

Alimenti ready to eat multi-ingredienti: fonti di contaminazione e valutazione del rischio per i consumatori

Simone Stella - Erica Tirloni
Università degli Studi di Milano
Dipartimento VESPA,
Lab. Ispezione degli Alimenti O.A.



Teramo, 14/12/2017



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO



Listeriosi

2

Dagli anni '90, gli interventi delle autorità e degli operatori hanno portato ad una riduzione della diffusione di *L. monocytogenes* in alcune tipologie di alimenti (+++ carni e derivati), MA...



La prevalenza della listeriosi non è diminuita: 2-10 casi/milione in Europa

- Abitudini alimentari: «nuovi alimenti»
- Nuove modalità di produzione e commercializzazione
- «Nuovi» consumatori: cambiamento nella suscettibilità della popolazione



Aumento dei casi nella popolazione anziana
Focolai da alimenti «strani»
Numerosi focolai con pochi casi e (probabilmente) causati da alimenti con cariche non elevate di *L. monocytogenes*





«Nuovi» alimenti

Riduzione dei focolai da Ready To Eat a base di carne bovina e di pollame
CDC (dal 2010): Focolai causati da nuove tipologie di alimenti



2010: Sedano pretagliato

2010-2015: Gelato

2011: Melone

2014: Germogli





2014: Pesche, nettarine, prugne

2014-15: Mele caramellate



Esempio:

2010: SEDANO PRETAGLIATO

- ❖ 10 casi 
- ❖ Associato alla macchina per taglio 
- ❖ Sedano pre-tagliato distribuito in 5 diversi ospedali in Texas 
- ❖ Utilizzato come componente di insalate
- ❖ Pazienti coinvolti >55 anni (età media 80 anni), tutti immunocompromessi o sottoposti a terapia a base di corticosteroidi o trattamento antiacido (> suscettibilità)
- ❖ 5 

No trattamento listericida

Abilità di crescita

Suscettibilità





5

EFSA: alimenti più frequentemente contaminati

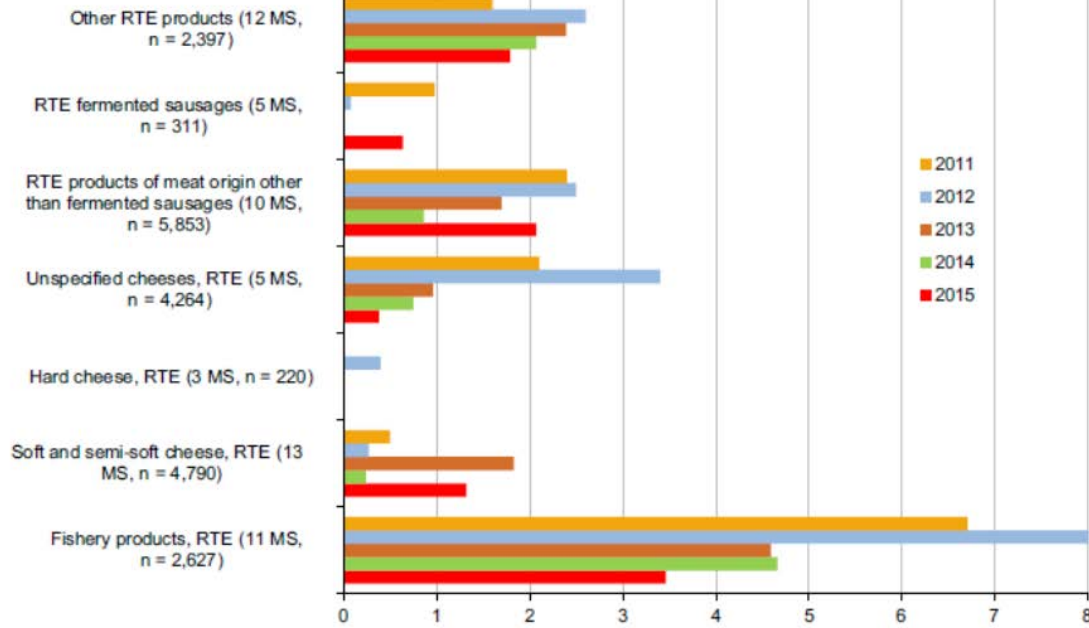


Carni e derivati, prodotti ittici, formaggi...
tutti possono andare a comporre un
alimento multi-ingrediente

Considereremo l'esempio
dei **sandwiches**



% non-compliance at processing



% non-compliance at retail



Perché i sandwiches?



