Libro Bianco sulla Sicurezza Alimentare (2000), ha fissato una serie di misure volte a migliorare gli standard di sicurezza alimentare e a garantire un elevato livello di sicurezza.

La fiducia dell'opinione pubblica verso il sistema di produzione alimentare industriale è stata più volte minata da ripetute crisi alimentari o episodi che hanno avuto come protagonisti gli alimenti (diossina, BSE). Tutto ciò ha favorito la riscoperta dei prodotti alimentari tradizionali da parte dei consumatori. Nell'ambito dei prodotti alimentari europei, i prodotti carnei, ed i salami in particolare, si caratterizzano per la grandissima varietà, spesso legata a produzioni locali e di tipo tradizionale. La produzione dei salami europei tradizionali, infatti, è tuttora sostenuta da piccoli produttori che lavorano seguendo ricette tramandate e mantenute nel tempo.

I piccoli produttori incontrano spesso difficoltà tecniche e finanziarie ad osservare le norme previste dai regolamenti comunitari sulla sicurezza alimentare (Regolamento CE 852/2004). In particolare, gli standard igienici, generalmente definiti per impianti di tipo industriale, non sempre sono compatibili con le realtà aziendali e produttive di tipo artigianale o comunque di piccole dimensioni. Tali difficoltà si sono manifestate in particolare nei paesi del Sud Europa, dove le imprese alimentari di piccole dimensioni rappresentano una realtà numericamente significativa. E' essenziale, perciò, fornire ai produttori di alimenti tradizionali i mezzi per produrre alimenti sicuri, anche perchè ciò costituisce l'unico strumento per assicurare la sopravvivenza delle economie locali, con effetti positivi sull'occupazione e la protezione dell'ambiente.

In questo contesto, il progetto europeo TRADISAUSAGE ha avuto come scopo principale quello di valutare e migliorare la sicurezza dei salami europei tradizionali lungo l'intera filiera, dai produttori ai consumatori, mantenendo la loro tipicità.

L'obiettivo è stato perseguito attraverso il seguente schema operativo.

1. Caratterizzazione della produzione di salami tradizionali nei Paesi del Sud ed Est Europa

Ai fini del progetto, si è deciso di studiare le aziende produttrici di salami con una capacità produttiva inferiore a 7,5 ton/settimana.

315 aziende di salami sono state censite in 6 nazioni Europee (Italia, Francia, Portogallo, Spagna, Grecia e Slovacchia) e studiate relativamente agli aspetti socio-economici, i processi di lavorazione, le caratteristiche dei salami e le modalità di commercializzazione.

La maggioranza delle realtà produttive sottoposte all'indagine era costituita da aziende molto piccole, spesso a carattere familiare; dall'indagine è emerso infatti che il 50% delle aziende era costituita da 2 o 3 addetti ed il 93% da meno di 10 addetti. Le aziende produttrici erano rappresentate principalmente da agriturismi, soprattutto nelle regioni montuose del Massiccio Centrale (Francia), Tras-os-Montes (Portogallo) e Abruzzo (Italia), o da macellai, soprattutto in Spagna, Slovacchia e Grecia.

Nelle aziende investigate i salami erano prodotti a partire da carni suine provenienti da suini leggeri (ibridi industriali) e solo in minoranza da suini di razze regionali (21%).

Più del 50% delle aziende produttrici utilizzava sistemi di produzione che prevedevano un'asciugatura naturale del salame ed una stagionatura variabile da pochi giorni, come

per alcune tipologie di salami greci, fino a 36 settimane, come per alcuni tipi di salami italiani.

Grandissima varietà è stata osservata nelle caratteristiche dei salami a fine stagionatura soprattutto in termini di peso, che rientrava in un intervallo compreso tra i 15 g e 2 kg.

Diversità è quindi il termine peculiare che descrive ed accomuna le produzioni europee di salami di tipo tradizionale. Attualmente poche sono le produzioni tutelate da un marchio di qualità: tra queste si possono citare il “Llonganissa de Vic” un prodotto catalano (Spagna) dotato di un marchio IGP ed alcuni salami tradizionali portoghesi.

2. Identificazione dei consumatori di salami tradizionali e caratterizzazione delle abitudini di conservazione e modalità di consumo

L'indagine relativa ai consumatori di salami tradizionali è stata svolta nelle stesse nazioni europee sopra menzionate ed ha coinvolto 963 consumatori. Tale indagine ha riguardato le caratteristiche socio-economiche dei consumatori, le modalità di acquisto, di conservazione e di consumo dei salami tradizionali

Sulla base dei dati socio-economici emersi dall'indagine, è stato possibile individuare 3 gruppi di consumatori. Il primo gruppo era costituito da consumatori residenti in campagna, di età compresa tra i 31 e i 50 anni, sposati e con 2 o 3 figli; il secondo gruppo comprendeva consumatori residenti in città, di età compresa tra i 31 e i 50 anni ed il terzo gruppo era costituito da consumatori residenti in città, di età inferiore ai 30 anni, non sposati e senza figli.

Riguardo alle modalità di acquisto, conservazione e consumo dei salami tradizionali, è stato possibile individuare 3 stili. Lo *stile tradizionale* comprende i consumatori che acquistano i salami direttamente dal produttore, li conservano senza alcun tipo di confezionamento in cucina o in cantina per più di una settimana e sono soliti mangiarli come antipasto. Questa modalità di consumo è caratteristica principalmente dei consumatori Francesi ed Italiani. Lo *stile moderno* comprende i consumatori che comprano i salami al mercato, li conservano confezionati sottovuoto o avvolti in foglio di alluminio e li mangiano come aperitivi. Questa modalità di consumo è caratteristica principalmente dei consumatori Portoghesi e Spagnoli. Lo *stile nuovo* comprende i consumatori che comprano i salami per preparare spuntini; li conservano avvolti in un film plastico nel frigorifero dove li mantengono da 3 a 7 giorni. Questa modalità di consumo riguarda principalmente i consumatori Greci e Slovacchi.

3. Valutazione della sicurezza dei salami tradizionali lungo la filiera dal produttore al consumatore

I pericoli associati ai salami tradizionali ed i punti critici dell'intera filiera produttiva, consumo incluso, sono stati identificati e studiati al fine di fornire suggerimenti utili a migliorare la sicurezza dei salami stessi dalla produzione al consumo. Sono stati presi in considerazione pericoli microbiologici, legati principalmente a microrganismi alteranti e patogeni (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* enteroemorragico), e chimici legati alla presenza di ammine biogene (tiramina, istamina, putrescina e cadaverina).

