

Modalità attuabili per il controllo dei pericoli nella filiera alimentare

Giuseppe Comi*, Marisa Manzano, Cristina Giusto, Lucilla Iacumin

Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università di Udine
Via Marangoni 97, 33100 Udine

Società Italiana di Microbiologia Agroalimentare e Ambientale

Riassunto

Ogni anno nel mondo si riscontrano numerose patologie alimentari causate da microrganismi considerati emergenti o riemergenti. Gli alimenti responsabili comprendono sempre più frequentemente prodotti tradizionali tipici, etnici, derivanti da ristorazione tipo *fast o slow food*.

La maggior parte delle patologie alimentari si manifestano attraverso sintomi neurologici, gastrointestinali (diarrea acquosa, sanguinolenta, o persistente) dolori addominali, nausea e vomito.

Le cause di tali epidemie, indipendentemente dal patogeno considerato, sono legate alla materia prima contaminata o a contaminazioni durante la produzione degli alimenti e di conseguenza sono dovute alla mancata applicazione delle più elementari prassi igieniche e al mancato controllo dei punti critici di controllo all'interno dei sistemi HACCP (*Hazard analysis critical control point*). I prerequisiti per favorire la sicurezza dei prodotti alimentari consistono nell'applicazione di buone pratiche di coltivazione, di allevamento e di produzione, l'impiego di sistemi HACCP, la formazione degli addetti alle diverse filiere produttive e all'adozione dei sistemi di identificazione e tracciabilità. Per favorire la salubrità degli alimenti che circolano in Europa la CEE ha introdotto il cosiddetto pacchetto d'igiene, cioè una serie di regolamenti che impongono il controllo dell'alimento in ogni fase della sua produzione, commercializzazione e consumo, dall'allevamento o coltivazione alla tavola del consumatore.

Parole chiave: patologie alimentari, pacchetto d'igiene, sicurezza alimentare.

Abstract

TITOLO IN INGLESE??

Several food pathologies due to new or already known micro-organisms occur all over the world every year. Food concerned are more and more frequently traditional typical, ethnical products coming from *fast or slow food* systems.

Most of food-borne pathologies develop through neurological, gastrointestinal (watery, bloody or persistent diarrhoea) abdominal pain, sickness and vomiting.

The causes of these epidemics, apart from the concerned pathogen, are linked to the contaminated first matter or to contaminations occurred during food processing and consequently due to the lack of employment of the most fundamental sanitary measures and to non-control of the critical points of the HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Point*) systems.

The pre-requirements to promote food health consist of the implementation of good agriculture husbandry and production practices, the use of HACCP systems, the training of the workers employed in the different productive rows and in the adoption of identification and traceability systems.

The EU implemented the so-called hygiene pack, that is a list of rules imposing food control in each processing, marketing and consumption phase, from husbandry or cropping to consumer's table, to promote health in food (circulating) all over Europe.

Key-words: food-borne pathologies, hygiene pack, food health.

* Autore corrispondente: tel.: +39 0432 590745; fax: +39 0432 590719. Indirizzo e-mail: giuseppe.comi@uniud.it

La SIMTREA è un'associazione composta da ricercatori delle Facoltà di Scienze Agrarie italiane e si occupa di microbiologia agroalimentare ed ambientale. Come riportato nello Statuto (art. 2) l'associazione non persegue fini di lucro e si propone di contribuire al progresso della scienza e delle sue applicazioni nel campo della microbiologia agroalimentare ed ambientale. Da ciò l'acronimo SIMTREA. In questa sede sono stato incaricato dall'associazione di far conoscere all'AISSA gli argomenti trattati nel campo della microbiologia alimentare dai ricercatori SIMTREA. In particolare verranno qui esposte le metodologie individuate in un sistema di produzione alimentare ed utilizzate ai fini di garantire un alimento salubre per il consumatore.