6

- Alimento in forte diffusione in Europa (26 miliardi di Euro/anno in Europa, 2 in Italia): sapore ricco (molti ingredienti), comodità di consumo
- Vari studi: 0-10% di prevalenza di *L. monocytogenes* (secondi solo al pesce affumicato)
- Consumo in luoghi «a rischio»: ospedali, scuole (mercato molto consistente)

Isolamento da campioni negli ospedali:

- UK: 2,7%
- Sardegna: 5,5%



Focolai nel Regno Unito 1999-2011:
Almeno 8 legati al consumo di sandwiches
preconfezionati negli ospedali

Caratteristiche comuni agli alimenti «a rischio» ↔ sandwich



7

- ✓ Sono Ready-To-Eat
- ✓ Contengono ingredienti crudi
- ✓ Contengono alimenti sottoposti a trattamento termico che possono essere ri-contaminati
- ✓ Sono fortemente manipolati
- ✓ Si conservano in refrigerazione
- Hanno una lunga shelf life?
- Supportano la crescita di *L. monocytogenes*?
- Sono destinati a consumatori «a rischio»?



IL NOSTRO CASO

- ❖ Sandwich di Salmone affumicato e crema di piselli
- ❖ Porzione 210 g
- ❖ Shelf life: 3 giorni a temperatura $\leq 4^{\circ}\text{C}$

8



Analisi dei sandwich all'inizio della shelf life: 100 campioni

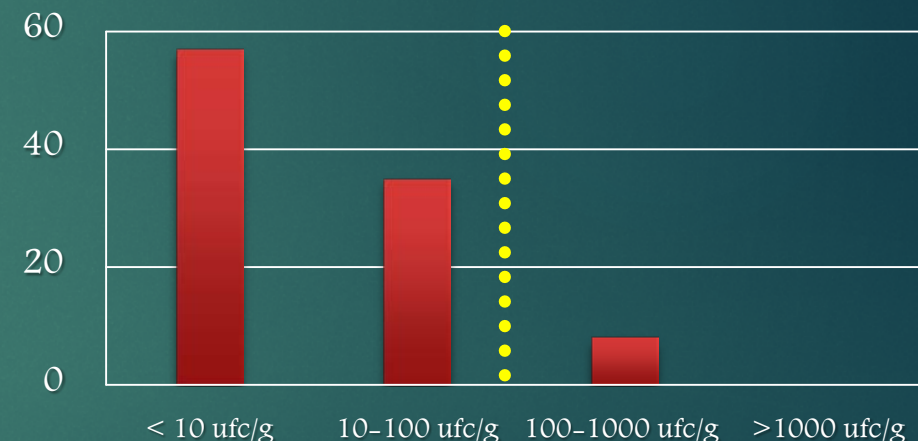


- 43/100 positivi
- 8/100 con cariche > 100 ufc/g
- Concentrazione massima: 740 ufc/g

Porzione: 210 g

155.400 ufc/porzione

Campioni t0



Nb: 92% casi di listeriosi da RTE sono attribuibili a dosi > 100.000 UFC/porzione (EFSA 2017)

Ingredientistica: nei sandwich non manca niente

- 1) Pane
- 2) Salmone affumicato — Prevalenza: anche 10-25%
- 3) Formaggio spalmabile
- 4) Rucola
- 5) Spinacino
- 6) Zucchine
- 7) Crema di piselli

Probabili fonti di
contaminazione?