La sicurezza dei salami tradizionali a livello dei produttori è stata valutata studiando l'ambiente di lavorazione. In primo luogo, le caratteristiche igieniche di 54 aziende sono state studiate mediante un questionario volto a monitorare i pre-requisiti, i punti critici del processo produttivo e l'efficienza delle procedure di pulizia e disinfezione dei locali e delle attrezzature. In secondo luogo, nelle stesse aziende si è provveduto ad effettuare controlli microbiologici dei locali e delle attrezzature di lavorazione.

I pre-requisiti sono stati giudicati adeguati per circa il 90% delle aziende e le procedure di pulizia e disinfezione sono risultate buone per l'80% dei produttori. La ricerca di microrganismi patogeni è stata effettuata su 314 campioni ambientali (attrezzature, tavoli di lavoro, coltelli) raccolti nell'ambito delle 54 aziende. *Salmonella* spp. è risultata assente in tutti i laboratori ad eccezione di 3 aziende greche. *Listeria monocytogenes* è stata riscontrata nel 2.2% dei campioni e *Staphylococcus aureus* nel 6.1% dei campioni. La concentrazione dei batteri alteranti (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*) è risultata ampiamente variabile nell'ambito dei vari produttori e della tipologia di campione ambientale monitorato ed ha raggiunto un valore massimo 4 log CFU/100cm².

Anche i salami prodotti nelle 54 aziende selezionate sono stati sottoposti ad analisi. Relativamente ai batteri patogeni, essi sono stati riscontrati in un numero limitato di campioni. *Listeria monocytogenes* è stata rilevata ad un livello superiore al limite di tolleranza (2.0 log CFU/g) solamente in un campione. *Staphylococcus aureus* è stato rilevato in 4 campioni ad un livello superiore al limite (2.7 log CFU/g). *Salmonella* spp. era presente in 3 salami a fine stagionatura; tale situazione rappresentava una non conformità dei criteri microbiologici previsti dal Regolamento (CE) n. 2073/2005. *Escherichia coli* enteroemorragico non è stato rilevato in nessuno dei campioni sottoposti ad analisi. Il livello dei batteri alteranti ha mostrato ampia variabilità tra i salami sottoposti ad analisi: in alcuni di essi il livello era molto basso mentre in altri ha raggiunto valori di 5 o 6 log CFU/g. La concentrazione delle ammine biogene è risultata molto limitata nell'impasto e tendeva ad aumentare durante la stagionatura; la tiramina è risultata l'ammina biogena prevalente. Tuttavia, dall'indagine è possibile concludere che la presenza di ammine biogene nei salami tradizionali non rappresenta un rischio sanitario per la maggioranza della popolazione.

La sicurezza dei salami tradizionali a livello dei consumatori è stata valutata studiando la stabilità microbiologica dei salami durante la conservazione domestica. Considerando le diverse modalità di conservazione dei salami da parte dei consumatori europei e le caratteristiche dei prodotti, è stato possibile individuare 3 situazioni:

- a. I salami Italiani, Spagnoli e Francesi, generalmente contenenti pepe nero e stagionati per un minimo di 3 settimane, sono mantenuti per circa 7-10 giorni refrigerati o a temperatura ambiente dopo l'acquisto. Questa tipologia di prodotto ha mostrato una buona stabilità microbiologica indipendentemente dalle condizioni di conservazione.
- b. I salami Portoghesi, generalmente contenenti pepe rosso, affumicati e stagionati per 1 settimana, vengono conservati refrigerati per un massimo di 7 giorni dopo l'acquisto. Durante questo periodo non si è osservata alcuna modificazione significativa e sufficiente a ridurre la sicurezza del prodotto.
- c. I salami Greci e Slovacchi sono conservati generalmente affettati. In questa tipologia di prodotto si è osservato un incremento della concentrazione dei microrganismi alteranti e delle ammine biogene, con molta probabilità a causa di una contaminazione durante il processo di affettamento.

In base all'indagine condotta è possibile concludere che i salami tradizionali europei possono essere considerati sicuri, a prescindere dalla tipologia del prodotto e dalle

abitudini di consumo e conservazione dei consumatori. L'unico consiglio che può essere comunicato ai consumatori è quello di conservare il salame tradizionale in luogo fresco e asciutto.

La valutazione quantitativa del rischio microbiologico è stata condotta utilizzando le informazioni raccolte nel corso del progetto relative alla prevalenza e concentrazione dei microrganismi patogeni, pH, a_w , combinazioni tempo/temperatura delle varie fasi del processo di produzione e di stoccaggio, fino al consumo. Modelli validati di crescita e sopravvivenza dei microrganismi patogeni sono stati impiegati per valutare la probabilità di esposizione verso *Listeria monocytogenes* al momento del consumo dei salami tradizionali, mentre modelli di tipo dose-risposta sono stati utilizzati per quantificare il rischio di listeriosi dovuto al consumo di salami lievemente o pesantemente contaminati. La valutazione dell'esposizione ha rivelato che se la contaminazione iniziale da microrganismi patogeni è alta ($>10^2$ CFU/g), non ci si può aspettare una riduzione significativa del loro numero poiché la maggior parte dei salami mostrava un pH superiore a 5,0 e quindi non sufficiente ad ostacolare la loro crescita. Il pH dei salami tradizionali sottoposti ad analisi era infatti compreso tra 4,6 e 6,3. Questa osservazione suggerisce che i salami tradizionali possono essere considerati sicuri solo se la contaminazione iniziale da patogeni è limitata, e precisamente al di sotto di 10^2 CFU/g, situazione osservata nella maggioranza dei salami tradizionali investigati.

4. Miglioramento della sicurezza dei salami tradizionali

La sicurezza dei salami tradizionali e l'igiene dei laboratori di produzione possono essere migliorati mediante l'applicazione dell'ecologia microbica controllata che si basa su due punti principali: (i) utilizzo di procedure volte alla disinfezione da batteri alteranti e patogeni e non influenti sui batteri costituenti la flora tecnologica; (ii) sviluppo di colture starter autoctone atte a prevenire la crescita dei batteri alteranti e patogeni.

Per quanto riguarda il primo punto, nel corso del progetto è stata studiata l'efficacia degli oli essenziali estratti dalla pianta *Satureja thymbra* e di timolo ed eugenolo. La capacità dei batteri a formare biofilm in presenza di tali sostanze è stata studiata al fine di valutare le proprietà antimicrobiche delle stesse. L'olio essenziale della *Satureja thymbra* ha mostrato le migliori proprietà disinfettanti nei confronti dei batteri alteranti con una riduzione di *Pseudomonas* e *Escherichia coli* pari a 5 logaritmi. La riduzione è stata di circa 2 logaritmi nei confronti di batteri patogeni (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* sierotipo enteritidis) mentre i batteri della flora tecnologica (batteri lattici e stafilococchi) mostravano una buona resistenza. Nel contempo, lo studio dell'attività inibitoria battericida da parte di enterocine prodotte da ceppi di *Enterococcus faecium* ha mostrato buoni risultati verso i batteri alteranti (*Pseudomonas*, *Escherichia coli*) e patogeni (*Staphylococcus aureus*).

