

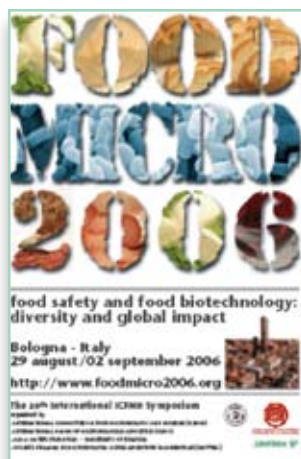
Food Micro 2006



Food safety and food biotechnology:
diversity and global impact

Bologna
29 agosto / 2 settembre 2006

Maria Gloria Attolini



A Bologna (29 agosto-2 settembre 2006), nella suggestiva cornice della Chiesa di Santa Lucia e del Chiostro di San Giovanni in Monte, si è svolto il 20° Simposio ICFMH, FoodMicro 2006.

L'evento, organizzato dalla Prof. M. Elisabetta Guerzoni del Dipartimento di Scienze degli alimenti dell'Università di Bologna e dalla Prof. Giovanna Suzzi del Dipartimento di Scienze degli Alimenti dell'Università di Teramo con la partecipazione di oltre 600 scienziati italiani e stranieri, è stato contrassegnato dal significativo titolo-guida "Sicurezza alimentare e biotecnologia: diversità e impatto globale".

Nella mondo odierno, villaggio globale dove la circolazione di gente, beni, idee è sempre meno soggetta a vincoli e i problemi relativi a temi come cibo, tecnologia e consumo pongono sfide continue al mondo della scienza, all'industria, alle agenzie governative, il nuovo codice - la "missione" - è lavorare per garantire un'alimentazione sicura, ad alto valore nutrizionale ed elevato impatto qualitativo, attentamente studiata per soddisfare le esigenze di un bacino di consumatori quanto mai variegato ed eterogeneo.

Il "paradosso alimentare" della società moderna è che se nei paesi in via di sviluppo il problema della contaminazione degli alimenti ha ancora oggi effetti allarmanti sulle vite umane, nell'altra metà del pianeta il consumatore, garantito sotto il profilo della sicurezza, è indirizzato

verso nuovi alimenti, preferibilmente di pronto impiego, con caratteristiche ben precise: un aspetto il più simile possibile al fresco; proprietà nutrizionali e salutistiche ritenute idonee a promuovere il benessere generale e/o la salute dell'organismo; trattamenti di conservazione che, seppur blandi, assicurino una lunga *shelf-life* al prodotto.

In questo contesto, i problemi legati alle biotecnologie riflettono la stessa ambiguità di fondo: da una parte i microrganismi geneticamente modificati sono percepiti da molti consumatori, specialmente europei, come pericolosi; dall'altra, per incrementare la sicurezza e la qualità dei prodotti fermentati si va sempre più diffondendo l'impiego di particolari colture starter costituite da microrganismi "migliorati geneticamente".

Nello stesso tempo, in Europa si continuano a commercializzare alimenti fermentati preparati con metodi tradizionali, garantiti da rigorose disposizioni di legge, in cui la microflora è utilizzata come strumento per migliorare la qualità del prodotto.

Con il passare degli anni e il progredire delle conoscenze, la microbiologia alimentare si va via via convertendo in una disciplina in cui la scienza pura (genomica, transcriptomica, risposta agli stress, fisiologia microbica) e la scienza applicata (ecologia microbica, microbiologia predittiva, microbiologia dei prodotti fermentati) risultano strettamente coniugate in un affascinante intreccio che attrae scienziati e tecnologi di ogni background ed estrazione.

Al Simposio, queste importanti problematiche sono state organizzate all'interno di *quattro aree tematiche*:

- 1) la genomica nella microbiologia alimentare
- 2) microbiologia e sicurezza degli alimenti
- 3) biotecnologie alimentari
- 4) metodi predittivi e descrittivi nella microbiologia degli alimenti

LA GENOMICA NELLA MICROBIOLOGIA ALIMENTARE

Le maggiori conoscenze sulle sequenze genomiche complete o quasi complete degli organismi d'interesse per la microbiologia alimentare ha aperto la strada alla *genomica funzionale*, che sembra costituire uno degli approcci più efficaci per studiare, a livello molecolare, i pathway metabolici e i potenziali dei microrganismi. Infatti, le analisi su scala genomica con il supporto della bioinformatica si sono rivelate di grande utilità nel campo della genetica e della fisiologia dei microrganismi negli alimenti, essendo in grado di indicare quali geni e network metabolici e regolatori possono essere presenti. La genomica può fornire conoscenze utilizzabili a livello di ingegneria metabolica e per lo sviluppo dei ceppi; inoltre, all'aumentare delle sequenze genomiche disponibili, la genomica comparativa potrà dare importanti informazioni sull'evoluzione e la diversità genetica dei ceppi.

Le tecnologie basate sulla genomica potranno facilitare la caratterizzazione delle risposte all'ambiente e allo stress, fornire strumenti utili allo studio dell'ecologia microbica e favorire la messa a punto di procedimenti rapidi per l'assicurazione della qualità e la valutazione della sicurezza.



Lo studio del PROTEOMA (definito come "the total PROTEIn complement of a genOME) serve a rilevare e permettere l'identificazione del più alto numero possibile di proteine allo scopo di meglio comprendere i meccanismi che sottengono ai processi biologici.

La proteomica è stata originariamente messa a punto sulla base dell'elettroforesi bidimensionale (2-DE). Di recente, si è assistito ad un ritorno di interesse nei confronti di questa tecnica in grado di separare diverse centinaia di proteine e rivelarne l'abbondanza relativa.

La proteomica e la transcriptomica introducono una visione quantitativa e dinamica dell'RNA e delle variazioni subite dalle proteine durante la vita delle cellule.

