

## ***Rischio di contaminazione per le pizze senza glutine in ristoranti con produzione “promiscua” in relazione alle procedure di cottura nel forno***

Presentiamo di seguito una traduzione dell'articolo *Risk of Cross-Contact for Gluten-Free Pizzas in Shared-Production Restaurants in Relation to Oven Cooking Procedures*, pubblicato sul numero 9 del 2016 del **Journal of Food Protection**.

### **GUIDA ALLA LETTURA DEL TESTO**

*Lo studio, svolto dal Reparto di Nutrizione e Salute Umana dell'Istituto Superiore di Sanità in collaborazione con l'AIC, ha analizzato le procedure oggi messe in atto in Italia, nell'ambito del programma di accreditamento della ristorazione privata “Alimentazione Fuori Casa senza glutine”, dell'AIC, e da alcune norme locali (6 regioni), per la preparazione di pizze senza glutine. Lo studio ha focalizzato la propria analisi sulla fase della cottura delle pizze, notoriamente considerata come uno dei momenti a più alto rischio per la contaminazione, in quanto l'utilizzo dello stesso forno comporta un “incrocio” delle due filiere di produzione delle pizze con e senza glutine e per la volatilità della farina, utilizzata per lo “spolvero”<sup>1</sup>.*

*I risultati dello studio hanno confermato che entrambe le procedure oggi ammesse sia nell'ambito del programma AFC AIC sia dalle norme locali previste nelle 6 regioni italiane sono ampiamente tutelanti per la sicurezza del celiaco. Lo studio, infatti, ha analizzato in diverse pizzerie sia la procedura che prevede il forno dedicato (definita “DED”), sia quella che prevede l'utilizzo dello stesso forno, ma con sospensione della cottura delle pizze con glutine, utilizzo di una teglia con bordi rialzati e specifiche manovre di infornamento e impiattamento per le pizze senza glutine (procedura definita “ALT”).*

*Entrambe le procedure sono risultate sicure per i celiaci.*

*Lo studio, inoltre, ha fatto emergere anche una terza possibile procedura: la cottura contemporanea delle pizze con e senza glutine nello stesso forno, purché si applichino specifiche istruzioni operative: oltre a quelle previste per la cottura non simultanea nello stesso forno (es. utilizzo teglia con i bordi rialzati, specifiche manovre di infornamento e impiattamento), è segnalato di utilizzare sempre, per tutte le pizze, anche quelle con glutine, la farina da spolvero senza glutine. Questa procedura di cottura contemporanea richiede consapevolezza e attenzione da parte degli operatori, che dovrebbero eseguire scrupolosamente le procedure individuate. Questo tipo di procedura andrebbe comunque validata con indagine analoga a quella presentata in questo articolo.*

*In sintesi, lo studio evidenzia l'importanza della conoscenza delle procedure e dell'attenzione che è necessaria dedicare nella preparazione di alimenti per celiaci, in particolare laddove si utilizzano sfarinati che, essendo volatili, comportano maggiori rischi di contaminazione. Procedure come l'utilizzo di un forno dedicato, pur non esauendo tutti i potenziali pericoli di contaminazione (il cosiddetto “rischio zero” non esiste in nessuna attività), possono facilitare le operazioni di preparazione degli alimenti senza glutine, evitando gli incroci di filiera e quindi riducendo il rischio potenziale di contaminazione da glutine, ma possono non essere applicabili in tutti i ristoranti. L'organizzazione di procedure che prevedano invece l'utilizzo dello stesso forno richiede l'implementazione di specifiche manovre e operazioni, che garantiscono ugualmente la sicurezza per chi soffre di celiachia.*

*Non dimentichiamo che, oltre al pericolo da contaminazione, l'attenzione deve essere dedicata anche alla corretta selezione degli ingredienti e ad evitare lo scambio di piatti. L'operatore, quindi, dovrà individuare tutti i potenziali pericoli per il cliente celiaco, in tutte le fasi della filiera di preparazione dei pasti senza glutine, dalla selezione degli ingredienti, alla preparazione e cottura, alla somministrazione/servizio, individuando, tra le procedure ammesse/consigliate che garantiscono la sicurezza per il celiaco, quelle più adatte alla propria struttura ed organizzazione.*

---

<sup>1</sup> Nella preparazione delle pizze, prima di stendere la pasta della pizza, usualmente si sparge una piccola quantità di farina sul piano di lavoro per evitare che l'impasto si attacchi alla superficie, questa farina è detta “da spolvero”.