Lo studio relativo allo sviluppo di colture starter autoctone ha richiesto una indagine preliminare dei batteri costituenti la flora tecnologica (batteri lattici e stafilococchi). I batteri lattici sono stati identificati mediante spettroscopia a fluorescenza e real time PCR mentre la tecnica "Staph Array" ha consentito l'identificazione di 36 specie di stafilococchi.

Per quanto riguarda i batteri lattici, nei salami tradizionali sottoposti ad indagine si è osservata la prevalenza di *Lactobacillus sakei*, seguito in misura minore da *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc*, *Weissella* ed enterococchi. Tra gli stafilococchi, *Staphylococcus equorum* e *Staphylococcus xylosum* erano le specie prevalenti, seguite da *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus*

carneus e *Staphylococcus warneri*. L'individuazione di colture starter autoctone si è basata quindi sulla selezione di ceppi dotati delle proprietà maggiormente favorevoli in termini di sicurezza (assenza di attività decarbossilasica, che si traduce nella incapacità a produrre ammine biogene, nessuna antibiotico resistenza), competitività (buona capacità a colonizzare l'ambiente a discapito dei batteri patogeni ed alteranti), caratteristiche tecnologiche (attività lipolitica e proteolitica) e biodiversità.

L'impiego delle colture starter autoctone, associato o meno all'uso di sostanze antimicrobiche di origine naturale per le procedure di pulizia e disinfezione delle attrezzature, è risultata essere una strategia efficace ad incrementare la sicurezza dei salami tradizionali e a mantenere inalterate le caratteristiche sensoriali dei prodotti finali, garantendo in tal modo la tipicità degli stessi.

I risultati emersi nel corso delle sperimentazioni condotte nell'ambito del progetto hanno consentito di redigere un manuale indirizzato ai produttori di salami tradizionali europei al fine di fornire delle linee guida di buona prassi igienica per tali produzioni. Tale manuale, disponibile in varie lingue europee, è stato distribuito tra i produttori dei vari paesi ed è scaricabile in questo sito alla sezione "Hygienic guide"

Spanish language

La seguridad y la calidad alimentaria son las principales preocupaciones de los consumidores y son las prioridades de la política europea a través de la Agenda 2000 y del Libro Blanco sobre Seguridad Alimentaria (2000). Los recurrentes casos de intoxicaciones alimentarias y la controversia sobre los alimentos derivados de OMG han disminuido la confianza del consumidor en los sistemas industriales de producción de alimentos. Los consumidores se están volcando hacia los productos "tradicionales". Los sistemas de producción de alimentos tradicionales y/o agro-ecológicos, además de responder a las exigencias de una agricultura sostenible, pueden ser medios importantes para garantizar una renta suficiente para las personas que trabajan en las zonas rurales no aptas para la agricultura intensiva.

Los pequeños productores tienen dificultades técnicas y financieras para cumplir con las regulaciones oficiales en materia de seguridad alimentaria (Directiva 93/43 EEC, reemplazada por el Reglamento EC 852/2004). En particular, las normas de higiene que generalmente se establecen para grandes plantas de transformación no siempre son compatibles con las pequeñas plantas elaboradoras. Esta dificultad ha creado graves problemas, especialmente en los países del sur de Europa. Es fundamental, por lo tanto, proporcionar a los productores tradicionales los medios para producir productos seguros, ya que es la única manera de asegurar la supervivencia de las economías locales con efectos positivos sobre el empleo y la protección del medio ambiente.

En este contexto, el proyecto Tradisausage perseguía evaluar y mejorar la seguridad de los embutidos crudos-curados desde los productores a los consumidores, preservando las cualidades típicas de estos productos. Así pues, dicho objetivo se realizó de acuerdo con el siguiente plan:

1. Caracterización de la producción tradicional de embutidos en el Sur y Este de Europa

Un total de 315 plantas elaboradoras tradicionales de 6 países europeos (Francia, Italia, Portugal, España, Grecia y Eslovaquia, abarcando 7 grandes regiones y la totalidad de Grecia, fueron encuestadas sobre aspectos socioeconómicos, las materias primas y los procesos, las características y la comercialización de los embutidos. Las plantas elaboradoras con una producción inferior a las 7,5 toneladas/semana entraron en la categoría de "empresas muy pequeñas" (el 50% tiene 2 o 3 empleados y el 93% tiene menos de 10 empleados). En las regiones montañosas del Macizo Central de Francia, Trás-os-Montes en Portugal y Abruzzo en Italia, son numerosas las granjas que también son elaboradoras de embutidos. Sin embargo, en España, Eslovaquia y Grecia son los carniceros generalmente los que elaboran embutidos tradicionales. En cuanto a las razas de cerdo, el 21% fueron regionales y el resto fueron industriales (se utilizan como materia prima hembras, principalmente). Más del 50% de los productores utilizan secaderos naturales para la maduración de los embutidos, con una duración de entre pocos días (embutidos pequeños, Grecia) a 36 semanas (Italia). Se observó una gran diversidad en la forma y en el peso de los embutidos (de 15 g a 2 kg). Las características de las plantas elaboradoras así como de los embutidos se pueden describir con una palabra: diversidad.

Estas pequeñas plantas elaboradoras tradicionales, a menudo localizadas en regiones poco desarrolladas, han tenido un importante impacto económico en estas áreas ya que la mayoría de ellas tienen, por lo menos, un empleado. Estos productos tradicionales, a los que se les puede llamar "producto de la tierra", son el resultado de los conocimientos locales, *know how*, así como de la específica e única ecología microbiana de las plantas

elaboradoras. Sin embargo, actualmente sólo algunos de estos productos están protegidos por un sello oficial de calidad. En España la "Llonganissa de Vic" es un producto catalán con una indicación geográfica protegida (IGP) y en Portugal existe la IGP de embutidos tradicionales.

2. Identificación de los consumidores de embutidos crudos-curados tradicionales y caracterización de sus hábitos de conservación y pautas de consumo.

El estudio sobre los datos socioeconómicos, de compra, de conservación y de hábitos de consumo de los embutidos involucró los mismos países y regiones mencionados anteriormente. Se entrevistaron un total de 963 consumidores de embutidos tradicionales en Europa del Sur y Eslovaquia. Se diferenciaron tres grupos de consumidores en función de los datos socioeconómicos. El primer grupo incluyó consumidores rurales, casados, de entre 31 y 50 años y con 2 o 3 niños. El segundo reunió los consumidores urbanos, de 31 a 50 años y el tercero los consumidores jóvenes, solteros y sin hijos.