Nel caso dei microrganismi, possono essere individuati due *approcci fondamentali* basati sulla proteomica. Il primo consiste nello stabilire una cartografia sistematica di un determinato battere in un determinato stato. Questi studi sono importanti in quanto, fornendo informazioni sulla distribuzione e l'abbondanza relativa delle proteine, permettono di confrontare i pattern di diversi ceppi.

Il secondo approccio prevede il confronto dei pattern proteici di un determinato ceppo sottoposto a diverse condizioni ambientali, il che consente di studiare gli effetti di vari stress, farmaci, condizioni culturali, etc...e di identificare proteine differenzialmente espresse.

Le potenzialità di questo tipo di studi nel campo della microbiologia alimentare sono numerose e promettenti: si potranno esplorare le proprietà tecnologiche di nuovi starter a scopo industriale; migliorare le proprietà degli starter in condizioni di stress; spiegare le complesse interazioni dinamiche all'interno delle comunità microbiche; mettere a punto strategie più efficaci per inibire i patogeni e, più in generale, potenziare i pathway metabolici in grado di influenzare positivamente la qualità degli alimenti.

Con lo sviluppo delle tecniche di analisi ad alta resa sarà possibile non solo potenziare gli studi basati sulla proteomica, ma anche mettere a punto approcci integrati che abbracciano la genomica, la transcriptomica, la proteomica e la bioinformatica. Nuove tecniche emergenti (interattomi) potranno essere applicate per determinare le interazioni che hanno luogo fra le proteine dei microrganismi durante la lavorazione degli alimenti.

La sessione sulla genomica è stata aperta da T.R Klaenhammer (Genomics in food microbiology: from genes to traits) che ha illustrato le nuove frontiere della microbiologia alimentare riguardo a come tenere sotto controllo ed eventualmente inattivare i microrganismi indesiderabili negli alimenti, favorendo invece lo sviluppo e l'attività di quelli "buoni".

Secondo Klaenhammer, a seguito del rinnovato interesse sulle interazioni fra microrganismi e ambienti umano/animale ospitanti, la genomica e la proteomica giocheranno un ruolo fondamentale nel determinare l'impatto che l'alimento, le condizioni di lavorazione, il magazzinaggio hanno sulle risposte dei microrganismi favorendone quindi l'attività, la sopravvivenza oppure la distruzione.

I microbiologi alimentari che si occupano di microrganismi patogeni, di commensali, di probiotici o di colture starter possono fare ampio uso di queste metodologie per stabilire il contenuto genetico, costruire pathway metabolici, progettare nuovi substrati e prodotti. A queste procedure se ne affiancheranno altre quali la tecnologia microarray e lo studio dei profili di espressione genica per analizzare la risposta dei microrganismi ai diversi ambienti alimentari, alle condizioni di lavorazione, agli ecosistemi ospitanti e alla presenza di altri microrganismi.

LA SICUREZZA ALIMENTARE

Il crescente interesse del consumatore verso alimenti percepiti come "freschi" e considerati benefici per la salute ha indotto l'industria a ridurre l'impiego di sostanze chimiche e dei trattamenti termici drastici come strumenti per la conservazione, a favore di tecniche alternative che permettano di preservare il più a lungo possibile le caratteristiche organolettiche originarie del prodotto senza comprometterne la sicurezza sanitaria.

Recentemente, sono stati fatti molti progressi nella gestione della sicurezza microbiologica degli alimenti. Le agenzie governative e l'industria si sono impegnate per sostenere l'attuazione di monitoraggi rigorosi tramite sistemi di controllo come HACCP, GMP e GHP.

Tuttavia, l'aumento degli scambi internazionali (viaggi, commerci), il continuo adattamento dei microrganismi a condizioni diverse, le trasformazioni nei sistemi di produzione insieme a mutamenti di tipo demografico e comportamentale hanno generato nuove minacce per l'incolumità del consumatore, stimolando il dibattito sulla necessità di una revisione dei sistemi di controllo. Lo scambio di prodotti alimentari e mangimi fra regioni a diversa prevalenza di patogeni nella catena alimentare, con differenze legate a fattori come le condizioni climatiche ed ecologiche, lo stato di salute delle popolazioni, gli standard igienici e le infrastrutture sanitarie delle aree interessate contribuisce ad inasprire il problema delle tossinfezioni alimentari.

In particolare, sia per quanto concerne le materie prime sia per i prodotti finiti, vi è il crescente timore che l'intensificarsi del traffico internazionale porti all'introduzione di determinate patologie in zone che ne sarebbero altrimenti esenti o che possa

umentare la probabilità che si diffondano pericoli biologici nuovi od emergenti.

Durante la sessione sono stati analizzati i seguenti temi:

- Differenze geografiche nell'incidenza e nei tipi di pericoli microbiologici nella catena alimentare
- Differenze nell'esposizione a patogeni e suscettibilità di sotto-popolazioni che appartengono a gruppi a rischio e necessitano di un particolare livello di protezione
- Approcci adottati dai vari paesi riguardo ai problemi della sicurezza alimentare in base alle differenze culturali e alle attitudini del consumatore
- Come le pratiche di consumo possono influire sul potenziale di crescita dei patogeni o sul problema della ricontaminazione
- Nuovi processi come la produzione di alimenti "biologici" che limitano l'uso di determinati agenti conservanti e sanificanti
- Modificazioni nella tolleranza batterica, resistenza o virulenza come conseguenza di mutazioni, transfer genetico, formazione di biofilm e risposta adattiva a condizioni di stress
- Validità del fingerprinting genetico dei patogeni di origine alimentare per tracciarne la sopravvivenza lungo la catena alimentare.