## ABSTRACT

In Italia, è recentemente cresciuto il numero di ristoranti e pizzerie che, oltre alla tradizionale offerta con glutine, offrono pizze senza glutine ai clienti celiaci. In queste strutture, le pizze senza glutine sono preparate con materie prime senza glutine, seguendo procedure che minimizzano il rischio di contaminazione. In questo studio abbiamo analizzato il rischio di contaminazione da glutine in relazione alle procedure di preparazione, con l'obiettivo di identificare una procedura sicura per la fase specifica della cottura delle pizze per persone affette da celiachia. I nostri risultati dimostrano che quando specifici requisiti sono soddisfatti, la cottura simultanea di pizze con e senza glutine è una procedura altrettanto sicura di quelle che prevedono l'utilizzo di un forno dedicato (separazione spaziale, NdT) o la cottura alternata nello stesso forno (separazione temporale, NdT).

La Malattia Celiaca (o Celiachia, *coeliac disease*, di seguito CD) è una infiammazione cronica dell'intestino tenue, scatenata dall'ingestione di glutine in soggetti geneticamente predisposti (9). Il Glutine è la frazione proteica alcol-solubile di frumento, segale, orzo (5). A livello mondiale, la celiachia ha una prevalenza stimata di circa 1:100 tra la popolazione generale (6). Al momento, l'unica terapia disponibile per la celiachia è la rigorosa esclusione del glutine dalla dieta, per tutta la vita. La completa aderenza alla dieta senza glutine (gluten-free, di seguito GF) è difficile ma necessaria non solo per ottenere la remissione dei sintomi associati alla CD, ma anche per prevenire le complicanze, anche molto gravi, che questa condizione può comportare (8). Seguire una dieta GF ha un impatto sociale molto alto. I pazienti affetti da celiachia, per evitare di assumere anche minimi quantitativi di glutine, spesso evitano di mangiare fuori casa, se non strettamente necessario (2). Così, per venire incontro alle esigenze delle persone affette da celiachia nella ristorazione fuori casa, un crescente numero di ristoranti, bar, e pizzerie si sono organizzati per offrire pasti senza glutine (ovvero con una concentrazione di glutine inferiore ai 20 ppm) in affiancamento alla tradizionale offerta con glutine. In questi ristoranti "misti" (dove si manipolano sia alimenti GF sia alimenti con glutine, NdT), i pasti GF sono preparati con materie prime GF da personale addestrato a seguire specifiche procedure definite anche dalla legge, con l'obiettivo di ridurre il rischio di contaminazione accidentale. Queste procedure sono basate su specifiche istruzioni per lo stoccaggio, la preparazione, la cottura e il servizio dei cibi. In Italia, queste procedure sono state definite durante gli anni di applicazione del programma "Alimentazione Fuori Casa senza glutine" (AFC), sviluppato dall'Associazione Italiana Celiachia (4), in cooperazione con la sanità pubblica locale. Il programma AFC è stato avviato nel 2000 e ad oggi include circa 4.000 locali in tutta Italia. Le pizzerie promiscue sono ristoranti con un rischio di contaminazione accidentale molto alto, perché la farina è volatile e può spargersi per il locale e contaminare le pizze GF in differenti momenti del processo produttivo. In questi ristoranti "misti", le materie prime senza glutine vanno stoccate in scaffali dedicati e le pizze devono essere preparate su superfici pulite, evitando il contatto con ogni fonte di contaminazione da glutine.

Per la cottura nel forno delle pizze senza glutine è suggerita una separazione spaziale o temporale dalla cottura delle pizze con glutine. Le pizze senza glutine possono così essere cotte in un forno dedicato oppure possono essere cotte nello stesso forno utilizzato per la cottura delle pizze con glutine, sospendendone la cottura. Il personale coinvolto nella cottura delle pizze senza glutine deve inoltre applicare specifiche manovre per l'infornamento e l'impattamento delle pizze GF. Queste procedure sono basate su una analisi di rischio teorica della possibile contaminazione da glutine delle pizze GF, ma una indagine sistematica non è mai stata condotta a validare formalmente queste metodiche. Questo studio è stato pertanto condotto con l'obiettivo di identificare procedure di sicurezza per la preparazione di alimenti senza glutine, comparando le concentrazioni di glutine rilevate in campioni di pizza GF preparate in differenti pizzerie, seguendo diverse procedure.