Considerando el comportamiento de compra, conservación y consumo de los embutidos tradicionales, se distinguieron, de nuevo, 3 grupos de consumidores. El *estilo tradicional* engloba consumidores que compran embutidos en la propia planta de elaboración, lo almacenan sin envoltorio en la cocina o en la bodega, durante más de una semana, y lo consumen como entrante en las comidas. Este estilo de consumo caracteriza principalmente a los consumidores franceses e italianos. El *estilo moderno* agrupa a los consumidores que compran embutidos en el mercado o supermercado, los almacenan envasados al vacío o envueltos en aluminio y los consumen como aperitivo. Este estilo caracteriza principalmente los consumidores portugueses y españoles. El tercer grupo, denominado *nuevo estilo*, incluye los consumidores que compran los embutidos para consumirlos como snack, que los almacenan en plástico en el refrigerador durante 3 - 7 días. Se trata principalmente de consumidores de origen griego o eslovaco.

3. Evaluación de la seguridad desde el productor hasta el consumidor

Han sido identificados los peligros asociados a los embutidos crudos-curados tradicionales y los puntos críticos de toda la cadena, incluido el consumo, para garantizar la seguridad y la calidad de los embutidos tradicionales desde la producción hasta el consumo. Los peligros que se consideraron fueron microbiológicos (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* enterohemorrágica) y químicos (las aminas biogénas de origen microbiano: tiramina, histamina, putrescina y cadaverina).

La seguridad fue evaluada a nivel del productor estudiando, en primer lugar, el ambiente de elaboración. Así, se examinaron 54 plantas elaboradoras en relación al nivel de higiene a través de un cuestionario sobre los criterios relacionados con los pre-requisitos necesarios para afrontar un sistema de autocontrol basado en el sistema APPCC, los puntos críticos del proceso y la eficiencia del programa de higiene aplicado en los equipos. El 89% de los obradores/plantas elaboradoras tenían la infraestructura adecuada para la aplicación de un sistema de autocontrol. El 80% de las plantas tenía un programa de higiene de los equipos eficiente. Se estudió la presencia de patógenos en 314 muestras ambientales (máquinas, mesas de corte, cuchillos...) de las 54 plantas de elaboración. Se constató ausencia de *Salmonella* en las plantas elaboradoras, excepto en tres plantas en Grecia. *L. monocytogenes* se detectó en el 2,2% de las muestras.

S. aureus fue contabilizado en el 6,1% de las muestras. El nivel de bacterias contaminantes (*Enterobacterias*, *Pseudomonas*) varió entre las diferentes plantas elaboradoras y entre las muestras, desde niveles muy bajos hasta recuentos de 3 a 4 log UFC/100 cm².

En muy pocos casos, de los 54 productos estudiados (listos para comercialización), se encontraron bacterias patógenas. En un solo embutido se contabilizó *L. monocytogenes* en un nivel superior al tolerado (2 log UFC/g).

S. aureus se detectó en cuatro muestras con un nivel superior al recomendado (2,7 log UFC/g). Por el contrario, *Salmonella* estuvo presente en 3 productos, lo que no se adecua a los criterios microbiológicos aplicables a los embutidos crudos-curados. *Escherichia coli* enterohemorrágica no se detectó. El nivel de bacterias contaminantes varió mucho, desde recuentos muy bajos a niveles altos (de 5 a 6 log UFC/g). El nivel de aminas biógenas fue bajo en los productos iniciales (crudos) y aumentó durante la maduración, siendo generalmente la tiramina la amina mayoritaria. El nivel de aminas biógenas en embutidos crudos curados tradicionales no representan un riesgo sanitario para la población en general.

La seguridad a nivel del consumidor fue evaluada mediante el estudio de la estabilidad microbiológica de los embutidos. Teniendo en cuenta los principales hábitos de almacenamiento del sur y el este de Europa de los consumidores y las características de los embutidos, se consideraron 3 grupos:

1.- Los embutidos franceses, españoles e italianos elaborados con pimienta negra, madurados un mínimo de 3 semanas y almacenados durante 7-10 días en refrigeración o a temperatura ambiente. No se encontraron diferencias independientemente de las condiciones de almacenamiento.

2.- Los embutidos portugueses, productos tipo *chouriço* ahumado, con pimentón y con sólo una semana de maduración. Estos productos se almacenaron en refrigeración durante 7 días. Durante este período, no se observaron modificaciones ni disminución alguna en materia de seguridad

3.- Los embutidos procedentes de Grecia y Eslovaquia se almacenaron loncheados. Se detectaron pocos cambios en los parámetros tecnológicos, pero los microorganismos deteriorantes y las aminas biógenas aumentaron en algunos casos, muy probablemente debido a la contaminación durante el proceso de loncheado.

En base a los datos obtenidos sobre los hábitos de los consumidores se diseñó un tríptico donde se concluye que los embutidos europeos tradicionales pueden considerarse productos seguros, con independencia de la tipología del producto fabricado y de los hábitos de almacenamiento del consumidor. Se recomienda conservar en casa los embutidos crudos-curados en un sitio fresco y seco.

La evaluación del riesgo microbiológico (cuantitativo) se basó en los datos de prevalencia y concentración de patógenos, en combinación con datos sobre pH, actividad de agua y combinaciones de tiempo/temperatura de almacenamiento de materias primas y productos en las diferentes etapas del proceso de elaboración y almacenamiento (distribución) hasta su consumo. Se utilizaron modelos validados sobre el crecimiento y supervivencia de patógenos para evaluar la probabilidad de exposición

a *L. monocytogenes* en el momento del consumo. Para evaluar el riesgo de listeriosis debido al consumo de productos poco o muy contaminados, se utilizó un modelo de dosis-respuesta.

La evaluación de la exposición puso de manifiesto que si la contaminación inicial del patógeno es alta ($> 10^2$ UFC/g), no sería esperable una reducción significativa, principalmente debido a que la variabilidad observada de pH (entre 4,6 a 6,3), con la mayoría de los productos finales con un pH superior a 5,0. Sin embargo, *L. monocytogenes* no fue capaz de crecer más de 2 logs en ninguno de los productos, independientemente de la planta elaboradora y el país de origen, debido a la baja actividad de agua de los embutidos tradicionales, que parece ser el obstáculo más importante para la seguridad de estos productos. Esta observación sugiere que los embutidos tradicionales se pueden considerar seguros si la contaminación inicial por el patógeno es baja y, concretamente, por debajo de 10^2 UFC/g, como ocurre usualmente.