In apertura di sessione, sono stati approfonditi in particolare due importanti temi di carattere generale: la gestione del pericolo e la tracciabilità nella catena alimentare.

Nell'ambito della relazione "New dimensions of Food Safety" P. Raspor ha affrontato il problema dell' "hazard" sottolineando la necessità di riunire le diverse pratiche di gestione del pericolo in un sistema generale che tenga conto dei diversi aspetti e problemi presentati dai vari anelli della catena alimentare.

Gestire il pericolo e le circostanze in cui si presenta, afferma Raspor, non significa automaticamente avere la certezza di poter tenere completamente sotto controllo il problema della sicurezza degli alimenti. I vari sistemi in vigore, dalle "Buone Pratiche Agricole" (GAP) alle "Buone Pratiche di Lavorazione"(GMP); dalle "Buone Pratiche di Trasporto" (GTP) a quelle riguardanti il magazzinaggio, la vendita, il catering... contengono ciascuno qualche elemento dell' HACCP - il sistema di base dell'odierna pratica alimentare – ma sono parziali e necessitano di essere strutturati in un sistema comprensivo. Raspor propone quindi di riunire queste pratiche in un sistema globale (le Buone Pratiche Nutrizionali, GNP) studiato appositamente per coinvolgere in modo attivo anche il consumatore, fino ad ora tenuto fuori dal gioco.

Come attuare questo sistema cercando di conciliare le diverse esigenze? Per Raspor l'elemento chiave, l'anello di congiunzione fra il mondo della produzione e quello della vendita è la figura del *tecnologo alimentare* che, nel quadro di un'ottimizzazione dei sistemi di gestione della qualità, ha il compito di monitorare e interconnettere gli aspetti tecnici dello sviluppo di un prodotto e del suo percorso lungo tutta la filiera, dalla progettazione alla vendita. Poiché, alla fine, l'obiettivo di questi sforzi è uno, e cioè soddisfare il consumatore, è essenziale che vengano tenuti in conto non solamente i requisiti oggettivi (aspetti relativi al valore nutrizionale, alla sicurezza, all'accessibilità di un alimento) ma anche quelli più generali e soggettivi legati all'appagamento di chi consuma il prodotto (proprietà organolettiche dell'alimento, stile di vita del consumatore). Ed è proprio in quest'area di intersezione fra aspettativa e bisogno che la ricerca incontra oggi i maggiori problemi e raccoglie le più stimolanti sfide nel tentativo di sostenere lo sviluppo razionale di tutto ciò che gravita intorno al pianeta alimentazione. Per affrontare al meglio questi temi sarà dunque necessario creare uno stretto legame fra scienza "hard" e scienza "soft" al fine mettere al servizio del consumatore le conoscenze, le esperienze e le competenze comuni nel rispetto di tutte le fasi della filiera alimentare.

Tracciabilità. Ancora Raspor ricorda che il problema della tracciabilità degli alimenti, oggi urgenza prioritaria per motivi sanitari e commerciali, ha avuto le sue origini nel secolo scorso come risposta all'esigenza di disporre di indicatori geografici specifici per riconoscere e definire le differenti varietà di prodotti che potevano essere dislocati in rivendite situate anche a grande distanza dal luogo di produzione.

Recentemente, la tecnologia informatica ha contribuito in modo significativo alla modernizzazione dei sistemi di tracciabilità rendendo disponibili sistemi computerizzati che permettono di ripercorrere la strada di un alimento dalle origini alla sua presenza nei punti vendita, seguendo puntualmente ogni fase di questo percorso.

Affrontando il tema "Tracciabilità: sfide e opportunità nel commercio internazionale", D.L. Marshall ha ricordato che, con l'avvento del codice a barre, dell'identificazione a radiofrequenza (RFID), degli integratori tempo/temperatura (TTI) e di strumenti basati sulla caratterizzazione genetica, il monitoraggio dei pericoli per la sicurezza alimentare nel commercio internazionale è diventato un compito più semplice.

Nonostante queste opportunità, è necessario però ricordare che il sistema tracciabilità deve anche affrontare importanti sfide a livello internazionale, fra cui:

- possibili manomissioni intenzionali dei sistemi applicati
- difficoltà nell'integrare qualità e sicurezza
- ricerca di un livello di precisione ed esattezza dei test che sia ragionevolmente accettabile
- rischi per il mercato dovuti alle crescenti esigenze da parte del consumatore.

Per risultare un sistema realmente efficace, la tracciabilità dovrebbe comprendere informazioni sulla produzione agricola,

la preparazione dell'alimento, la conservazione, la logistica, l'import/export e la vendita. Un sistema ideale dovrebbe coordinare campionamento, test, monitoraggio e organizzazione per fornire informazioni alle agenzie normative, ai produttori, ai trasformatori e ai commercianti. Un sistema pienamente operante dovrebbe essere in grado di svolgere il compito più impegnativo: integrare qualità e sicurezza.

LE BIOTECNOLOGIE ALIMENTARI

W. H. Holzapfel ha aperto la sessione affrontando il tema. "Safety and Functionality of Lactic Acid Bacteria: Interrelationship in the Context of Modern Food Biotechnology".