## MATERIALI E METODI

Preparazione delle pizze. L'impasto delle pizze senza glutine è stato preparato con un mix di farine di mais, riso e grano saraceno specificamente formulato per celiaci, garantito per avere una concentrazione di glutine inferiore ai 20 ppm; l'impasto per le pizze con glutine è stato preparato con farina di frumento. Per il condimento delle pizze si sono utilizzati salsa di pomodoro e la tradizionale mozzarella (entrambi alimenti naturalmente senza glutine). Gli ingredienti utilizzati per la preparazione delle pizze senza glutine erano stoccati su scaffali separati dei frigoriferi o in armadietti separati da quelli utilizzati per le pizze con glutine. Le pizze con e senza glutine sono state preparate su superfici diverse e separate. Il personale dedicato alla preparazione delle pizze GF indossava uniformi monouso e si lavava le mani attentamente con sapone ogni volta che aveva toccato farina di frumento o altri ingredienti contenenti glutine. Pale separate sono state dedicate all'infornamento delle pizze GF e con glutine.

Nella prima parte di questo studio, pizze GF e con glutine sono state preparate nella cucina didattica di una scuola di arte bianca di Genova, Italia, dove un pizzaiolo addestrato ha preparato pizze con (WB) e senza glutine (GF) seguendo tre differenti procedure per la cottura in forno.

Nella prima procedura (definita TRAD), pizze con e senza glutine venivano cotte simultaneamente nello stesso forno. Prima che le pizze GF fossero infornate, sono state poste in teglie dai bordi rialzati (2,5 cm) per ridurre il rischio di contaminazione. La superficie di cottura del forno è stata equamente suddivisa in due parti, una utilizzata per la cottura di una o due pizze GF, a sinistra, e una per una o due pizze con glutine, a destra. Nella seconda procedura (definita ALT), pizze con e senza glutine sono state cotte alternativamente nello stesso forno, con un lotto di pizze senza glutine seguito da uno di pizza con glutine e così via. Nella terza procedura (definita DED), pizze con e senza glutine sono state cotte in due differenti forni, uno dedicato alla pizza con glutine e uno a quella senza glutine.

Le superfici della cucina didattica usate per la preparazione delle pizze con glutine non sono state pulite dopo una lezione di panetteria tradizionale, per simulare le reali condizioni di una pizzeria durante le normali ore di apertura. Le superfici dove sono state cotte le pizze senza glutine sono state pulite bene con detergente. Per la cottura sono stati utilizzati forni elettrici (124 by 80 by 25 cm; model 4T-60/40, Mondial Forni S.p.A., Verona, Italia). Per le procedure ALT e TRAD, sono state preparate e cotte 10 pizze GF e 10 con glutine al giorno in 3 diverse giornate. Per la procedura DED, sono state preparate e cotte 10 pizze GF (vedere tabella 1).

Nella seconda fase di questo studio, abbiamo raccolto campioni di pizza senza glutine in 5 differenti pizzerie durante il normale orario di lavoro, quando i ristoranti erano aperti ai clienti, per valutare il rischio di contaminazione in condizioni di lavoro reali. Tutte le pizzerie servivano sia pizze con glutine sia pizze senza glutine. Il personale di tutte le pizzerie era stato addestrato sulle specifiche procedure da seguire per evitare la contaminazione da glutine. Tre pizzerie usavano forni elettrici tradizionali: pizzeria 1 (80 by 60 by 25 cm; Moretti S.p.A., Mondolfo, Italia), pizzeria 3 (40 by 35 by 25 cm; double-chamber P234H vented, Effeuno S.r.l., Padova, Italia), e pizzeria 4 (62 by 50 by 12 cm; basic model 2/50/V - N. 2 chamber with glass, AllForFood, Fano, Italia). La Pizzeria 2 usava un forno a legna (134 per 110 per 50 cm), e la pizzeria 5 utilizzava un forno elettrico con ventilazione ad aria forzata (135 by 100 by 18 cm; FRV 100, Morello Forni S.a.s., Santa Marta, Italia). I forni con ventilazione ad aria forzata sono utilizzati di solito per ridurre il tempo di cottura delle pizze, perché la ventilazione dell'aria contribuisce a mantenere alta la temperatura di cottura (Tabella 2). Abbiamo raccolto campioni di pizze senza glutine preparate utilizzando le procedure TRAD, ALT, e DED come sopra descritte.

Nella preparazione delle pizze, prima di stendere la pasta della pizza, usualmente si sparge una piccola quantità di farina sul piano di lavoro per evitare che l'impasto si attacchi alla superficie ("spolvero", NdT).