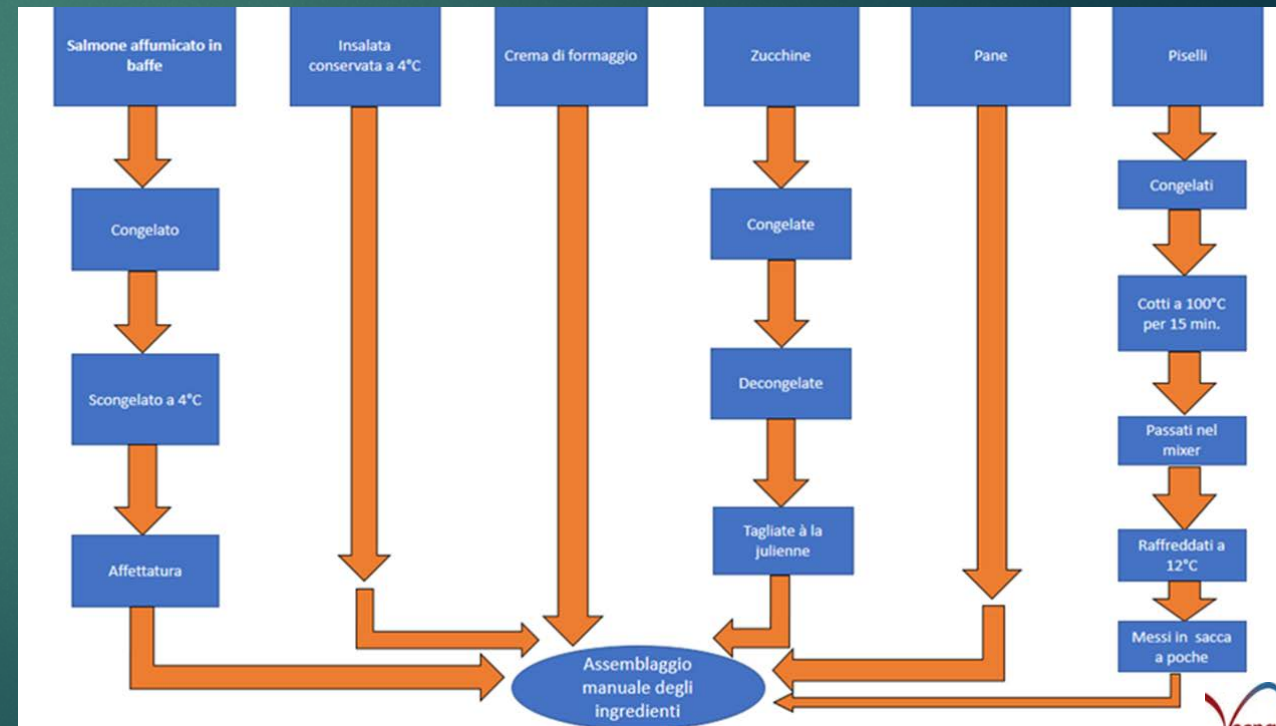
Gestione degli ingredienti: possibile contaminazione?

10

- Salmone affumicato a freddo: scongelato e affettato
- Formaggio spalmabile: preconfezionato
- Pane: preconfezionato
- Crema di piselli: cottura dei piselli (100°C for 15 minuti), mixer
- Insalata IV gamma (confezionata, non lavata)
- Zucchine: lavate e tagliate julienne



- Stoccaggio refrigerato
- Assemblaggio manuale (con l'utilizzo di guanti monouso)
- Taglio e confezionamento del sandwich



Possibile ruolo degli ingredienti come fonte di contaminazione



11

Ogni ingrediente è stato analizzato separatamente

(conta di *L. monocytogenes*)



Tutti gli ingredienti tranne uno: < 10 ufc/g



Ripetizione su diversi campioni



Concentrazione finale nel prodotto = 133 ufc/g

campioni	ufc/g
1	1720
2	inf. a 10
3	inf. a 10
4	inf. a 10
5	1720
6	inf. a 10
7	1880
8	inf. a 10
9	inf. a 10
10	inf. a 10
11	inf. a 10
12	inf. a 10
13	inf. a 10
14	80

Come è possibile?



12



È trattata termicamente (100°C, 15')

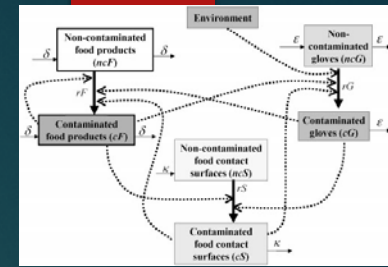


Come si è ricontaminata?

Contatto con altri alimenti naturalmente contaminati
o con altre fonti (ambiente – utensili – operatori)?

Cicli di produzione complessi

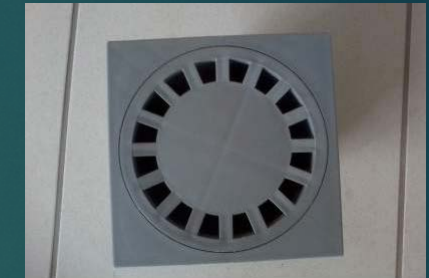
La fonte di ingresso di *Listeria* è importante, ma una volta entrata, si diffonde comunque in modo difficile da controllare (cross-contaminazione)



Superfici a contatto con gli alimenti
soprattutto se usate per alimenti diversi:
affettatrice, tavolo, guanti, materiale di
confezionamento, bilance



Superfici non a contatto con gli alimenti:
pavimenti, pareti, lavabi, giunture, guarnizioni



«Punti di trasferimento»: maniglie delle porte,
spugne, stracci



USA: focolaio →→ straccio utilizzato per la pulizia dei pavimenti e successivamente per la pulizia dei tavoli!