I batteri lattici (LAB) sono correlati con molti alimenti fermentati tradizionali e la maggior parte di essi è ritenuta sicura per il consumo umano. L'impiego di determinati ceppi come colture starter ha migliorato significativamente la qualità, la sicurezza e l'accettabilità degli alimenti fermentati. Nell'ambito delle possibili applicazioni delle colture multifunzionali particolare importanza assume il concetto di "nutraceutici," con la prospettiva di effetti benefici sulla salute offerte da ceppi accuratamente selezionati. I LAB sono batteri generalmente considerati sicuri, con alcune eccezioni come, ad esempio, la maggior parte delle specie di *Streptococcus* e alcune di *Enterococcus*. In rari casi, alcuni ceppi di *Lactobacillus*, *Pediococcus* e *Leuconostoc* sono stati associati a particolari infezioni. Ancora, la stragrande maggioranza dei ceppi LAB è "Generally Recognised as Safe" (GRAS) riguardo all'uso designato, secondo l'approccio dell'FDA. A livello di Unione Europea, si sta discutendo la possibilità di produrre un tipo di normativa simile per i ceppi microbici destinati a impieghi tecnici, fra cui le colture starter, protettive e probiotiche. Questo sistema prevede uno schema di valutazione atto a fornire una "Qualified Presumption of Safety" (QPS) per ogni ceppo esistente in commercio.

Nell'ambito della sessione, riguardo agli studi sulla sicurezza, è stata segnalata per la maggior parte degli antibiotici la mancanza di una standardizzazione relativa ai test di resistenza. E' inoltre emersa l'esigenza di fare un chiaro distinguo fra resistenza trasferibile e resistenza costitutiva (intrinseca) anche impiegando metodi genetici.

Un ulteriore problema è legato alla questione dei fattori di virulenza tipici che sono stati ampiamente studiati per gli enterococchi, ma che finora non sono emersi per nessun ceppo di *Lactobacillus*.

Alimenti funzionali

Nell'ambito della sessione, particolare rilievo è stato dato agli alimenti funzionali fra i quali, indubbiamente, i probiotici e i prebiotici costituiscono un'area di crescente interesse scientifico oltre che un settore di mercato emergente: infatti, lo studio di sistemi alimentari che promuovono il miglioramento della salute e lo stato di benessere dell'organismo favorisce attualmente lo sviluppo di una nicchia di mercato con un crescente impatto economico.

Gli antenati dei probiotici sono stati oggetto di interesse e di studio a partire dal 19° secolo. Se a quell'epoca una consistente parte della ricerca microbiologica era indirizzata allo studio dei batteri patogeni che colonizzano l'intestino, solo alcuni scienziati cominciarono a sospettare l'esistenza di batteri intestinali neutri o addirittura vantaggiosi per la salute. Fra loro, Henry Tissier nel 1899 fu il primo a studiare gli effetti benefici dei bifidobatteri e, nel 1908, il russo Eli Metchnikoff pubblicò un libro in cui metteva in correlazione la longevità del popolo bulgaro con il consumo di prodotti fermentati a base di latte contenenti lattobacilli. In Francia nel 1906 la società "Le Fermente" iniziò a commerciare un latte fermentato "Lactobacilline" prodotto con ceppi batterici selezionati dallo stesso Metchnikoff, qualche anno dopo, nel 1925, il termine "yoghourt" fu accolto fra le voci del dizionario "Petit Larousse". Grazie quindi ai contributi di Metchnikoff e ai suoi studi la cultura dei fermenti lattici si estese anche in occidente, andando ad anticipare l'era dei cosiddetti "alimenti funzionali".

Negli anni '30 il giapponese Shirota della Kyoto Medical School scoprì che certi batteri intestinali appartenenti alla normale flora avevano un ruolo importante nel difendere l'organismo dai batteri patogeni e studiò la possibilità di impiegare questi batteri per fermentare il latte, isolando e coltivando il batterio "buono" *Lactobacillus casei* ceppo Shirota (LcS).

Il microbiota intestinale è composto da numerose specie batteriche, le cui attività hanno importanti effetti sullo stato di salute dell'ospite. Fra l'uomo e la microflora, nel corso dell'evoluzione della specie, si è instaurato un rapporto di delicato equilibrio che rischia costantemente di essere sbilanciato (disbiosi) da condizioni di stress di diverso tipo, fisico, psichico, ambientale, alimentare, farmacologico; queste situazioni possono rendere l'organismo suscettibile all'attacco di patogeni. Di qui l'interesse per lo studio del ruolo fisiologico della flora batterica endogena allo scopo di individuare microrganismi con proprietà metaboliche benefiche e distinguerli da batteri esogeni a potenziale patogeno. La dieta, opportunamente modificata e corretta attraverso interventi mirati, costituisce uno dei principali fattori in grado di influenzare la composizione quali/quantitativa della microflora intestinale.

Probiotici, prebiotici, simbiotici

I *probiotici* sono attualmente definiti dalla FAO/WHO come "microrganismi vivi e vitali che, somministrati in quantità adeguate, come parte di un alimento o di un integratore, conferiscono benefici alla salute dell'ospite".



Il bersaglio diretto di questi "ingredienti" è l'intestino, ma indirettamente è tutto l'organismo a beneficiare degli effetti positivi prodotti da questi agenti. La funzione dei probiotici è di promuovere la proliferazione e modulare l'equilibrio della flora batterica che costituisce l'ecosistema intestinale, nonché di potenziare le difese immunitarie dei linfociti di origine intestinale. Il presupposto alla base dell'attività di un probiotico è la resistenza all'attacco degli acidi a livello dello stomaco, che consente al pool batterico di conservare la sua vitalità, condizione essenziale affinché questo agisca a livello intestinale. Attualmente i probiotici vengono consumati prevalentemente sotto forma di latticini (yogurt e latte fermentato) o attraverso l'assunzione di formulazioni farmaceutiche liquide (ad esempio flaconcini) o solide (capsule o tavolette contenenti microrganismi liofilizzati).

Per quanto concerne i batteri lattici, i gruppi principalmente utilizzati sono rappresentati dalle seguenti specie:

- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus casei*
- *Lactobacillus lactis*
- *Lactobacillus bulgaricus*
- *Streptococcus thermophilus*
- *Bifidobacterium bifidum*

Requisiti per i probiotici

- Essere sicuri per l'impiego umano;
- resistenza a bassi valori di pH;
- resistenza al succo gastrico, pancreatico e sali biliari;
- essere vivi e vitali.