Questa procedura comporta che significativi quantitativi di farina volatile siano sparsi per la cucina, dove possono rappresentare una fonte di contaminazione per le pizze senza glutine. Nelle pizzerie coinvolte nello studio (ma non nella scuola di arte bianca) abbiamo così voluto testare in un giorno specifico anche l'utilizzo di farina da spolvero GF sia per le pizze GF che per quelle con glutine, applicando le tre diverse procedure (DED, TRAD e ALT) con l'obiettivo di valutare se l'impiego di farina da spolvero GF può ridurre il rischio di contaminazione in pizzeria. Nelle altre giornate di campionamento abbiamo seguito le stesse procedure ma utilizzando farina da spolvero di frumento (WB) per le pizze con glutine, come si fa di solito in pizzeria. Tutte le pizze GF sono state cotte in teglie dai bordi rialzati (2,5 cm).

#### **Determinazione della concentrazione di glutine nelle pizze.**

Ogni pizza GF è stata tagliata in 4 fette uguali. Una di queste fette è stata omogeneizzata usando un frullatore 600-W six-blade (Moulinex, Seb Group, Ecully, France) al massimo rpm per 10 minuti. L'omogenato risultante è stato mescolato per 15 min a 4000 giri per minuto per assicurare una distribuzione omogenea del glutine. Tre campioni di omogenato, ciascuno di 25 mg, sono stati ottenuti per ciascuna pizza e il glutine è stato estratto con il RIDA cocktail solution (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germania). In breve, per ogni 0.25 ml di omogenato, sono stati aggiunti 2.5 ml di cocktail solution; dopo un'incubazione di 40 minuti, sono stati aggiunti 7.5 ml di soluzione acquosa di etanolo 80%, incubato poi per 45 min a temperatura ambiente. Successivamente, i campioni sono stati centrifugati per 10 min a 2500 giri per minuto e 100 ml di campione sono stati analizzati per il contenuto di glutine tramite RIDASCREEN gliadin, un ELISA sandwich kit, basato sull'anticorpo R5 (R-Biopharm AG). Il kit ha un limite di quantificazione (LOQ) di 5 ppm. Pertanto tutti i risultati al di sotto dei 5 ppm sono stati riportati come "al di sotto del LOQ".

#### **RISULTATI**

Le tabelle 1 e 2 descrivono il numero di pizze cotte per la nostra analisi, secondo le procedure riportate. Nella prima parte della procedura sperimentale (Tabella 1), abbiamo studiato il rischio di contaminazione accidentale delle pizze GF seguendo tre diverse procedure in una cucina didattica, dove abbiamo simulato le condizioni di un ristorante "misto" che serve sia pizze specificamente formulate per celiaci che pizze con glutine, nello stesso momento. Abbiamo riportato per ciascuna analisi il risultato come concentrazione di glutine rilevata, perché la media delle 3 determinazioni del glutine per ciascuna fetta sarebbe stata impossibile da calcolare in presenza di valori al di sotto del LOQ. La tabella 3 riporta il contenuto di glutine delle pizze GF. Tutti i risultati, escluso uno correlato ad una pizza cotta secondo la procedura TRAD, mostrano una concentrazione di glutine nelle pizze inferiore ai 20 ppm.

Per confermare i risultati ottenuti nella prima fase dello studio, abbiamo valutato la possibile contaminazione delle pizze cotte durante il normale orario di apertura e regolare attività in cucina in 5 pizzerie promiscue che servivano nello stesso tempo sia pizze GF sia pizze a base di frumento (Tabella 2). Il personale di tutte le pizzerie coinvolte nello studio ha ricevuto una specifica formazione sullo stoccaggio e preparazione di alimenti GF. Tutti i campioni raccolti da pizze preparate in queste condizioni "reali" presentavano concentrazione di glutine sotto i 20 ppm (Tabella 4).

#### **DISCUSSIONE**

La contaminazione nascosta da glutine negli alimenti GF è una seria preoccupazione per le persone affette da celiachia (3). Queste contaminazioni non sono facilmente evidenziabili con circa il 50% dei pazienti adulti che presentano ancora atrofia della mucosa intestinale pur dichiarando di seguire una rigorosa dieta GF da più di 2 anni (7). Per questa ragione, ristoranti e bar misti che offrono un servizio GF in contemporanea al servizio con glutine tradizionale devono seguire procedure rigorose per la preparazione e manipolazione degli alimenti che riducano il rischio di contaminazione accidentale (1). Per quanto a nostra conoscenza,

questo è il primo studio che valuta sistematicamente il rischio di contaminazione accidentale di alimenti GF in relazione alle procedure di preparazione, con lo scopo non solo di identificare procedure sicure, ma anche di tenere in considerazione la sostenibilità e i costi di queste procedure.