4. Mejora de la seguridad

La seguridad de los productos y la higiene de las plantas elaboradoras podría ser mejorada y asegurada mediante ecología microbiana dirigida, basada en (i) la introducción de procedimientos de desinfección para bacterias contaminantes (alterantes/deteriorantes) y patógenas como diana, preservando al mismo tiempo las bacterias con función tecnológica; (ii) el desarrollo de cultivos iniciadores autóctonos capaces de prevenir el crecimiento de bacterias patógenas y alterantes en los embutidos. Para el primer punto (i) se consideraron, principalmente, aceites esenciales de la planta *Satureja thymbra* y componentes de los mismos (timol, eugenol). La eficiencia de estos componentes fue probada sobre el crecimiento de las bacterias en biofilm. El aceite esencial de *Satureja thymbra* fue el desinfectante más eficaz contra las bacterias contaminantes con una reducción de 5 logs de *Pseudomonas* y *E. coli*. La reducción de bacterias patógenas fue de, aproximadamente, 2 logs (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis*), mientras que las bacterias tecnológicas (bacterias del ácido láctico y estafilococos) resultaron débilmente afectadas. Al mismo tiempo, se demostró la actividad inhibitoria de las bacteriocinas (enterocinas) producidas por cepas de *Enterococcus faecium*, contra bacterias contaminantes (*E. coli*, *Pseudomonas*) y patógenas (*S. aureus*).

Para seleccionar el cultivo iniciador (ii) se identificaron, primeramente, las bacterias tecnológicas (bacterias lácticas, y estafilococos). Se desarrollaron diferentes métodos, tales como "Staph. Array" que permitió la identificación de 36 especies de estafilococos, la espectroscopía de fluorescencia y la PCR a tiempo real, para identificar las bacterias del ácido láctico. Las especies más comúnmente identificadas en los productos finales fueron *S. equorum* o *S. xylosus*, mientras que *S. saprophyticus*, *S. carnosus* y *S. warneri* fueron las menos frecuentemente aisladas. De las bacterias lácticas, *L. sakei* fue la especie dominante, aunque también se identificaron, en menor medida, *L. curvatus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *Leuconostoc*, *Weissella* y *Enterococcus*. La selección del cultivo se basó en criterios tales como: su seguridad (no productor de aminas biógenas, no resistencia a antibióticos), su competitividad (capacidad de colonizar el ambiente o de crecer en los embutidos, capaz de inhibir bacterias patógenas o alterantes), su diversidad (estudiada mediante electroforesis en campo pulsante, RAPD-PCR), o sus propiedades tecnológicas (actividades proteolíticas y lipolíticas).

Por último, se diseñó un procedimiento para mejorar la calidad sanitaria de los productos aplicando diferentes estrategias: adición de azúcares, cultivos iniciadores o

agentes antimicrobianos naturales. La adición de azúcares no mejoró la calidad sanitaria de los productos. En cambio, la adición de cultivos iniciadores específicamente seleccionados, con o sin antimicrobiano natural, mejoraron los productos, ya fue mediante la reducción de las bacterias contaminantes y/o patógenas, del contenido de aminos biógenas y de la oxidación de lípidos y colesterol. Las cualidades sensoriales de los productos elaborados bajo estas condiciones fueron muy parecidas a los embutidos control, con fermentación espontánea, por lo tanto, se preservó la tipicidad de los productos tradicionales.

Se elaboró una guía de buenas prácticas de higiene para ayudar a los pequeños productores a controlar los riesgos sanitarios y, por tanto, para producir productos seguros. Esta guía se centra en embutidos crudos-curados tradicionales y se presenta en forma de hojas de recomendaciones, fáciles de comprender y de aplicar para los pequeños productores. Esta guía se presentó en una jornada técnica y se distribuyó directamente a los productores en cada país.

*G*reek language

ΚΥΡΙΟΤΕΡΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η ασφάλεια και η ποιότητα των τροφίμων αποτελεί βασικό μέλημα των καταναλωτών και προτεραιότητα της ευρωπαϊκής πολιτικής μέσω της Ατζέντα 2000 και της Λευκής Βίβλου για την Ασφάλεια των Τροφίμων (2000). Τα αλλεπάλληλα κρούσματα τροφιμογενών δηλητηριάσεων και η διαμάχη για τα τρόφιμα που προέρχονται από γενετικώς τροποποιημένους οργανισμούς (GMO) έχουν υπονομεύσει την εμπιστοσύνη των καταναλωτών στα συστήματα εντατικής παραγωγής τροφίμων. Για αυτό το λόγο οι καταναλωτές στρέφονται σε "παραδοσιακά" προϊόντα. Τα παραδοσιακά ή προϊόντα βιολογικής γεωργίας, εκτός από τη συμμόρφωση με τις απαιτήσεις της αειφόρου γεωργίας, μπορεί να είναι σημαντικό μέσο για την εξασφάλιση ενός επαρκούς εισοδήματος για τους ανθρώπους που εργάζονται σε αγροτικές περιοχές, οι οποίες δεν είναι κατάλληλες για εντατική γεωργία. Οι μικροί παραγωγοί συναντούν τεχνικές και οικονομικές δυσκολίες στη συμμόρφωση με την ευρωπαϊκή νομοθεσία για τα τρόφιμα (Κανονισμός ΕΚ 852/2004). Ιδιαίτερα, τα πρότυπα υγιεινής, σχεδιάζονται για τις μεγάλες μονάδες επεξεργασίας και δεν είναι πάντα συμβατά με τις μικρές μονάδες παραγωγής. Η δυσκολία αυτή έχει δημιουργήσει σοβαρά προβλήματα, ιδιαίτερα στις χώρες της Νότιας Ευρώπης. Είναι σημαντικό, λοιπόν, να παρέχουμε στους παραδοσιακούς παραγωγούς τα μέσα για να παράγουν ασφαλή προϊόντα, καθώς είναι ο μόνος τρόπος για να εξασφαλιστεί η επιβίωση των τοπικών οικονομιών, με θετικές επιδράσεις στην απασχόληση και την προστασία του περιβάλλοντος. Στο πλαίσιο αυτό, το έργο Tradisausage είχε ως στόχο να αξιολογήσει και να βελτιώσει την ασφάλεια των παραδοσιακών ζυμούμενων αλλαντικών, διατηρώντας τα χαρακτηριστικά ποιότητας, με παρεμβάσεις σε όλη την παραγωγική αλυσίδα έως τους καταναλωτές. Οι αντικειμενικοί σκοποί του έργου επιτεύχθηκαν ακολουθώντας το παρακάτω πρόγραμμα:

1. Χαρακτηρισμός των παραδοσιακών αλλαντικών στη Νότια και Ανατολική Ευρώπη

Σε αυτή την αρχική φάση της μελέτης συμμετείχαν 315 παραδοσιακές μονάδες παραγωγής από 6 ευρωπαϊκές χώρες (Γαλλία, Ιταλία, Πορτογαλία, Ισπανία, Ελλάδα και Σλοβακία) που αντιστοιχούσαν σε 7 γεωγραφικές περιφέρειες των κρατών και όλη την Ελλάδα. Από αυτές συλλέχθηκαν στοιχεία για τις κοινωνικο-οικονομικές πτυχές της περιοχής παραγωγής, τις πρώτες ύλες και τις παραγωγικές διαδικασίες, καθώς και τα χαρακτηριστικά και την εμπορία των αλλαντικών. Οι μεταποιητικές μονάδες με λιγότερο από 7,5 τόνους / εβδομάδα περιλαμβάνονταν στην κατηγορία των «πολύ μικρών επιχειρήσεων» (50% έχουν 2 ή 3 υπαλλήλους, 93% έχουν λιγότερους από 10 εργαζόμενους). Οι μονάδες επεξεργασίας ευρισκόμενες εντός του αγροκτήματος εντοπίζονταν κυρίως στις ορεινές περιοχές, όπως Massif Central στη Γαλλία, Trás-os-Montes στην Πορτογαλία και Abruzzo στην Ιταλία. Στην Ισπανία, στη Σλοβακία και στην Ελλάδα οι κρεοπώλες γενικά παρασκευάζουν παραδοσιακά αλλαντικά. Όσον αφορά τις φυλές χοίρων, το 21% ήταν τοπικές, ενώ οι άλλες φυλές ήταν βιομηχανικής εκτροφής (χοίροι πάχυνσης χρησιμοποιούνται ως πρώτη ύλη). Ποσοστό μεγαλύτερο από το 50% των παραγωγών χρησιμοποιούσαν φυσική ωρίμαση των αλλαντικών διάρκειας ολίγων ημερών (μικρού μεγέθους αλλαντικά στην Ελλάδα) έως 36 εβδομάδες (Ιταλία). Παρατηρήθηκε μεγάλη ποικιλομορφία στο σχήμα και στο βάρος των αλλαντικών που κυμαινόταν από 15 g έως 2 kg. Αυτό που χαρακτήριζε τις μονάδες και τα αλλαντικά ήταν η ποικιλομορφία τους.

Αυτές οι παραδοσιακές μικρές μονάδες επεξεργασίας που βρίσκονται συχνά σε μη προνομιούχες περιοχές, έχουν μια σημαντική οικονομική επίπτωση στις περιοχές αυτές, δεδομένου ότι οι περισσότερες έχουν τουλάχιστον έναν εργαζόμενο. Αυτά τα παραδοσιακά προϊόντα που μπορεί να χαρακτηριστούν ως προϊόντα 'προστατευόμενης γεωγραφικής ένδειξης' είναι αποτέλεσμα της τοπικής τεχνογνωσίας, αλλά και της ειδικής, μοναδικής, μικροβιακής οικολογίας των μονάδων παραγωγής. Ωστόσο, λίγα από αυτά τα προϊόντα προστατεύονται από ένα επίσημο σήμα ποιότητας αυτή τη στιγμή.

2. Προσδιορισμός των καταναλωτών

Σε αυτή τη φάση το έργο εστιάστηκε στην έρευνα των κοινωνικο-οικονομικών δεδομένων, των αγορών, της διατήρησης και των συνηθειών των καταναλωτών παραδοσιακών αλλαντικών. Συμμετείχαν οι ίδιες χώρες και περιοχές που αναφέρθηκαν ανωτέρω και ερωτήθηκαν 963 καταναλωτές στη νότια Ευρώπη και τη Σλοβακία. Από τα τα κοινωνικο-οικονομικά στοιχεία της έρευνας διακρίνονται τρεις ομάδες καταναλωτών. Η πρώτη ομάδα περιλαμβάνει καταναλωτές από αγροτικές περιοχές και συγκεκριμένα έγγαμους ηλικίας 31-50 ετών με 2 έως 3 παιδιά. Η δεύτερη ομάδα περιλαμβάνει καταναλωτές από αστικές περιοχές, ηλικίας 31-50 ετών και η τρίτη ομάδα νεαρούς άγαμους καταναλωτές χωρίς τέκνα.

Αν εξετάσουμε τις συνήθειες των καταναλωτών όσον αφορά την αγορά, συντήρηση και κατανάλωση των παραδοσιακών αλλαντικών, προκύπτουν πάλι 3 ομάδες καταναλωτών. Η παραδοσιακή ομάδα καταναλωτών που είχαν αγοράσει αλλαντικά στη μονάδα παραγωγής, τα αποθήκευαν, χωρίς συσκευασία, στην κουζίνα ή στο κελάρι για περισσότερο από μία εβδομάδα και συνήθιζαν να τα καταναλώνουν ως ορεκτικά. Αυτός ο τρόπος κατανάλωσης χαρακτήριζε κυρίως Γάλλους και Ιταλούς καταναλωτές. Ο σύγχρονος τρόπος κατανάλωσης δηλ. καταναλωτές που είχαν αγοράσει αλλαντικά στην αγορά, τα αποθήκευαν συσκευασμένα υπό κενό ή τυλιγμένα με φύλα αλουμινίου και τα κατανάλωναν ως απεριτίφ. Αυτός ο τρόπος κατανάλωσης χαρακτήριζε κυρίως Πορτογάλους και Ισπανούς καταναλωτές. Η τρίτη ομάδα αντικατόπτριζε καταναλωτές, κυρίως Έλληνες και Σλοβάκους, που αγοράζουν αλλαντικά για την προετοιμασία πρόχειρου φαγητού. Τα αλλαντικά αποθηκεύονται σε πλαστικό περιέκτη στο ψυγείο και διατηρούνται 3 έως 7 ημέρες (νέος τρόπος).

3. Η αξιολόγηση της ασφάλειας

Προσδιορίστηκαν οι κίνδυνοι που σχετίζονται με τα παραδοσιακά αλλαντικά και τα κρίσιμα σημεία ολόκληρης της παραγωγικής αλυσίδας, συμπεριλαμβανομένης και της κατανάλωσης, για τη διασφάλιση της ασφάλειας και της ποιότητας των παραδοσιακών αλλαντικών από την παραγωγή έως την κατανάλωση. Οι μικροβιολογικοί κίνδυνοι που ερευνήθηκαν περιελάμβαναν τους παθογόνους μικροοργανισμούς: (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, enterohemorrhagic *Escherichia coli*) και τις βιογενείς αμίνες μικροβιακής προέλευσης (τυραμίνη, ισταμίνη, πουτρεσίνη και καβαδερίνη).