Ogni anno nel mondo vengono denunciate numerose patologie alimentari causate da microrganismi considerati emergenti o riemergenti. Gli alimenti responsabili comprendono sempre più frequentemente prodotti tradizionali tipici, etnici, derivanti da ristorazione tipo *fast o slow food*. I microrganismi "emergenti o riemergenti" sono rappresentati dalle specie: *Bacillus cereus*, *Brucella* spp., *Campylobacter jejuni*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* (ceppi enteropatogeni), *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium bovis* e *M. avium*, *Salmonella typhi* e *Salmonella paratyphi*, *Salmonella* (non-tifica) spp., *Shigella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Yersinia enterocolitica*. Accanto a epidemie tipicamente di origine batterica sembrano diffondersi anche patologie prodotte da virus (Epatite A virus, Norwalk-like virus, Poliovirus e Rotavirus), e in seguito al consumo di alimenti etnici consumati crudi o poco cotti anche da protozoi (*Cryptosporidium* spp., *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Toxoplasma gondii*) da trematodi (*Clonorchis sinensis*, *Fasciola epatica*, *Fasciola buski*, *Opisthorchis felineus*, *Opisthorchis viserrini*, *Pragonimus westermani*), da cestodi (*Diphillobotrium latum*, *Echinococcus* spp., *Taenia solium* e *saginata*) e da nematodi (*Anisakis* spp., *Ascaris lumbricoides*, *Trichinella spiralis*, *Trichinella trichiura*).

La maggior parte delle patologie alimentari si manifestano attraverso sintomi neurologici, gastrointestinali (diarrea acquosa, sanguinolenta, o persistente) dolori addominali, nausea e vomito.

Le cause di tali epidemie, indipendentemente dal patogeno considerato, sono legate alla materia prima contaminata o a contaminazioni durante la produzione degli alimenti e di conseguenza sono dovute alla mancata applicazione delle più elementari prassi igieniche e al mancato controllo dei punti critici di controllo all'interno dei sistemi HACCP (*Hazard analysis critical control point*). Da anni questi sistemi sono stati implementati in ogni produzione alimentare, dal piccolo ristorante alla grossa industria, proprio ai fini di prevenire l'insorgenza e il diffondersi di patologie alimentari. Tuttavia sembra che, nonostante ciò, molto spesso gli operatori alimentari si dimentichino di controllare ogni fase di produzione, di rispettare le buone norme di produzione e di igiene, favorendo così il contatto e la crescita dei microrganismi. Di conseguenza occorre più che mai ribadire che le modalità per controllare i pericoli legati agli alimenti sono ampiamente conosciute e pertanto "basta applicarle". I prerequisiti per favorire la sicurezza dei prodotti alimentari consistono nell'applicazione di buone pratiche di coltivazione, di allevamento e di produzione, l'impiego di sistemi HACCP, la formazione degli addetti alle diverse filiere produttive e all'adozione dei sistemi di identificazione e tracciabilità. Del resto recentemente la CEE per favorire la salubrità degli alimenti che circolano in Europa ha introdotto il cosiddetto pacchetto d'igiene, composto da un regolamento quadro (n. 178/2004) e di quattro Regolamenti (852, 853, 854 e 882/2004). A questo vanno aggiunti il 2073, 2074, 2075/2005, che definiscono le norme di attuazione dei precedenti regolamenti e dal 2076, che riporta alcuni integrazioni transitorie.

Il Regolamento (CE) n. 2073/2005 riporta i criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari e il testo è stato emanato ai sensi dell'art. 18 del Regolamento 854 e risponde all'art. 6 del Regolamento (CE n. 178/2002) in base al quale la normativa comunitaria in materia di sicurezza alimentare deve basarsi sull'analisi del rischio. Fornisce inoltre agli operatori economici degli alimenti dei criteri utili per costruire le procedure dell'autocontrollo con le quali si dovrebbe garantire la sicurezza alimentare.

Il Regolamento (CE) n. 2073/2005 è indirizzato agli operatori economici, art. 4 del Regolamento (CE) n. 852/2004 e art. 1 del Regolamento (CE) n. 2073/2005.

Gli operatori economici devono garantire il raggiungimento degli obiettivi di sicurezza stabilito dai Regolamenti del pacchetto igiene.

All'autorità competente spetta la verifica del rispetto e delle norme e dei criteri stabiliti dal Regolamento n. 882/2004 relativo ai controlli ufficiali.

Inoltre all'art. 14 del Regolamento n. 178/2002 responsabilizza anche il consumatore quanto al rispetto delle condizioni d'uso previste per un determinato alimento da consumarsi tenendo conto delle informazioni scritte in etichette scagionando così il produttore in caso di accertata inadempienza.

I criteri microbiologici stabiliti dal Regolamento (CE) n. 2073/2005 corrispondono a degli obiettivi di sicurezza alimentare (i famosi Food safety objectives – FSO), stabiliti nell'ambito dell'analisi del rischio alla luce del livello della protezione del consumatore.

