

LISTERIA MONOCYTOGENES NEGLI ALIMENTI: VALUTAZIONE DEL RISCHIO E INDICAZIONI OPERATIVE PER I CONTROLLI UFFICIALI ALLA LUCE DEL QUADRO NORMATIVO

Listeria monocytogenes in foodstuff: risk assessment and operating procedure for official controls in the light of the regulatory framework

B. Griglio*, S. Marro*, M. Cravero**, M. Rossignoli***

*Ce.I.R.S.A. - ASLTO5 Chieri (TO) - **ASL CN1 - Servizio Veterinario area B

***ASLTO3 di Collegno/Pinerolo - Servizio Veterinario area B (TO)

A
B
S
T
R
A
C
T

In the European Union, *listeriosis* is a relatively rare but serious food-borne illness in humans, with high morbidity, hospitalisation and mortality in vulnerable populations. *Listeria monocytogenes* (*L.m.*) can be found in raw foods and in processed foods that are contaminated during and/or after processing. The fact that it is able to multiply in various foods at temperatures as low as 2 to 4°C makes the occurrence of *L.m.* in *ready-to-eat* (RTE) foods with a relatively long shelf-life, such as fishery products, heat-treated meat products and RTE cheese, of particular concern. Recent risk assessment concluded that most *listeriosis* cases are due to foods having a *L.m.* count markedly above the level of 100 cfu/g. To protect public health a count exceeding the level of 100 cfu/g at the end of the product's shelf-life is considered unsafe in EU legislation and products containing such levels must be withdrawn or recalled from the market. While for most of the parameters of food safety there are no problems of interpretation, the quantitative approach for *L.m.* sometimes created difficulties in assessing analytical result and defining actions to be taken. This document provides an updated framework on prevalence data that indicate the actual risk to public health related to the presence of *L.m.* in food. This paper is also intended to be a source document for public health authority. For this purpose it provides guidance on interpretation of microbiological analysis results and operating procedure for official controls in the light of the legal and regulatory framework.

1. INTRODUZIONE

Listeria monocytogenes (*L.m.*) può provocare malattie negli esseri umani e in genere la trasmissione è alimentare. Tale batterio è spesso presente nell'ambiente, nel suolo, nei vegetali e nelle feci degli animali. Può essere trovato in alimenti crudi, come carne fresca, latte crudo e pesce. L'ubiquitarità e la maggior capacità di crescere o sopravvivere in un ambiente refrigerato, rispetto alla maggior parte degli altri microrganismi, rende *L.m.* particolarmente importante nella produzione alimentare. Questo è il caso soprattutto degli alimenti pronti al consumo (RTE), in cui *L.m.* può crescere, che non ricevono un trattamento termico durante il processo produttivo e che possono essere contaminati dall'ambiente, compreso quello di produzione, durante la loro fabbricazione.

2. CARATTERISTICHE DI LISTERIA MONOCYTOGENES

L.m. è un batterio Gram positivo, non sporigeno, a forma di bastoncino, con tendenza al pleomorfismo.

Le sue caratteristiche fisiologiche gli consentono di sopravvivere e, sia pure in misura ridotta, di moltiplicare anche in condizioni ambientali sfavorevoli per altri patogeni (pH fino a 5.0, concentrazioni di NaCl fino al 10%, temperature di +2°/+4°C o anche inferiori), il che rende la sua presenza particolarmente preoccupante negli alimenti RTE, soprattutto se con una lunga vita commerciale (*shelf-life*).

La sua capacità di produrre rapidamente biofilm gli permette di sopravvivere a lungo, anche fino a 10 anni, sulle superfici degli stabilimenti di produzione degli alimenti (Cataldo *et al.*, 2007; Swaminathan *et al.*, 2007).

3. DIFFUSIONE DI LISTERIA SPP. E LISTERIA MONOCYTOGENES

Il genere *Listeria* comprende attualmente sei differenti specie: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. grayi*. I microrganismi di queste specie sono ampiamente distribuiti nell'ambiente, in particolare nel suolo, nei foraggi e nell'acqua. *Listeria* spp. in genere, e *L.m.* in particolare, possono essere presenti anche in numerose specie animali, selvatiche e domestiche, soprattutto pecore, capre, bovini, alpaca e molti uccelli. Vengono inoltre isolati frequentemente dagli alimenti e dagli ambienti di produzione, su superfici, a contatto e non, con gli alimenti (Maslow *et al.*, 1993; Pintado *et al.*, 2000; Delgado da Silva *et al.*, 2001; Wakak *et al.*, 2002; Chambel *et al.*, 2007; Conter *et al.*, 2007; Swaminathan *et al.*, 2007; Denny *et al.*, 2008; Lomonaco *et al.*, 2009). La sopravvivenza del microrganismo nell'ambiente sarebbe influenzata dall'umidità, dal tipo di terreno e dall'esposizione ai raggi solari.

La principale via di trasmissione, sia per gli esseri umani che per gli animali, è quella alimentare (alimenti o mangimi contaminati). Anche se è rara, l'infezione può essere trasmessa direttamente da animali infetti all'uomo, così come tra gli uomini.

