

Alimenti pronti al consumo Così si valuta il rischio Listeria

a cura di **Emanuela Giorgi**
Responsabile di redazione "Alimenti&Bevande"

Silliker Italia propone il Challenge Test Integrato, un nuovo metodo di analisi per calcolare la massima concentrazione di *Listeria monocytogenes* in un alimento ready to eat contaminato ed individuare il giorno della shelf life in cui questo evento potrebbe verificarsi.

Il regolamento europeo 2073/2005 dà la possibilità agli operatori del settore alimentare di effettuare studi per valutare il rischio di *Listeria monocytogenes* nei prodotti pronti al consumo (Ready to Eat - RTE) aventi pH e aw che consentono lo sviluppo di questo microrganismo.

L'agenzia francese AFSSA ha emanato un documento nel novembre 2008 (Technical guidance document for *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat food) che comprende calcoli mirati all'individuazione del tasso di crescita di *Listeria monocytogenes* negli alimenti pronti al consumo. Questi calcoli però non tengono in considerazione l'attività della flora lattica.

Silliker Italia, che con oltre venticinque anni di esperienza nei servizi per la sicurezza e la qualità alimentare offre servizi a tutta la filiera agroalimentare, propone invece il Challenge Test Integrato, che è stato presentato lo scorso aprile a Milano nel corso del 3° Silliker Symposium.

Per saperne di più su questo metodo, abbiamo incontrato il suo ideatore, Marco Romani, direttore scientifico di Silliker Italia.

• Dott. Romani, innanzitutto cos'è un challenge test?

Si tratta di uno studio mirato ad osservare il comportamento di un microrganismo patogeno, nel prodotto in esame. Mentre i "durability studies" prendono in considerazione il comportamento di prodotti naturalmente inquinati, il challenge test prevede che il prodotto venga inoculato artificialmente in laboratorio. Quindi rispetto ai durability studies (che necessitano normalmente di un periodo lungo per avere un numero di dati statisticamente attendibile), i challenge test necessitano di un tempo minore e soprattutto definito per condurre a termine la prova.



Marco Romani, direttore scientifico di Silliker Italia

• E il Challenge Test Integrato in cosa consiste?

È uno studio che si avvale dell'uso di un software predittivo (Combase) e di prove sperimentali di laboratorio. A differenza di altri studi proposti dalla Comunità europea per effettuare la predizione circa il comportamento del germe patogeno inoculato durante la shelf life (vedi la Guida AFSSA del novembre 2008) impiega anche i dati relativi alla flora microbica antagonista, oltre a quelli del germe patogeno prescelto per lo studio.

• Cosa permette di individuare?

Una volta eseguito lo studio, è possibile prevedere il massimo livello che il germe patogeno raggiungerà durante la shelf life ed il giorno in cui questo evento si verificherà, conoscendo i valori della concentrazione di questo patogeno e della flora microbica antagonista (flora lattica) presenti nell'alimento appena prodotto.

• Qual è il suo valore aggiunto rispetto ad altri metodi di analisi?

Nel novembre 2008, l'AFSSA ha emanato una guida per l'effettuazione di studi, di cui possono farsi carico le aziende che si prefiggono di osservare il comportamento di *Listeria monocytogenes* nei prodotti ready to eat con pH e aW favorevoli allo sviluppo di questo microrganismo. Uno di questi metodi denominato Maximum Growth Rate, che impiega il sistema predittivo Microfit software, si basa sull'individuazione del massimo tasso di crescita giornaliero di *Listeria monocytogenes* nei prodotti sopra citati. Questo metodo però risulta essere molto pessimistico perché non permette di valutare né la fase di latenza a cui è soggetta *Listeria monocytogenes* nella prima parte della shelf life, né la fase stazionaria di *Listeria*, indotta dall'effetto della flora lattica naturalmente presente in certi prodotti. In parole povere, *Listeria monocytogenes*, quando viene a contatto col prodotto, necessita di varie ore per poter iniziare a moltiplicarsi ed entrare quindi nella fase di crescita logaritmica. Questa fase viene poi inibita dall'attività della flora lattica naturalmente presente nel prodotto quando quest'ultima rag-

giunge, a sua volta, la sua fase stazionaria. La mancata presa in considerazione di questi due fenomeni fa sì che la predizione sia molto più pessimistica di quanto avvenga in realtà.

Inoltre, se dovessimo applicare i due metodi di challenge test (Maximum Growth Rate e Growth

Listeria monocytogenes

Listeria monocytogenes è un batterio gram positivo, asporigeno, anaerobio facoltativo mobile per la presenza di flagelli peritrichi, catalasi positivo, ossidasi negativo.

Questo microorganismo cresce in un range di temperatura molto largo (tra i -0,4 °C e i 45 °C) ed ha un optimum compreso tra i 30 °C e i 38 °C; questo fa sì che la sua presenza, soprattutto in prodotti "ready to eat" (che ne supportano lo sviluppo) sia da considerarsi pericolosa. *Listeria monocytogenes* possiede una peculiare proteina con attività enzimatica polimerizzante l'actina (ActA): il batterio si crea una "coda" di actina che gli dà la propulsione necessaria a superare la membrana plasmatica della cellula ospite, passando così direttamente nella cellula adiacente.