L'articolo 2 del Regolamento (CE) n. 2073/05 introduce e definisce il concetto di "criterio microbiologico". Questo va inteso come criterio che definisce l'accettabilità di un prodotto, di un lotto di prodotti alimentari o di un processo, basato sull'assenza, presenza o numero di microrganismi, e/o basato sulla quantità di loro tossine/metaboliti, per unità di massa, volume, area o partita. Di questa definizione ne viene fatta una sottoclassifica in criterio di sicurezza alimentare, che definisce l'accettabilità di un prodotto, di un lotto di prodotti alimentari applicabile ai prodotti pronti per essere immessi sul mercato e criterio di igiene del processo di lavorazione, che definisce l'accettabile funzionamento di un processo di produzione. Fissa un valore di contaminazione indicativo oltre al quale sono richieste azioni correttive in modo da mantenere l'igiene del processo in conformità con la legislazione alimentare. I criteri di "sicurezza alimentare" sono gli unici che permettono un intervento sanzionatorio sia sul prodotto pronto per essere commercializzato, sia nella fase di commercializzazione, fino alla vendita al consumatore finale. I "criteri di processo" rappresentano uno strumento per l'operatore alimentare per tenere sotto controllo il processo produttivo, al fine di garantire la sicurezza dell'alimento preparato. Tale criterio serve anche come riferimento per l'organo di controllo, in caso di verifica conoscitiva condotta per valutare l'efficacia degli interventi correttivi

vi apportati dal produttore, qualora sia stato accertato un superamento dei limiti di sicurezza in fase di autocontrollo e a seguito di controlli ufficiali durante la vita commerciale del prodotto. Con il Regolamento in questione viene introdotta la nuova definizione di *ready to eat food* (RTE) secondo la quale per *ready to eat food* si intende un alimento pronto per il consumo umano diretto senza la necessità di subire una fase di cottura o altro trattamento diretto senza la necessità di subire una fase di cottura o di altro trattamento efficace per eliminare o ridurre ad un livello accettabile i microrganismi considerati. Questa definizione ha come preciso riferimento gli alimenti adatti a supportare la crescita di *Listeria monocytogenes*.

Dall'esame dell'allegato I del Regolamento citato i criteri di sicurezza stabiliti sono pochi così come le tossine: *L. monocytogenes*, *Salmonella*, *Enterobacter sakasaki*, *E. coli*, enterotossine stafilococciche e istamina. Per *L. monocytogenes* oltre ai vari limiti di sicurezza, vengono anche indicati le caratteristiche intrinseche dell'alimento in grado di impedire lo sviluppo del microrganismo negli alimenti, ossia pH ed Aw del substrato alimentare. Per i prodotti alimentari destinati ad essere esportati verso alcuni paesi come Stati Uniti, Giappone, Cina ed altri l'unico criterio accettabile è l'assenza di *L. monocytogenes* in 25 g.

Il limite tollerabile, e non superabile di 100 UFC/g è stato imposto dalla Danimarca per permettere la vendita delle baffe di salmone affumicato per la difficoltà di escludere il microrganismo. Per la salmonella i limiti sono per lo più gli stessi in vigore nel nostro Paese prima del regolamento. I limiti previsti sono comunque facilmente superabili considerando che le salmonelle sono certamente i microrganismi riscontrabili con relativa frequenza negli alimenti di origine animale.

Poco c'è da dire sui germi testimonianti l'igiene del processo di produzione in quanto irrilevanti dal punto di vista igienico-sanitario. I limiti indicati sono osservabili e, in caso contrario, correggibili facilmente.

A tutt'oggi, però, la Commissione non ha ancora emanato le misure di attuazione dei metodi di campionamento e di analisi, le modalità di esecuzione delle stesse e le norme sulla interpretazione dei risultati di cui all'art. 11 del Re-

golamento (CE) n. 882/2004 per cui, le Autorità di controllo ufficiale, ritengono valido applicare i criteri di sicurezza (limiti) stabiliti dal Regolamento n. 2073/05. Di conseguenza, è auspicabile, che le azioni conseguenti a risultati non conformi saranno ovviamente differenti a seconda che il riferimento sia un criterio di sicurezza alimentare o un criterio di igiene del processo.

Poiché nel Regolamento n. 2073 vengono indicati limiti di tolleranza solo per *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp. è opportuno discutere se queste individuazioni sono del tutto accettabili in base alle odierne conoscenze scientifiche.