Abbiamo deciso di svolgere il nostro studio in pizzeria, perché questo tipo di ristorante è tra quelli a più alto rischio di contaminazione accidentale da glutine, a causa della volatilità della farina di frumento che può contaminare le pizze e gli ingredienti GF nelle diverse fasi del processo di preparazione e cottura.

In senso stretto, la valutazione del rischio di contaminazione accidentale da glutine per i pazienti celiaci dovrebbe tenere in conto solo il limite dei 20 ppm; il Regolamento UE 828/2014 stabilisce infatti che gli alimenti specificamente formulati per celiaci dovrebbero avere una concentrazione massima di glutine di 20 ppm. Ai produttori di alimenti GF è pertanto richiesto esclusivamente il rispetto di questo limite. Un campione di pizza GF secondo la procedura definita TRAD ha mostrato una contaminazione da glutine, con uno dei tre valori sopra i 20 ppm (23 ppm). Sebbene la procedura TRAD non sia risultata associata a contaminazione quando testata nei ristoranti misti reali, che sono ambienti che presentano un rischio maggiore, questa procedura richiede una maggiore vigilanza da parte degli operatori, e il nostro suggerimento è di utilizzare farina da spolvero senza glutine per entrambi i tipi di pizza per ridurre la dispersione volatile della farina di frumento. Come si vede dal trend generale dei risultati per ciascuna delle procedure di cottura testate, la procedura TRAD presenta un aumentato rischio di contaminazione e, come atteso, la procedura DED presenta il trend di rischio più basso. Tuttavia, questi risultati differiscono da quelli ottenuti nelle pizzerie “miste” dove abbiamo svolto la seconda parte dello studio.

Notiamo come i risultati variano tra le pizzerie: molti campioni di pizza raccolti presso la pizzeria 1 hanno un contenuto di glutine superiore al LOQ del kit Elisa R5, con due campioni che presentano una concentrazione tra i 15 e i 20 ppm di glutine; in tutti i campioni di due pizzerie, tutti i valori del contenuto di glutine sono stati sotto il LOQ; e campioni raccolti presso le altre due pizzerie presentavano solo un valore sopra il LOQ. Ciò può significare che l'aderenza alle procedure sia stata diversa tra ristoranti coinvolti e questo aspetto può essere una limitazione del nostro studio. I nostri risultati non ci permettono di dare una valutazione conclusiva sull'impatto che l'uso di farina da spolvero senza glutine anche per le pizze con glutine ha sul pericolo di contaminazione delle pizze GF, perché non abbiamo svolto una valutazione sistematica caso-controllo di questo specifico aspetto. Tuttavia, l'utilizzo di farina da spolvero a base di frumento per le pizze con glutine ha portato ad una determinazione di glutine superiore ai 20 ppm in una pizza cotta secondo la procedura TRAD, cosa che è fortemente suggestiva dell'impiego di farina da spolvero GF anche per le pizze con glutine quando questa procedura fosse seguita. Inoltre, anche se l'utilizzo di farina da spolvero con glutine non è risultata in alcuna determinazione superiore ai 20 ppm nelle procedure DED e ALT, due campioni di pizza cotti secondo la procedura ALT hanno mostrato un trend verso una maggiore concentrazione di glutine.

Nel nostro studio, abbiamo omogenato solo una fetta di pizza, e non l'intera pizza, perché il nostro obiettivo era quello di comparare il rischio di contaminazione accidentale delle differenti procedure di cottura e non quello di misurare l'intero contenuto di glutine di ogni pizza. Abbiamo pertanto assunto che ogni fetta di pizza presentasse la stessa probabilità di venire in contatto con il glutine durante la cottura nel forno e che il glutine dovuto alla contaminazione accidentale avesse una distribuzione omogenea nelle pizze.

La questione principale è se e come i risultati di questo studio dovrebbero avere un effetto sulle procedure utilizzate nei ristoranti “misti”. È necessario utilizzare un forno specificamente dedicato alle pizze GF? I nostri risultati indicano che un forno dedicato non è necessario, se le procedure condivise sono scrupolosamente applicate e il personale è consapevole dei pericoli di contaminazione accidentale. Individuare procedure e attrezzature necessarie a produrre alimenti GF il più possibile semplificate ed economiche può risultare vantaggioso non solo per i ristoratori e gli operatori, ma anche per i pazienti celiaci, che possono trovare una più ampia offerta di luoghi dove mangiare fuori casa in sicurezza.