Persistenza di *L. monocytogenes* negli ambienti di lavorazione



14

In molti casi, i ceppi presenti in uno stabilimento sono 1 o pochissimi, e vengono isolati per lunghi periodi (anche anni): **ceppi «di stabilimento»**



Stabilimenti diversi hanno frequenze di isolamento diverse: 1,7-10,8% (USA):
Correlazione fra **scarsa applicazione delle norme igieniche** e prevalenza di Listeria

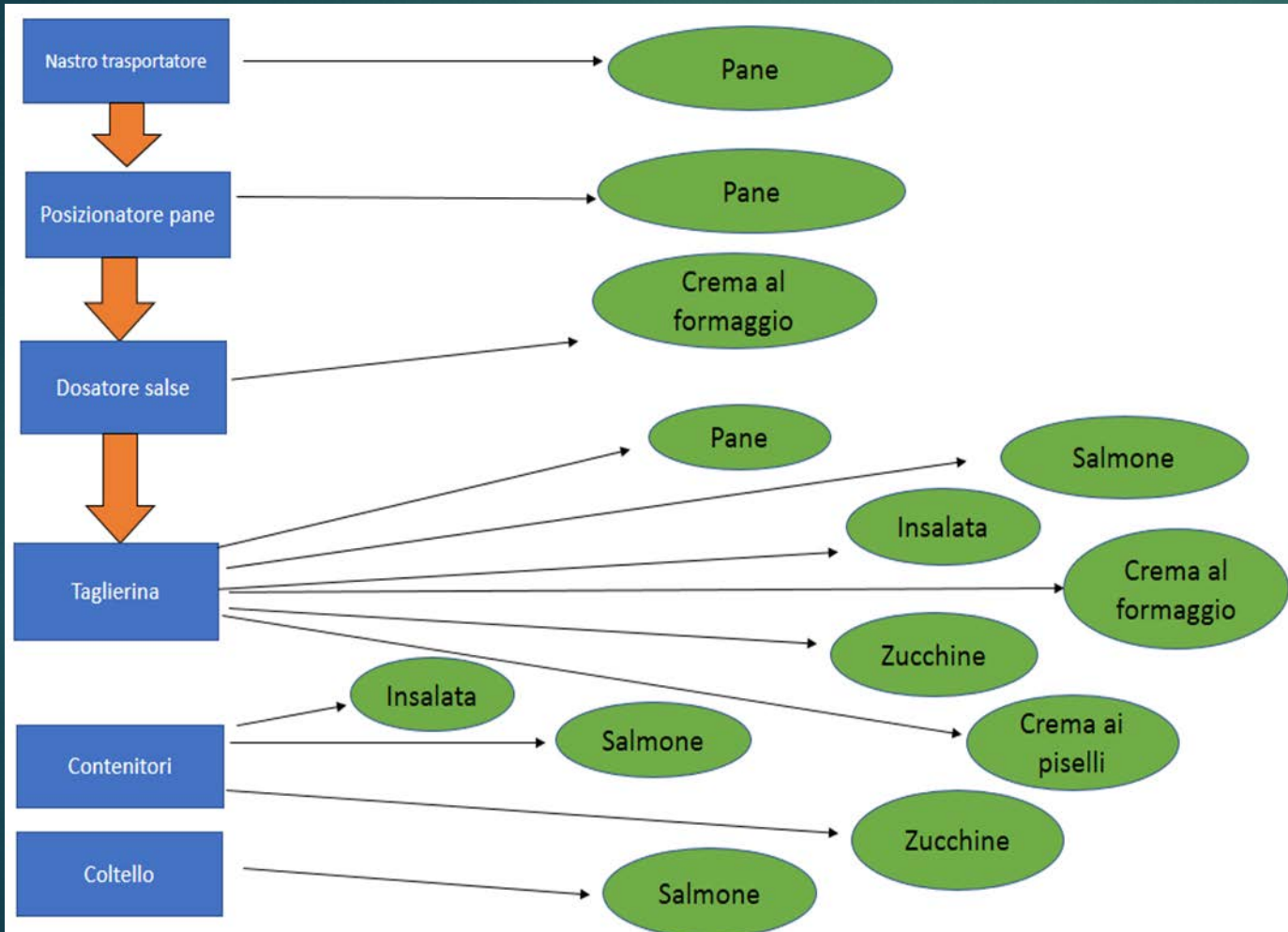
- Presenza di «**nicchie**» difficili da pulire, es. Scarsa manutenzione dei pavimenti
- Formazione di **biofilm**
- Presenza di cellule **persistenti**, «dormienti», con maggiore resistenza



Torniamo al nostro caso...