In ogni caso il pacchetto d'igiene, impone il controllo dell'alimento in ogni fase della sua produzione, commercializzazione e consumo, dall'allevamento o coltivazione alla tavola del consumatore. Di conseguenza il sistema HACCP deve ormai essere applicato già a livello di produzione primaria. Ciò comporta una netta riduzione della presenza di patogeni in tutta la filiera alimentare. Infatti soprattutto a livello di allevamento spesso è impossibile eradicare completamente un patogeno, tuttavia è sempre possibile ridurre la presenza. Gli animali di allevamento sono da sempre ritenuti fonti di infezioni di patogeni quali *E.coli*, *Campylobacter jejuni*, *C.coli* e *Salmonella* spp. La loro presenza nell'animale è così frequente da rendere impossibile ottenerne la eradicazione. Ciò nonostante l'utilizzo di sistemi basati sulla somministrazione di colture microbiche a giovani animali (es. pulcini, suinetti, ecc.) ha permesso la riduzione dei casi positivi. Tali colture sono costituite da ceppi derivati dall'intestino di animali adulti sani e sono a tipologia e a titolo noto (colture definite) o a tipologia e a titolo sconosciuto (indefinite). Il meccanismo d'azione di queste colture non è noto, si pensa che una volta raggiunto l'intestino esse competano con i patogeni a livello di substrato e dei siti di legame presenti sulle mucose (gangliosidi) e producano acidi grassi volatili e altri inibenti quali batteriocine. L'impiego di tali colture ha permesso di controllare la presenza di *Salmonella* e di *Campylobacter* in pollame. Un'altra tecnica impiegata in allevamento è la somministrazione all'animale di carboidrati quali mannosio, lattosio o miscele di frutto-oligosaccaridi (FOS – miscele di tri-tetra-pentasaccaridi). Queste agiscono inibendo l'aderenza dei patogeni

alle mucose oppure diventano substrato ideale per i microrganismi autoctoni dell'intestino e del cieco. Di conseguenza vengono da questi fermentati e trasformati in acidi e in molecole utili ai fini dell'inattivazione dei patogeni.

A livello di trasformazione degli alimenti, invece è più facile inattivare o inibire i patogeni o prevenirne la presenza. In pratica occorre agire su più livelli e cioè controllare la presenza di patogeni nella materia prima, controllare e modificare i fattori intrinseci (Aw, pH, il potenziale ossido riduttivo) ed estrinseci (temperatura, umidità relativa, confezionamento) dell'alimento, controllare severamente i punti critici di controllo (CCP) e utilizzare tecniche di biopreservazione, quali l'impiego di ceppi microbici che svolgano antagonismo microbico o producano batteriocine. Agendo sui parametri intrinseci ed estrinseci degli alimenti è possibile maturarli e conservarli. Infatti modificando l'Aw e/o il pH e/o l'atmosfera modificata e/o il potenziale redox e/o la carica microbica e/o la temperatura (concetto degli ostacoli) è possibile inattivare o inibire i patogeni.

Il controllo dei punti critici di controllo è di fondamentale importanza per ottenere la salubrità sia di prodotti industriali che di prodotti tipici o di "nicchia". Del resto ogni tipologia di prodotto o ogni diagramma di flusso produttivo presentano uno o più punti critici di controllo.

Per i prodotti soggetti a cottura, pastorizzazione o sterilizzazione è importante il controllo dei tempi e delle temperature impiegate (Tab.1). Nella produzione del prosciutto cotto il controllo della temperatura di salatura (< 8 °C), della temperatura e del tempo di cottura a cuore del prodotto e del tempo e della temperatura di pastorizzazione o sterilizzazione permette di ottenere un prodotto edibile e salubre. In cu-

Tabella 1. Tempo/temperatura prodotti cotti/pastorizzati sterilizzati (Comi et al., 2006).

Table 1. Time/Temperature cooked/pasteurized sterilized products (Comi et al., 2006).