Attualmente l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) e la FAO stanno elaborando delle linee guida internazionali che mirano a regolamentare la ricerca e la tipologia di mercato dei probiotici.

Il termine "prebiotico", coniato solo 10 anni fa, va a definire quei composti non digeribili che, a livello di intestino crasso, influenzano positivamente e selettivamente la crescita e l'attività di alcuni batteri presenti nella flora intestinale importanti per il buon funzionamento dell'organismo. I prebiotici sono costituiti da fibre idrosolubili, non gelificanti, tra le quali le più studiate sono i polisaccaridi non amidacei o beta-glucani, i fructani e gli oligofruttosaccaridi (FOS), fra cui l'inulina. Esistono piante in grado di produrre inulina tuttavia, a livello industriale, per ricavare questa sostanza viene normalmente utilizzata la pianta della cicoria. In molti paesi europei l'inulina e l'oligofruttosio sono già ufficialmente riconosciuti come ingredienti alimentari naturali e, negli Stati Uniti, sono generalmente accreditati come ingredienti sicuri.

I fruttani inulina-simili trovano svariati impieghi nell'industria alimentare, per esempio come sostituti di zuccheri e grassi, come addensanti, agenti stabilizzanti e lieviti.

I probiotici e i prebiotici (assieme ai "simbiotici", nei quali i probiotici e i prebiotici sono usati in combinazione per sfruttare in modo ottimale gli effetti benefici derivanti da entrambe classi) sembrano dunque possedere notevoli proprietà che giustificano l'interesse di cui questi ingredienti sono oggetto a livello di industria sia alimentare sia farmaceutica. Per approfondire la ricerca sarà importante determinare in che modo questi nutraceutici possono influenzare il decorso di determinate patologie, indicandone l'impiego ottimale come strumenti di profilassi e prevenzione. La comprensione dei meccanismi d'azione di questi principi funzionali potrà essere utile per definire sempre meglio la stretta correlazione esistente fra alimentazione e salute.

METODI PREDITTIVI E DESCRITTIVI NELLA MICROBIOLOGIA DEGLI ALIMENTI

J. Baranyi ha trattato il tema "Complexity and Mathematical Simplification in Modelling Responses to the Food Environment".

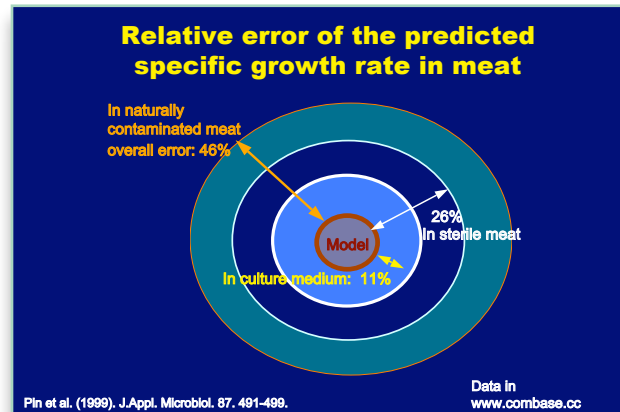
In apertura di sessione Baranyi ha ricordato che, se solo fino a qualche decennio fa gli studiosi di alimenti asserivano che l'ecologia microbica di un alimento è un territorio "troppo complesso" per essere soggetto a modellazione matematica, oggi la maggior parte di essi è concorde nel ritenere che, proprio in quanto si lavora con un ecosistema complesso, per studiare l'ambiente alimentare ed essere in grado di predire l'andamento dei microrganismi che lo abitano l'utilizzo di modelli matematici costituisce uno strumento non solo idoneo, ma addirittura essenziale.

Il compito, tuttavia, non è semplice: i modelli utilizzati, infatti, il più delle volte combinazioni fra modelli empirici e meccanicistici, deterministici e stocastici risultano assai complessi e richiedono, per la validazione, una quantità di dati molto superiore a quella che i sistemi di misura attualmente disponibili sono in grado di fornire. Anche la "microbiologia predittiva", disciplina nata negli anni '80, ha dato risultati di rilievo soprattutto quando applicata alla cinetica batterica di singole specie in terreni di coltura ben definiti; tuttavia, proprio per il problema della complessità, l'ipotesi di un suo utilizzo nel settore alimentare è sempre stata contemplata con un certo scetticismo.

L'assunto che trova concordi tutti gli studiosi di modellazione nel campo della microbiologia predittiva, è che, in ambiente costante, una popolazione batterica omogenea cresce o muore seguendo un andamento esponenziale. La velocità massima di crescita/morte è un parametro autonomo, caratteristico del microrganismo studiato e indipendente dalla storia delle cellule. Il fattore "complessità" si innesta su questa legge di base per una serie di ragioni:

1) Errore di osservazione

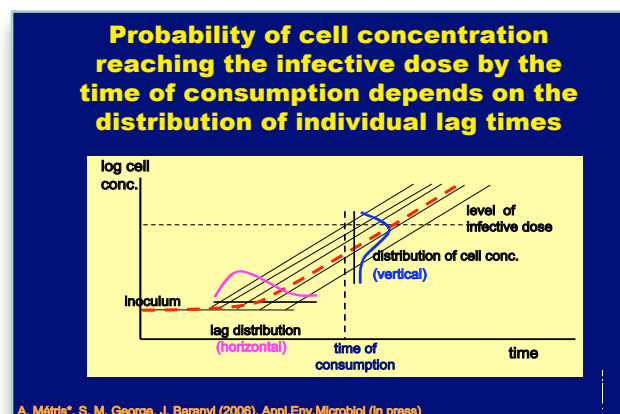
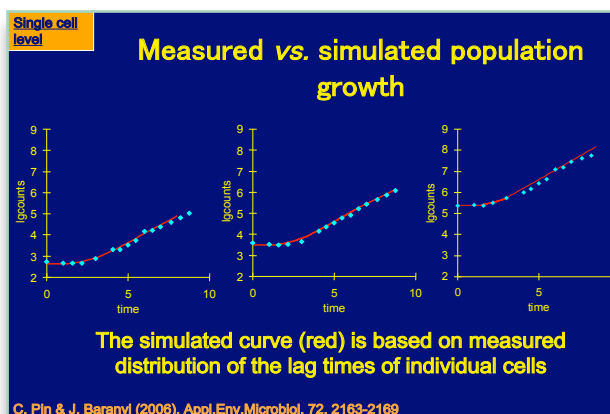
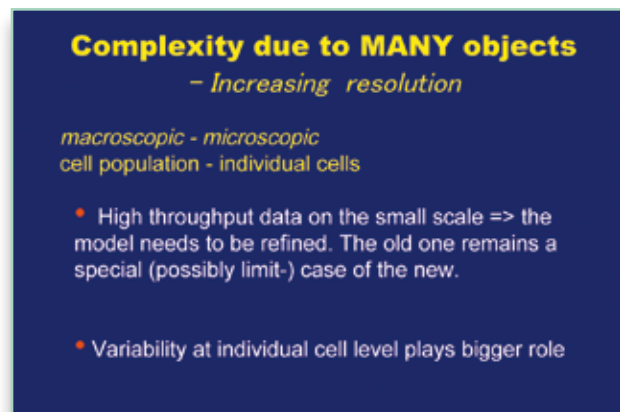
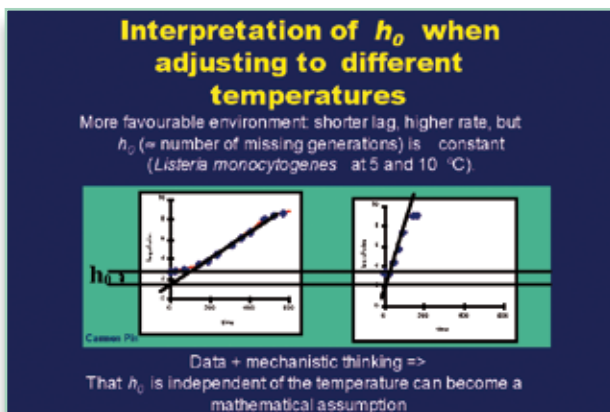
L'osservazione della popolazione è affetta da errore. Questo genere di complessità ci porta a descrivere la variabilità per mezzo della statistica. Anche la casualità dell'errore può essere descritta matematicamente. L'assunto idealistico (= semplificazione), in questo caso, è che gli errori di osservazione seguono una distribuzione di probabilità ben definita.

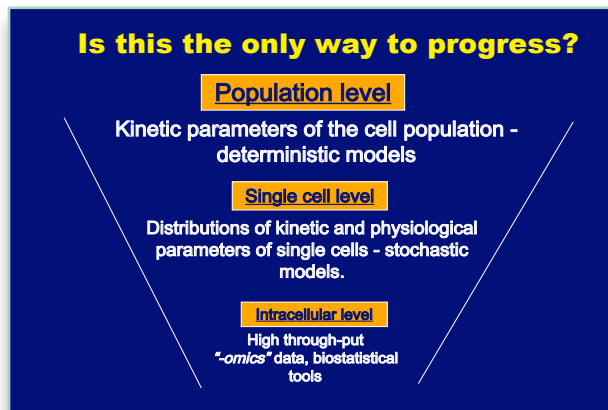
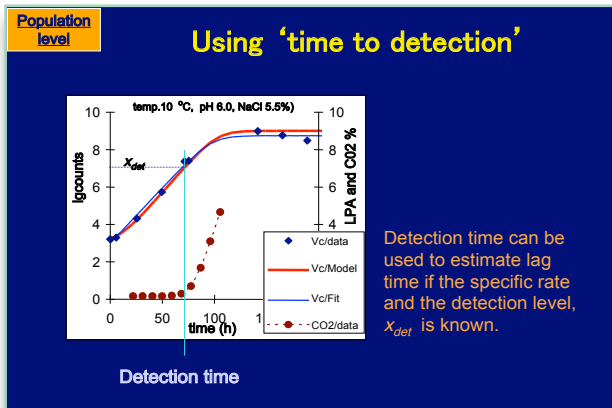