Campionamenti ambientali preoperativi su superfici a contatto con gli alimenti, ricerca di *L. monocytogenes*



PUNTI DI PRELIEVO	positività
nastro trasportatore	1/2
posizionatore pane	1/2
dosatore salse	2/2
taglierina	2/2
nastro confezionamento	2/2
contenitori ingredienti	2/4
coltello	1/2

Diffusione «totale» della contaminazione

- Diffusione ambientale quasi inevitabile
- Ingrediente identificato: crema di piselli

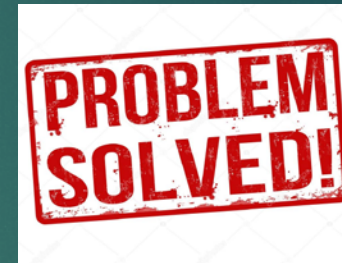


Trattamento di pastorizzazione post-preparazione



L. monocytogenes < 10 ufc/g

Ma perché?



Lavaggio dei contenitori: manuale



Temperatura insufficiente, mancato uso di composti disinfettanti

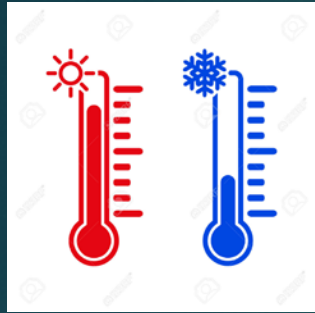


Importanza della conservazione → numero finale di batteri che il consumatore ingerisce

17



• Temperatura di stoccaggio



- Temperatura consigliata in diversi Paesi: 8°C, ma può essere pericolosa
- Ottimale: $\leq 4^{\circ}\text{C}$
- Frigoriferi domestici: in Europa 5% con temperatura $> 10^{\circ}\text{C}$
- Gestione del prodotto: intervallo retail-frigo domestico e frigo-consumo

• Durata della shelf life



«Da consumarsi nei primi giorni dopo la data di produzione?»

È onere del produttore garantire la salubrità del prodotto **fino al termine della shelf life**



Considerare tutta la «vita» dell'alimento:
Ingredienti al termine della loro vita commerciale utilizzati per produrre un alimento «fresco»!

Il prodotto sandwich supporta la crescita?



18



Dipende...

Diversi ingredienti con caratteristiche specifiche, ma a **contatto**

Es. salmone può essere la fonte iniziale di contaminazione del prodotto ma non permettere la crescita,
la salsa è inizialmente priva di *Listeria monocytogenes*, ma ne permette la crescita

Gli ingredienti non sono mescolati, sono giustapposti



NON ESISTE UNA
CONDIZIONE «MEDIA»



Effetto di «**interfaccia**»



- Mele: no sviluppo
- Caramello: no sviluppo
- Area di contatto mele-stecchino: focolaio di listeriosi

Il nostro sandwich supporta la crescita?



19

1) Test di durabilità: qual è la probabilità di consumare una porzione con una carica di *L. monocytogenes* che supera il limite di legge (100 ufc/g) al termine della vita commerciale in condizioni di abuso termico prevedibile?

61 campioni mantenuti a 12°C (retail – stoccaggio domestico)

2 campioni/61 (3,3%)

Il prodotto supporta la crescita di *L. monocytogenes* (Reg. CE 2073/2005)

Conte: 200 ufc/ g e 8800 ufc/g

1.850.000 ufc/porzione!

Il nostro sandwich supporta la crescita?