Processo	Temperatura	Tempo
Cottura	68-75 °C (a cuore)	> 5 min
Pastorizzazione	71.6 °C	15 sec (latte)
	85 °C	15 min (salumi)
Sterilizzazione	105 °C	> 10 min
	121 °C	> 10 min

cina il raggiungimento di effetti letali equivalenti a 71 °C durante la cottura di polpettoni o di lasagne, sono indispensabili per inattivare ogni forma microbica asporigena e patogena. Così sfruttando l'incapacità dei patogeni di svilupparsi a pH acidi è possibile produrre alimenti acidificati per via chimica o per via fermentativa. Il controllo del punto critico di controllo "acidificazione" permette la conservazione di diversi vegetali (tab. 2). In questa tipologia di produzione, a livello familiare si controlla il punto critico "tempo di bollitura in acqua contenente aceto o acidi" o "il tempo di permanenza dei vegetali in una soluzione acida". Viceversa in vegetali fermentati occorre controllare la concentrazione del sale della salamoia. Infatti quando tale concentrazione permane al di sopra del 5-6% si attiva la flora lattica che, producendo acido lattico, stabilizza il prodotto. Il controllo dell'andamento del pH può essere un eccellente parametro per inibire i patogeni nei prodotti lattiero-caseari: nella produzione dello yogurt o della mozzarella di bufala l'acidità dei batteri lattici dello starter inibisce e inattiva i patogeni eventualmente presenti nella matrice latte. Nel caso della produzione di prodotti di salumeria quale il prosciutto crudo, il controllo della temperatura di salatura, inibisce l'attività di patogeni e alteranti, mentre il controllo dell'asciugatura permette di raggiungere un valore di A_w inferiore a 0.93; A_w limite per la crescita di molti patogeni e alteranti. Nel caso del salame, invece, il controllo della sola asciugatura permette l'ottenimento, nel giro di 6 o 7 giorni, di un valore di A_w di 0.93 e di un valore di pH pari o inferiore a 5.2 unità. Il raggiungimento di entrambi i parametri comporta l'inibizione di ogni attività da parte dei germi patogeni. È importante a tal fine che il salame venga asciugato in maniera omogenea e corretta evitando l'incrostamento superficiale. Infatti se l'impasto appena sotto il budello secasse in maniera eccessiva (incrostato) verrebbe impedita l'estrazione di umidità dal cuore del prodotto e di conseguenza la carne ivi presente, rimane umida e può supportare la crescita di germi patogeni o alteranti eventualmente presenti.

Nei prodotti parzialmente stabilizzati e confezionati, il controllo dell'atmosfera modificata e della temperatura di conservazione può evitare l'incremento di germi alteranti o patogeni.

Tabella 2. Parametri per la produzione di vegetali sott'olio (Comi et al., 2006).

Table 2. Parameters for in-oil vegetable production (Comi et al., 2006).

Prodotto	Bollitura	Tempo	pH
Peperoni	+	3 min	< 4.0
Funghi	+	20 min	< 4.0
Carciofini	+	10 min	< 4.0
Vegetali vari	-	24/72 h in aceto/acidi	< 4.0

Da diversi anni per limitare l'attività dei patogeni e degli alteranti negli alimenti vengono impiegate colture starter "protettive". Queste sono costituite da batteri non nocivi per l'uomo (GRAS – Generally recognized safe) che per competizione a livello di substrato, per produzione di acidi organici, H_2O_2 e batteriocine inibiscono e/o inattivano i patogeni. Pertanto riducono i rischi per la salute dell'uomo, migliorano e allungano la *shelf-life* del prodotto, favoriscono una corretta asciugatura e consistenza, un corretto sviluppo del colore, dell'aroma, una buona conservabilità e non influenzano negativamente le caratteristiche organolettiche del prodotto. Questi microrganismi sono isolati dagli stessi alimenti perché resistono ad alte concentrazioni di sale, a bassi valori di pH e di acidità, prevalgono sulla flora spontanea, hanno buona capacità acidificante (batteri lattici), buona capacità nitrato-riduttrice e catalasica (Cocchi coagulasi negativi), producono molecole aromatiche attraverso attività proteolitiche e lipolitiche, sono facili da coltivare e stabili durante la conservazione. L'impiego di questi microrganismi starter "protettivi" permette di maturare e stabilizzare il prodotto, standardizzarne la qualità e soprattutto permette di inattivare i patogeni, che eventualmente potrebbero essere presenti nella materia prima. L'attività inibitrice si esplica attraverso la sola competizione a livello di substrato oppure attraverso competizione a livello di substrato e produzione di acidi organici o batteriocine (figg. 1-2). Queste sono delle glicoproteine o delle proteine (peptidi), che vengono liberate dai microrganismi (batteri lattici e cocchi coagulasi negativi) durante la loro crescita. La produzione di tali molecole deriva da geni cromosomiali e/o plasmidici).