Estensione del concetto di errore relativo in funzione della matrice analizzata

2) Incompletezza

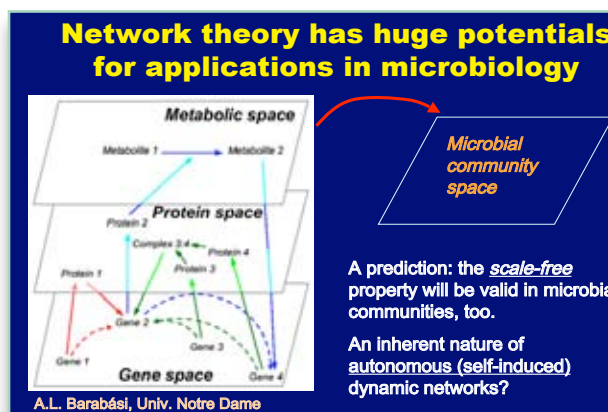
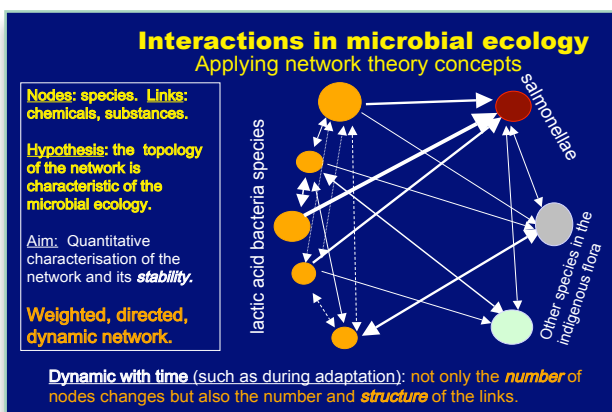
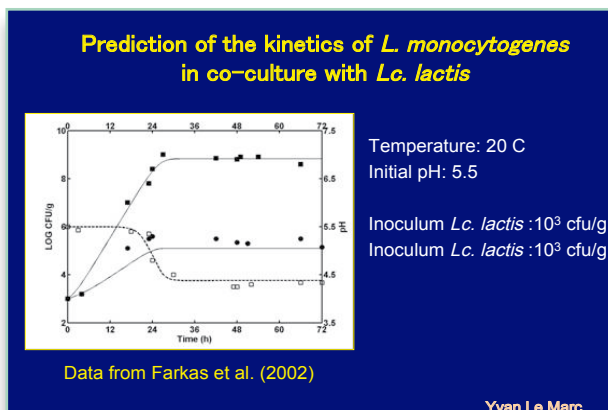
Le caratteristiche-chiave dell'ambiente o del microrganismo non sono sufficientemente conosciute oppure sono troppo complesse per poter essere descritte solo da alcuni fattori. Questa mancanza di informazioni sul sistema rientra negli *studi sull'incertezza*, che sono sempre più frequentemente oggetto di modellazione matematica (approccio bayesiano o inferenza statistica). *L'estensione del modello* si verifica quando si accumula conoscenza su regioni in cui le ipotesi di base del modello di partenza non reggono più. Nella fase esponenziale ideale, la transizione da quella di latenza o alla stazionaria appartiene a questa categoria. Un ulteriore esempio di ciò è quando la popolazione è costituita solo da alcune cellule; in questo caso, poiché il ruolo assunto dalla variabilità delle singole cellule è maggiore, i modelli deterministici di crescita/morte di una popolazione non risultano più idonei. Il modello originale di base diventerà più complesso ma, ancora, l'estensione sarà condotta per mezzo di ipotesi semplificanti.





3) Interazioni

Un approccio nuovo, non tradizionale per la caratterizzazione della la complessità è fornito dalla teoria dei network. E' noto che, quando esiste interazione fra sistemi correlati, l'impatto complessivo non è pari alla somma dei singoli effetti. E' irrealistico pensare di descrivere e simulare/predire le interazioni fra specie in una comunità microbica utilizzando equazioni di tipo tradizionale (differenziali) a causa del carattere univariato delle variabili. Tuttavia, analizzando la tipologia delle interazioni, è possibile predire certe caratteristiche qualitative della loro dinamica congiunta, così come il comportamento asintotico o la resistenza agli effetti esterni. La descrizione della complessità ha un potenziale promettente per la modellazione delle interazioni nelle comunità microbiche.



Durante il convegno, abbiamo avuto l'opportunità di porre a Baranyi la seguente domanda:

"Lei ritiene che i modelli predittivi generali (Combase Predictor, PMP 7, Growth Predictor) siano applicabili ai prodotti tipici della salumeria italiana, specialmente riguardo a *L. monocytogenes*? Quali sono le strategie utilizzabili dai produttori (piccola e media industria) per dimostrare la sicurezza sanitaria dei loro prodotti?"

"Attualmente i pacchetti di software predittivi riflettono quello che coloro che li hanno messi a punto hanno misurato in terreni di laboratorio in condizioni ambientali controllate, dove tutti i fattori sono ottimali tranne quelli (temperatura, pH, etc...) i cui effetti sono realmente modellati.

Pertanto le previsioni sulla crescita dei patogeni, come *Listeria*, sono generalmente sovrastime conservative. Tuttavia, le stime non devono essere utilizzate in senso assoluto, ma relativo. Vale a dire: se attualmente si sa che, per esempio, un alimento è sicuro a temperatura ambiente per 3 giorni e qualcuno vuole conoscere la situazione a temperatura di refrigerazione, bisogna che controlli le velocità di accrescimento specifiche alle rispettive temperature come previsto dal software. Se, ad esempio, l'effetto della velocità di accrescimento diminuisce a un quinto rispetto al valore a temperatura ambiente, allora si può pensare che l'alimento sarà sicuro per $5 \times 3 = 15$ giorni.

Il compito di questi pacchetti non è di dare stime sicure, ma stime approssimative e veloci per avere un quadro globale del comportamento dei microrganismi, capire le principali differenze e pianificare esperimenti di laboratorio. Ricordiamoci che, senza stima iniziale, non può esserci nessun disegno sperimentale ottimale. I modelli predittivi basati su dati generati in terreni di laboratorio non eliminano completamente la necessità di effettuare test microbiologici sugli alimenti!"

A conclusione dei lavori del convegno, particolare rilevanza ha rivestito l'intervento di Marta Hugas, membro del panel BIOHAZ dell'Autorità Alimentare Europea per l'Industria Alimentare che, dopo aver ricordato la missione e la struttura dell'EFSA, ha concentrato l'attenzione sul lavoro svolto dal gruppo di esperti scientifici sui pericoli biologici.

Il gruppo si occupa di questioni concernenti i pericoli biologici in materia di sicurezza alimentare e di tossinfezioni alimentari, che comprendono le zoonosi di origine alimentare, le encefalopatie spongiformi trasmissibili, la microbiologia, l'igiene degli alimenti e la gestione dei rifiuti correlata. Il panel BIOHAZ struttura le opinioni scientifiche in base a quattro ben documentati principi della valutazione del rischio:

- a) identificazione del pericolo
- b) valutazione dell'esposizione al pericolo
- c) caratterizzazione del pericolo
- d) caratterizzazione del rischio.