2) Analisi chimico-fisica degli ingredienti: A_w , pH

	A_w	pH
Salmone	0.96±0.00	6.22±0.12
Insalata	0.99±0.00	6.59±0.12
Zucchine	0.99±0.00	6.63±0.04
Crema di piselli	0.98±0.01	7.00±0.10
Formaggio spalmabile	0.98±0.01	4.47±0.02
Pane	0.95±0.01	5.61±0.16

3) Inoculo sperimentale di ogni ingrediente (challenge tests):

- temperature: 4, 6 e 10°C
- 72 ore (shelf life)



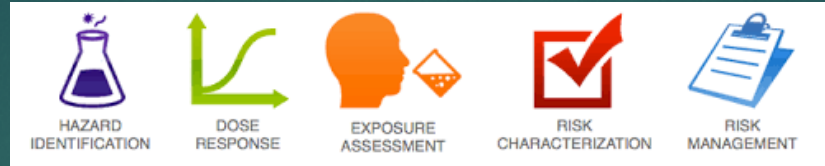
ΔLog	Crema di piselli	Formaggio spalmabile
4°C	2.09-2.11	0.55-0.63
6°C	2.75-3.00	0.57-0.68
10°C	3.85-3.85	0.51-0.74

+ permissivo - permissivo



Stima del rischio per i consumatori

21



Quantitative Microbial Risk Assessment

Stima del rischio (es. numero di casi di malattia) mediante modelli matematici, che tengono conto delle informazioni disponibili e della variabilità dei dati

Modello applicato nel nostro caso:
si focalizza sulla fase di **stoccaggio**



Obiettivo: stima del numero di casi di listeriosi grave a seguito del consumo di sandwich al salmone e crema di piselli.

- Produzione annuale: **20,000 porzioni**
- Scenario di consumo: giorno della **scadenza** (scenario peggiore)
- Popolazione composta da consumatori con **diversa suscettibilità**

QMRA a) Esposizione: stima della "dose" (n° di Listerie) ingerita



22

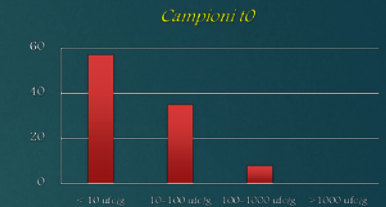
Calcolo della **prevalenza** di campioni con *L. monocytogenes*: 43%

+

Conte iniziali di *L. monocytogenes*

+

Aumento delle cariche batteriche durante la conservazione per 72 ore a 4 (temperatura minima nei frigoriferi), 6 (più probabile), e 10°C (massima)



2 scenari (A_w , pH):

- Contaminazione del formaggio (**scenario «migliore»**)
- Contaminazione della crema di piselli (**scenario «peggiore»**)

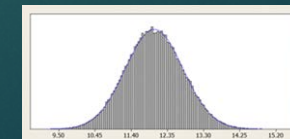
Condizione reale? Può essere simile alla peggiore (contatto tra ingredienti)



Simulazione (software @Risk)



Concentrazione finale → **Dose ingerita**



QMRA b) Modello dose-risposta: quanti sono i casi di malattia a seguito dell'ingestione della dose stimata?

Modello esponenziale:

$$P_{ill}(D;r) = 1 - e^{-r * D}$$

N° di Listerie ingerite

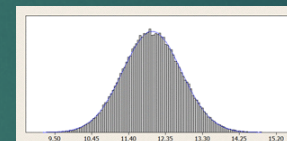
Probabilità di ammalarsi per ogni Listeria ingerita,

Dipende dalla suscettibilità individuale: adulti sani, anziani, donne in gravidanza, immunodepressi, trapiantati...

Popolazione "reale": 18% suscettibili, 0.005% molto suscettibili



Simulazione



< 1 caso/anno

Casi rilevabili solo nello scenario peggiore (crema di piselli) e se la % di soggetti molto suscettibili fosse molto + alta: 1 caso ogni 378 persone molto suscettibili



Possiamo stare tranquilli?



Possiamo stare tranquilli?



24

- Aumento della produzione?
- Luoghi di commercializzazione? (ospedali, scuole)?

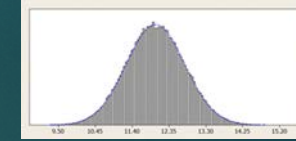
Breve shelf life (< 5 giorni): è OK dal punto di vista legale
E se vengono consumati dopo la scadenza?
Il prodotto è ancora "mangiabile"?
Le persone hanno minore attenzione nei confronti dei prodotti preconfezionati.

E se la popolazione dei campioni analizzati non fosse perfettamente rappresentativa? Media o variabilità più alte?