Ceppi starter protettivi trovano largo impiego nella maturazione di prodotti a base di car-

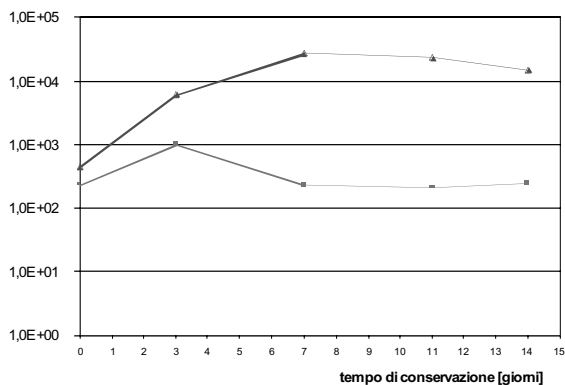


Figura 1. Inibizione per competizione di *Salmonella* spp. da parte di *Lactococcus lactis* 1526D www.chr-hansen.com.

Figure 1. Inhibition due to competition of *Salmonella* spp. by *Lactococcus lactis* 1526D www.chr-hansen.com.

ne e nei prodotti lattiero-caseari. Qui hanno la funzione di maturare il prodotto e se aggiunti in superficie prima del loro confezionamento svolgono un'attività inibitrice nei confronti di eventuali microrganismi patogeni ambientali (*Listeria monocytogenes*) durante la conservazione del prodotto a temperature di refrigerazione. Recentemente ceppi produttori di batteriocine sono stati impiegati anche per conservare ed inibire patogeni sui prodotti vegetali della IV gamma. Le colture sono spruzzate sul vegetale tagliato, prima del confezionamento e svolgono la loro attività durante la conservazione del vegetale a 4 °C e fino al momento del consumo.

Con l'introduzione dei limiti per *Listeria monocytogenes* (inferiore a 100 UFC/g fine shelf-life – REG. CE 2073/05 – fig. 16) per prodotti pronti al consumo, l'impiego di ceppi "protettivi" può divenire un obbligo o una necessità. Infatti tali colture producendo acidi e/o batteriocine inattivano o inibiscono la crescita di *Listeria monocytogenes*. Di conseguenza il prodotto addizionato di ceppi produttori di batteriocine o di molecole inibenti potrà sempre presentare sia durante la conservazione che a fine shelf-life una concentrazione di tale germe sicuramen-

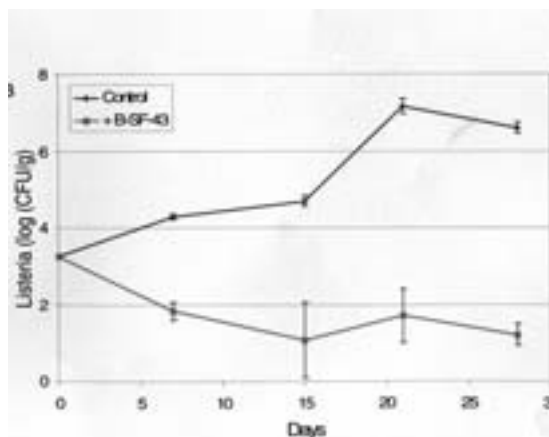


Figura 2. Inibizione/inattivazione di *L.monocytogenes* da parte di *Leuconostoc carnosum* (B-SF-43 – ceppo chr-hansen – www.chr-hansen.com – Franzoni e Mennella, 2005).

Figure 2. Inhibition/inactivation of *L.monocytogenes* by *Leuconostoc carnosum* (B-SF-43 – chr-hansen strain – www.chr-hansen.com – Franzoni and Mennella, 2005).

te inferiore al limite proposto.

In conclusione nella produzione di *slow and fast food*, l'impiego di metodologie conosciute (pH, Aw, potenziale redox e temperatura) integrate con nuove tecnologie (starter, batteriocine) e lo stretto controllo dei punti critici di controllo rappresentano ancora i migliori sistemi per prevenire malattie alimentari sia emergenti che riemergenti.

Bibliografia

- Cantoni C. 2006. Microrganismi indici e indicatori di igiene alimentare – Uno sguardo d'insieme. Appunti delle lezioni tenute presso la Facoltà di Veterinaria dell'Università di Milano.
- Comi G., Manzano M., Iacumin L. 2006. Pericoli reali e modalità attuabili per il loro controllo. **In: Alimenti tradizionali a produzione limitata – Igiene generale, sicurezza di consumo, modelli sostenibili di approvazione e valutazione analitica, 11 maggio, Bologna, 53-62.**