Η ασφάλεια αξιολογήθηκε πρώτα στο επίπεδο του παραγωγού, ερευνώντας το περιβάλλον επεξεργασίας - παραγωγής. Έτσι, 54 μονάδες επεξεργασίας εξετάστηκαν ως προς το επίπεδο υγιεινής με τη χρήση ερωτηματολογίου. Το ερωτηματολόγιο περιελάμβανε τα κριτήρια σχετικά με τα προαπαιτούμενα, το σύστημα αυτοελέγχου που βασίζεται στις αρχές του HACCP, τα κρίσιμα σημεία της διαδικασίας και την αποτελεσματικότητα του προγράμματος καθαρισμού και εξυγίανσης. Το 89% των μονάδων είχαν επαρκείς υποδομές για την εφαρμογή του συστήματος HACCP. Η

πλειοψηφία των μονάδων παραγωγής (80%) είχε ένα αποτελεσματικό πρόγραμμα καθαρισμού και εξυγίανσης του εξοπλισμού. Από τις 54 μονάδες επεξεργασίας μελετήθηκαν 314 περιβαλλοντικά δείγματα (μηχανήματα, επιφάνειες τεμαχισμού, μαχαίρια) για την παρουσία παθογόνων. Είδη του γένους *Salmonella* βρέθηκαν στις μονάδες επεξεργασίας σε 3 δείγματα. Ο μικροοργανισμός *L. monocytogenes* βρέθηκε σε ποσοστό 2,2% των δειγμάτων. Ο *S. aureus* προσδιορίστηκε σε ποσοστό 6,1% των δειγμάτων. Το επίπεδο των αλλοιογόνων βακτηρίων (enterobacteria, *Pseudomonas* spp.) ποικίλει από μονάδα σε μονάδα επεξεργασίας και, από δείγμα σε δείγμα κυμαινόμενο από ένα πολύ χαμηλό ως το επίπεδο του 3 έως 4 log cfu/100 cm².

Παθογόνα βακτήρια βρέθηκαν σε ελάχιστες περιπτώσεις τελικών προϊόντων. Ο *L. monocytogenes* προσδιορίστηκε μόνο σε ένα προϊόν σε επίπεδο ανώτερο από εκείνο της ανοχής (2,0 log CFU/g). Ο *S. aureus* ανιχνεύθηκε σε τέσσερα δείγματα σε επίπεδο ανώτερο από εκείνο της ανοχής (2,7 log CFU/g). Είδη του γένους *Salmonella* ανιχνεύθηκαν σε 3 προϊόντα, γεγονός που δεν συμφωνεί με τα μικροβιολογικά κριτήρια για τα ζυμούμενα αλλαντικά. Εντεροαιμορραγικά (enterohemorrhagic) στελέχη του *Escherichia coli* δεν βρέθηκαν στα τελικά προϊόντα. Το επίπεδο των αλλοιογόνων βακτηρίων (εντεροβακτήρια και ψευδομονάδες) διέφερε πολύ κυμαινόμενο από ένα πολύ χαμηλό σε ένα υψηλό επίπεδο (5 έως 6 log CFU/g). Το επίπεδο των βιογενών αμινών ήταν χαμηλό στα αρχικά προϊόντα (κρεατόπαστα) και αυξάνονταν κατά τη διάρκεια της ωρίμασης, κυρίως για την τυραμίνη. Το επίπεδο των βιογενών αμινών στα παραδοσιακά αλλαντικά δεν αποτελεί κίνδυνο για το γενικό πληθυσμό.

Η ασφάλεια αξιολογήθηκε στο επίπεδο του καταναλωτή από τη μελέτη της μικροβιακής σταθερότητας των αλλαντικών. Λαμβάνοντας υπόψη τις κύριες συνθήκες αποθήκευσης των καταναλωτών της Νότιας και Ανατολικής Ευρώπης και τα χαρακτηριστικά των αλλαντικών, διακρίνονται 3 ομάδες αλλαντικών:

- γαλλικά, ισπανικά και ιταλικά αλλαντικά που περιέχουν μαύρο πιπέρι και ωριμάζουν για τουλάχιστον 3 εβδομάδες. Αποθηκεύονται για 7-10 ημέρες υπό ψύξη ή σε θερμοκρασία δωματίου. Μικρές αλλαγές λαμβάνουν χώρα ανεξάρτητα από τις συνθήκες αποθήκευσης.

- τα αλλαντικά από την Πορτογαλία ήταν καπνιστά τύπου CHOURIÇO, και περιείχαν κόκκινο πιπέρι, και ωρίμαζαν μόνο για 1 εβδομάδα. Τα προϊόντα διατηρούνταν υπό ψύξη έως και 7 ημέρες. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική μεταβολή.

- αλλαντικά από την Ελλάδα και τη Σλοβακία ήταν αποθηκευμένα σε φέτες. Παρατηρήθηκαν μικρές αλλαγές στις τεχνολογικές παραμέτρους, αλλά και οι αλλοιογόνοι μικροοργανισμοί και οι βιογενείς αμίνες αυξήθηκαν σε ορισμένες περιπτώσεις, πιθανότατα λόγω της μίανσης κατά τη διάρκεια του τεμαχισμού.

Συνοψίζοντας τα δεδομένα από τους καταναλωτές, σχεδιάστηκε ένα φυλλάδιο που είχε σκοπό να εξηγήσει στους καταναλωτές ότι τα ευρωπαϊκά παραδοσιακά αλλαντικά που έχουν υποστεί ζύμωση (*tradisausage*) μπορούν να θεωρηθούν ασφαλή προϊόντα, ανεξάρτητα από τον τύπο τους και από τους χειρισμούς του καταναλωτή. Ως γενική σύσταση, τα αλλαντικά θα πρέπει να τοποθετούνται σε κρύο και ξηρό χώρο κατά την αποθήκευσή τους στο σπίτι.

Η ποσοτική εκτίμηση της μικροβιολογικής επικινδυνότητας έγινε με βάση τα δεδομένα από τον επιπολασμό και τη συγκέντρωση των παθογόνων, σε συνδυασμό με τα στοιχεία για το pH, aw, και τους συνδυασμούς χρόνου / θερμοκρασίας που επικρατούν κατά την παραγωγή, αποθήκευση και έως την κατανάλωση των