**Fonti di
«incertezza»**

QMRA c) Valutazione delle incertezze: ripetizione delle simulazioni

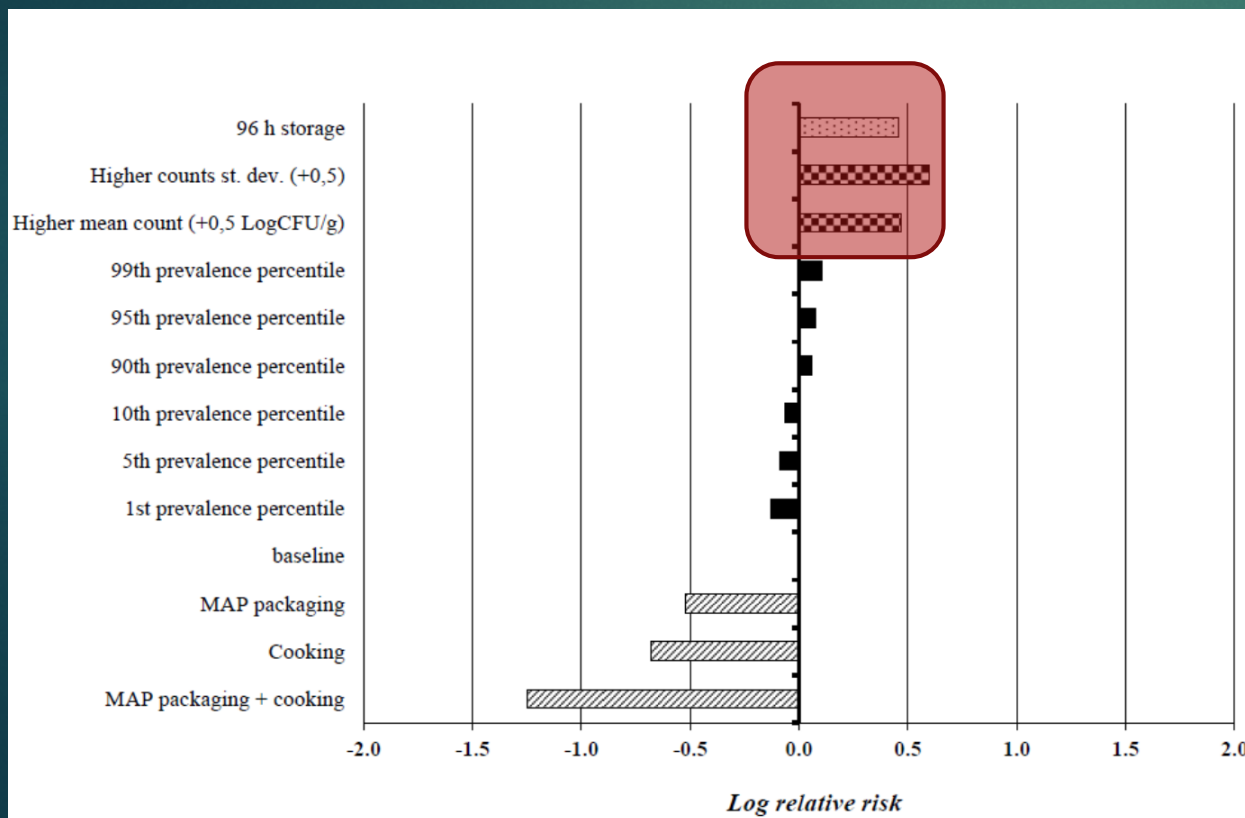
- Es. Maggiore concentrazione batterica o maggiore variabilità
- 1 giorno in più di stoccaggio