La forma intestinale della listeriosi, che si manifesta dopo alcune ore dall'ingestione degli alimenti contaminati (nausea, febbre, dolori muscolari e diarrea) non è molto diversa, come sintomi, da altre tossinfezioni. La forma invasiva o sistemica invece è molto temibile (soprattutto per i soggetti immunodepressi, ma non solo). I primi sintomi corrispondono a quelli della forma intestinale, ma poi può dar luogo a setticemia, encefaliti e meningiti. Il tempo di incubazione della malattia sistemica, che ha una mortalità del 20%, è molto lungo (mediamente 1 mese ma arriva fino a 3 mesi).

Possiede una peculiare proteina con attività enzimatica polimerizzante l'actina (ActA): il batterio si crea una "coda" di actina che gli dà la propulsione necessaria a superare la membrana plasmatica della cellula ospite, passando così direttamente nella cellula adiacente.



Potential) proposti dalla Guida AFSSA sul solito prodotto, potremmo osservare, nella maggioranza dei casi, un esito completamente diverso tra le 2 metodiche: il metodo del Growth Potential, essendo molto realistico (in quanto si basa su una prova di laboratorio che prende in considerazione, anche se in modo indiretto, tutti i fattori intrinseci del test) darebbe probabilmente un esito molto diverso (e quindi più ottimistico) rispetto a quello del metodo del Maximum Growth Rate. Il Challenge Test Integrato è, di fatto, un metodo che concettualmente prende spunto dal metodo del Maximum Growth Rate perché si basa su dati sperimentali e microbiologia predittiva, ma nei calcoli da noi ideati tiene conto anche della fase di latenza di *Listeria monocytogenes* e soprattutto dell'effetto benefico della flora lattica che induce l'insorgenza della fase stazionaria di *Listeria monocytogenes*.

- **Quali vantaggi è in grado di apportare alle aziende del settore alimentare?**

I vantaggi per le aziende consistono nel fare delle previsioni realistiche; previsioni troppo pessimistiche infatti potrebbero far prendere decisioni sproporzionate da parte delle ASL e catene di supermercati, rispetto al reale rischio alimentare. In pratica con la tecnica da noi proposta, le aziende potrebbero eseguire una valutazione del rischio più vicina alla realtà.

- **Quali sono i suoi limiti?**

I limiti consistono nel fatto che, trattandosi di una simulazione che ha lo scopo di riprodurre la realtà anche se in modo più realistico possibile, non potrà mai, come tutti i modelli progettati, essere perfettamente aderente a ciò che avviene in natura. Il nostro test comunque, prevedendo un elevato numero di ceppi inoculati nel prodotto, è da considerarsi una prova realistica, ma severa nello stesso tempo.

- **Il Challenge Test Integrato è stato già utilizzato da qualche azienda?**

La metodica è stata messa a punto molto recentemente e la stiamo presentando in questo momento alle aziende e alla autorità sanitaria com-

petente. Il prossimo appuntamento sarà il convegno AIVI, che si terrà dall'8 al 10 giugno a Firenze.

- **Su quali aspetti del Challenge Test Integrato si concentreranno i lavori futuri?**

Il metodo del Challenge Test Integrato presentato a Milano durante il convegno Silliker del 5 aprile scorso si basava su prove eseguite ad una temperatura fissa. Abbiamo però già previsto di adattare il nostro metodo a challenge test che prevedono un gradiente di temperatura; questo per riprodurre ancora più fedelmente quello che avviene in realtà considerando che i prodotti vengono conservati nell'azienda produttrice ad una temperatura più bassa rispetto al periodo di vendita e di conservazione presso i consumatori.

E lo scorso maggio ad EDE, Olanda, in occasione del convegno organizzato da IAFF (European Symposium on Food Safety), la nostra proposta è stata presentata ad una platea internazionale.

Silliker Italia

Silliker Italia, con oltre 25 anni di esperienza nel settore della sicurezza e la qualità alimentare, offre servizi a tutta la filiera agroalimentare: agricoltori, produttori industriali, ristoratori e distributori. Questi sono i punti di forza dell'azienda:

- è sostenuta dall'azionista di riferimento, Institut Mérieux, che permette di accedere alle competenze mediche e scientifiche del suo network;
- è specializzata nel settore alimentare e ha una conoscenza approfondita delle esigenze dell'industria. L'innovazione, la ricerca e lo sviluppo sono affidati a 50 ricercatori di fama internazionale che interagiscono con i team di Institut Mérieux;
- strategia di sviluppo internazionale, con una presenza attuale in 16 Paesi;
- servizi e metodi standardizzati che garantiscono ai clienti internazionali lo stesso livello di qualità in tutto il mondo.

Per maggiori informazioni, www.silliker.it