Oltre a trattare il problema della BSE/TSE, il panel BIOHAZ ha affrontato i seguenti problemi:

- identificazione di quelle categorie di alimenti e/o dei processi di preparazione degli alimenti stessi che possono rappresentare un rischio per la salute dell'uomo a causa di un pericolo definito (es: *Clostridium* spp., *Bacillus* spp. e *Campylobacter* negli alimenti);
- identificazione del pericolo microbiologico per un determinato alimento (es: rischi microbiologici nelle formulazioni per l'infanzia e di proseguimento)
- valutazione dei metodi d'ispezione delle carni
- valutazione dei metodi/misure di controllo (es: effetto dei nitriti e dei nitrati sui prodotti carnei; vantaggi e svantaggi del lavaggio delle uova; uso di antimicrobici e vaccini di Salmonella)
- valutazione del rischio che un determinato pericolo ha di presentarsi in qualunque fase della catena alimentare
- valutazione del rischio come parte delle autorizzazioni (es: valutazione dell'efficacia di sostanze destinate ad essere impiegate per la decontaminazione delle superfici di prodotti di origine animale)
- valutazione del rischio di sotto-prodotti animali.

In seguito all'individuazione di particolari aree d'interesse, il panel può anche esercitare attività di self-tasking.

Strategia dell'EFSA sulla valutazione quantitativa del rischio a livello europeo

La Commissione europea, gli Stati Membri e gli scienziati sono concordi nel sostenere che la valutazione quantitativa del rischio (QMRA) costituisce uno strumento necessario affinché il problema della sicurezza alimentare sia gestito a livello europeo con criteri comuni, più oggettivi e basati sulla scienza. Obiettivi futuri sono anche la trasparenza, la sistematicità e l'efficacia del processo.

Attualmente, l'EFSA sta preparando una strategia nel campo della QMRA prendendo in considerazione a livello europeo:

- le aspettative delle parti interessate
- i vantaggi e gli svantaggi derivanti dall'applicazione della QMRA
- le risorse disponibili
- le esperienze internazionali.

Le difficoltà da affrontare sono molteplici e contemplano, per esempio, la necessità di disporre di tempo e risorse adeguate, di considerare le possibili variazioni regionali (es: abitudini nutrizionali, prodotti locali, variabilità della prevalenza). Un altro fattore essenziale è l'esigenza di disporre di un'interazione efficace fra chi valuta il rischio e chi lo gestisce. Altri elementi chiave per la pianificazione di una QMRA sono la coordinazione, la comunicazione, il team-working e la formulazione di quesiti chiari e ben strutturati.

In fase iniziale, la strategia dell'EFSA riguardo alla QMRA a livello europeo consiste nel fornire un documento guida che descriva la tipologia dei quesiti a cui questo tipo di valutazione può rispondere; questo documento presenterà esempi di situazioni in cui si potrà applicare la QMRA, compreso il tipo di dati richiesti, i tipi appropriati di modelli che possono essere impiegati e la definizione di una terminologia idonea. Questo documento costituirà un valido aiuto per i gestori europei del rischio per definire gli obiettivi della QMRA e all'EFSA per pianificare le azioni successive.

Per quanto riguarda gli strumenti disponibili per una QMRA a livello europeo, lo staff dell'EFSA è stato predisposto in modo tale da avere la capacità di supportare il panel BIOHAZ nella conduzione della QMRA. Il monitoraggio delle zoonosi è il primo sistema che sarà trasferito dalla Commissione all'EFSA. Con la Direttiva 2003/99/EC del Parlamento Europeo e del Consiglio sul monitoraggio delle zoonosi e degli agenti zoonotici, all'EFSA viene assegnato il compito di raccogliere, valutare e riportare i dati sulle zoonosi, gli agenti zoonotici e la resistenza agli antimicrobici. In base a questa Direttiva, l'EFSA dovrà esaminare le relazioni annuali nazionali sulle zoonosi sottoposte agli Stati Membri, analizzare i dati e pubblicare entro la fine di Novembre di ogni anno una relazione riassuntiva sulla situazione all'interno della Comunità.

In questa relazione riassuntiva, l'EFSA potrà prendere in considerazione altri dati presenti nel quadro della legislazione comunitaria, come dati da programmi per controllare ed eradicare malattie animali e zoonosi co-finanziati dalla Comunità, da programmi di controllo coordinati per gli alimenti e da network per le malattie operanti nella Comunità. E' interessante osservare che i dati sui casi di zoonosi nell'uomo non saranno più registrati sotto la nuova Direttiva sulle zoonosi, ma piuttosto saranno acquisiti dai Communicable Disease Networks, come stabilito dalla Decisione 2119/98/EC del Parlamento Europeo e del Consiglio che crea una rete per la sorveglianza epidemiologica e il controllo delle malattie oggetto di notifica all'interno della Comunità. L'unica eccezione è costituita dalle epidemie di origine alimentare in cui tutti gli aspetti, compresi i casi umani, rientrano nella raccolta dati nella nuova Direttiva sulle zoonosi. Questa raccolta comprende su base obbligatoria 8 zoonosi (brucellosi, campylobacteriosi, echinococcosi, listeriosi, salmonellosi, trichinellosi, tubercolosi dovuta a *Mycobacterium bovis*, e *Escherichia coli* verotossigeni), la resistenza agli agenti antimicrobici e le epidemie di origine alimentare. Tutte le altre zoonosi dovrebbero essere riferite, sulla base della situazione epidemiologica dello Stato membro interessato.