25



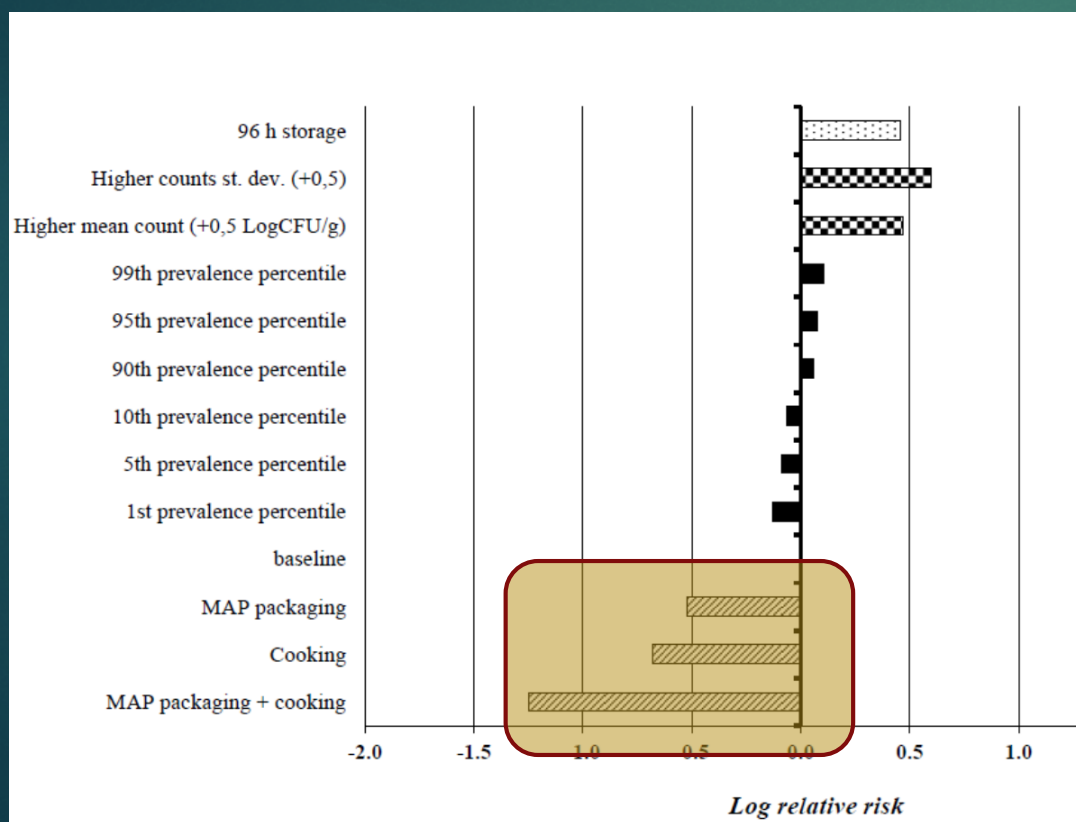
Rischio relativo = casi stimati nel nuovo scenario/casi stimati nello scenario di base



Rischio 3-7 volte maggiore

QMRA d) Valutazione di possibili interventi:

- Riscaldamento prima del consumo (58-66°C per 1-4 minuti)
- Confezionamento in atmosfera protettiva (30% CO₂, 70% N₂)
- Combinazione dei due interventi



Riduzione del rischio:

- MAP: -70% (azienda)
- Riscaldamento: - 80% (consumatore)
- Combinazione: -95%

INTERVENTI IN ATTO E FUTURI

- Temperatura: revisione delle linee guida ($8^{\circ}\text{C} \rightarrow 4-5^{\circ}\text{C}$) (British Sandwich Association)

- Revisione delle liste di alimenti sconsigliati per pazienti «a rischio»



UK: avviso ai gruppi suscettibili di evitare il consumo di:

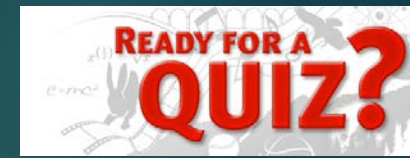
- ✓ formaggi molli stagionati (Camembert, blue-veined, brie),
- ✓ patè,
- ✓ latte non pastorizzato,
- ✓ alimenti poco cotti,
- ✓ RTE a base di pollame,...
- ✓ Sandwiches???



- *Informazione ai consumatori: non è realistico indicare il rischio in etichetta...*
- *Indicazione EVIDENTE della temperatura di conservazione*



Che cosa indicano queste situazioni in uno stabilimento?



28

1. Bassa prevalenza di *L. monocytogenes*, ma singoli episodi di elevata prevalenza → Entrata di materie prime fortemente contaminate e rapida diffusione nello stabilimento
2. Rilevazione di ceppi diversi di *L. monocytogenes* in campionamenti successivi → Reintroduzione con le materie prime
3. Rilevazione dello stesso ceppo di *L. monocytogenes* in ripetuti controlli preoperativi nello stesso stabilimento → Persistenza del ceppo nello stabilimento
4. Presenza di *L. monocytogenes* in diversi punti (+++ punti di trasferimento) → Cross contaminazione

Effetto di «interfaccia» e possibilità di sviluppo di *Listeria monocytogenes*



29



- Mele: no sviluppo
- Caramello: no sviluppo
- Area di contatto mele-stecchino: focolaio di listeriosi

Ipotesi?

L'infissione dello stecchino provoca una rottura della struttura della mela, liberando liquido che diluisce gli zuccheri presenti nel caramello, creando un ambiente favorevole (A_w) alla crescita di *Listeria*?