προϊόντων. Χρησιμοποιήθηκαν επικυρωμένα μοντέλα αύξησης και επιβίωσης των παθογόνων για την αξιολόγηση της πιθανότητας έκθεσης σε *L. monocytogenes* κατά τη στιγμή της κατανάλωσης, ενώ ένα ευρέως καθιερωμένο μοντέλο δόσης-απόκρισης χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της επικινδυνότητας λόγω της κατανάλωσης προϊόντων με χαμηλά ή υψηλά φορτία του παθογόνου. Η εκτίμηση της έκθεσης έδειξε ότι, αν η αρχική μίανση είναι υψηλή ($>10^2$ CFU/g), τότε δεν αναμένεται σημαντική μείωση του πληθυσμού, κυρίως λόγω της μεταβλητότητας που παρατηρήθηκε στο pH που κυμαίνεται από 4.6 σε 6.3, με την πλειονότητα των τελικών προϊόντων να έχουν pH μεγαλύτερο από 5.0. Ωστόσο, ο *L. monocytogenes* δεν μπορεί να αυξηθεί πάνω από 2 log σε κανένα προϊόν, ανεξάρτητα από τη μονάδα παραγωγής και τη χώρα, λόγω της χαμηλής a_w των παραδοσιακών αλλαντικών, η οποία φαίνεται να είναι το πιο κρίσιμο εμπόδιο για την ασφάλεια αυτών των προϊόντων. Η παρατήρηση αυτή σημαίνει ότι τα παραδοσιακά αλλαντικά μπορεί να θεωρηθούν ασφαλή αν ο αρχικός πληθυσμός των παθογόνων είναι χαμηλός, και συγκεκριμένα κάτω από 10^2 CFU/g, πράγμα που συνήθως συμβαίνει.

4. Βελτίωση της ασφάλειας

Η ασφάλεια των προϊόντων και η υγειονομική κατάσταση των μονάδων επεξεργασίας θα μπορούσε να βελτιωθεί και να διασφαλιστεί με εφαρμογή παρεμβάσεων στη μικροβιακή τους οικολογία η οποία βασίζεται: στην εισαγωγή διαδικασιών εξυγίανσης διατηρώντας παράλληλα την τεχνολογική μικροχλωρίδα και στην ανάπτυξη καλλιεργειών εκκίνησης που παρεμποδίζουν την αύξηση παθογόνων και αλλοιογόνων βακτηρίων στα προϊόντα.

Για την επιλογή αποτελεσματικού απολυμαντικού εξετάστηκαν αιθέρια έλαια του φυτού *Satureja thymbra* και βασικά συστατικά τους (θυμόλη, ευγενόλη) που μπορούν να εμποδίσουν την ανάπτυξη ορισμένων βακτηρίων. Η απόδοση των συστατικών αυτών δοκιμάστηκε σε καλλιέργειες βακτηρίων και σε βιοϋμένια. Το αιθέριο έλαιο του *Satureja thymbra* ήταν το πιο αποτελεσματικό απολυμαντικό κατά των αλλοιογόνων βακτηρίων με μείωση από 5 log των *Pseudomonas* και *E. coli*. Η μείωση ήταν περίπου 2 log για τα παθογόνα βακτήρια (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Salmonella enterica* serovar Enteritidis), ενώ τα βακτήρια με τεχνολογικό ενδιαφέρον (οξυγαλακτικά βακτήρια και σταφυλόκοκκοι) επηρεάζονται ελάχιστα. Παράλληλα, απεδείχθη η ανασταλτική δράση των βακτηριοσινών (εντεροσίνες) που παράγονται από στελέχη *Enterococcus faecium* κατά των αλλοιογόνων (*E. coli*, *Pseudomonas*) και παθογόνων βακτηρίων (*S. aureus*).

Για την επιλογή καλλιέργειας εκκίνησης, καταρχήν προσδιορίστηκε η τεχνολογική χλωρίδα (οξυγαλακτικά βακτήρια, και σταφυλόκοκκοι). Αναπτύχθηκαν εργαλεία, όπως το "Staph. Aigay" που επέτρεψε την ταυτοποίηση 36 ειδών σταφυλοκόκκων. Επίσης, αναπτύχθηκαν μέθοδοι φασματοσκοπίας φθορισμού και real-time PCR για τον προσδιορισμό των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Στα τελικά προϊόντα, οι *S. equorum* ή *S. xylosus* ήταν κυρίαρχοι, ενώ οι *S. saprophyticus*, *S. carnosus* και *S. warneri* απομονώθηκαν με μικρότερη συχνότητα. Εξετάζοντας τα οξυγαλακτικά βακτήρια, ο *L. sakei* συχνά ήταν κυρίαρχος ενώ οι *L. curvatus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *Leuconostoc*, *Weissella* και enterococci απομονώθηκαν σε διάφορα επίπεδα. Η επιλογή βασίστηκε σε κριτήρια, όπως: η ασφάλεια (δεν υπάρχει παραγωγή βιογενών αμινών, δεν υπάρχει ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά), η ανταγωνιστικότητά τους (ικανότητα αποικισμού στο περιβάλλον ή ικανότητα αύξησης στο αλλαντικό, η ικανότητα παρεμπόδισης αλλοιογόνων ή παθογόνων βακτηρίων), η ποικιλομορφία

τους (Pulsed-field ηλεκτροφόρηση, RAPD-PCR), ή οι τεχνολογικές τους ιδιότητες (πρωτεολυτική και λιπολυτική δράση).

Τέλος, μια διαδικασία για τη βελτίωση της υγιεινής των προϊόντων πραγματοποιήθηκε εφαρμόζοντας διαφορετικές στρατηγικές: προσθήκη σακχάρων, καλλιέργειες εκκίνησης ή φυσικών αντιμικροβιακών παραγόντων. Η προσθήκη σακχάρων από μόνη της δεν βελτίωσε την υγειονομική κατάσταση των προϊόντων. Ενώ η προσθήκη επιλεγμένων εκκινητών με ή χωρίς φυσικούς αντιμικροβιακούς παράγοντες βελτίωσε την υγειονομική κατάσταση, είτε με τη μείωση των αλλοιογόνων και/ή παθογόνων βακτηρίων, καθώς και της συγκέντρωσης των βιογενών αμινών, και την οξείδωση των λιπιδίων και της χοληστερόλης. Οι οργανοληπτικές ιδιότητες των προϊόντων που παρασκευάστηκαν σε αυτές τις συνθήκες ήταν πλησίον αυτών που παρήχθησαν με παραδοσιακή ζύμωση, με αποτέλεσμα τη διατήρηση του τύπου των παραδοσιακών προϊόντων.

Ένας οδηγός ορθής υγιεινής πρακτικής εκπονήθηκε για να βοηθηθούν οι μικροί παραγωγοί να ελέγχουν τους κινδύνους και, συνεπώς, να παράγουν ασφαλή προϊόντα. Ο οδηγός αυτός εστιάζει σε παραδοσιακά αλλαντικά. Είναι γραμμένος με τη μορφή συστάσεων και είναι εύκολο να κατανοηθεί και να εφαρμοστεί από τους μικρούς παραγωγούς. Αυτός ο οδηγός θα διανεμηθεί και θα παρουσιαστεί άμεσα στους παραγωγούς με την οργάνωση ειδικής εκδήλωσης σε κάθε χώρα.