4. LA LISTERIOSI

Nell'ambito del genere, soltanto *L. monocytogenes* e *L. ivanovii* sono ritenute patogene per gli animali e l'uomo. Tra le due, la più virulenta e la più frequentemente isolata da casi di malattia nell'uomo e negli animali risulta essere *L.m.*, responsabile di una patologia a carattere sporadico e andamento stagionale, che può presentarsi con quadri clinici differenti.

Dati europei e internazionali riportano che dei 13 sierotipi di *L.m.* conosciuti, sono responsabili del 95% delle infezioni umane i sierotipi 1/2a, 1/2b, 1/2c e 4b (Kathariou, 2002), con una netta prevalenza di que-

st'ultimo, soprattutto nei casi di meningoencefalite (il che potrebbe indicare che esso sia più virulento degli altri). I sierotipi 1/2a e 1/2b sono più spesso isolati nei casi di gastroenterite, caratterizzati da periodi di incubazione più brevi e da concentrazioni più elevate di *L.m.*, come riscontrato nei casi in cui è stata effettuata la ricerca quantitativa dall'alimento. Il lungo periodo di incubazione delle forme invasive, anche superiore a 30 giorni, è un fattore che ostacola le indagini epidemiologiche (Swaminathan *et al.*, 2007).

Nel documento "The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010" (EFSA, 2012), redatto congiuntamente dall'European Food Safety Authority (EFSA) e dall'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), sono stati raccolti ed esaminati i dati forniti dai 27 Paesi Membri. Da questo report emerge che nell'UE le zoonosi interessano ogni anno oltre 99.000 persone. Il numero dei casi di listeriosi è aumentato nel corso degli ultimi 5 anni e nel 2010 sono stati confermati 1.601 casi umani. L'attenzione nei riguardi di questa zoonosi è conseguente, non tanto al numero dei soggetti colpiti, quanto piuttosto alla gravità della malattia e all'elevato tasso di mortalità, che, sempre nel 2010, è stato del 17%. La malattia continua ad essere associata principalmente ad alcune fasce di popolazione, alla gravidanza e ad individui che soffrono di malattie che compromettono il sistema immunitario, quali il cancro e l'HIV, ma, a partire dal 2000, in parecchi paesi dell'UE è stato osservato un incremento di casi in individui di età superiore ai 65 anni (60% delle infezioni da *L.m.*) e negli infanti (6% delle infezioni). Dai dati bibliografici raccolti emerge che gli episodi infettivi legati a *L.m.* risultano prioritariamente causati da alimenti RTE a lunga vita commerciale (alimenti in cui *L.m.* trova le migliori condizioni di sviluppo), in particolare prodotti lattiero-caseari o carni. La malattia è stata anche riscontrata in seguito al consumo di prodotti della pesca conservati, come cozze affumicate e pesce affumicato a freddo (es. trota affumicata).

5. RILEVAMENTO DI *LISTERIA MONOCYTOGENES* NEGLI ALIMENTI

Le contaminazioni alimentari, evidenziano alcuni autori (Virgilio *et al.*, 2004), sono da collegare alla grande capacità di adattamento del microrganismo e probabilmente anche alla inadeguata applicazione di buone pratiche igieniche e di lavoro, nonché delle tecnologie che l'industria alimentare ha attualmente a disposizione per limitarne la presenza a livelli accettabili.

Gli alimenti in cui *L.m.* trova le migliori condizioni di sviluppo corrispondono a quelli maggiormente implicati in episodi di malattia nell'uomo. La presenza di *L.m.* è quindi rilevata principalmente in alcuni tipi di prodotti lattiero-caseari, in prodotti a base di carne pronti per essere consumati (*ready to eat* - RTE). Un terreno di crescita in cui *L.m.* è spesso presente e può crescere è rappresentato anche da alcune tipologie di prodotti della pesca conservati.

5.1 Prodotti lattiero-caseari

I prodotti lattiero caseari a maggior rischio sembrano essere il latte crudo, i prodotti a base di latte crudo, i formaggi molli e i formaggi freschi. Casi di positività al patogeno, tuttavia, sono stati riscontrati in formaggi prodotti a partire da latte pastorizzato, probabilmente per

fenomeni di ricontaminazione durante le fasi di produzione e manipolazioni successive alla pastorizzazione (Schuchat *et al.* 1992; Gombas DE *et al.*, 1994; Loncarevic S. *et al.*, 1995; Kozak J. *et al.* 1996; Norrung B., 2000; Pak S. *et al.*, 2002; Hof H., 2003; Gianfranceschi M. *et al.*, 2003; Sanaa M. *et al.*, 2004; Vitas Al. *et al.*, 2004).

Analizzando i casi di listeriosi verificatisi nell'ultimo ventennio in diversi paesi del mondo, sono stati identificati come diretti responsabili i formaggi molli e semimolli (Jensen, 1994; Bula *et al.*, 1995; Goulet *et al.*, 1995; Jacquet *et al.*, 1995; Bille, 1996), il formaggio di tipo "mexicano" (tipologia di formaggio molle), il latte pastorizzato (Van Collie *et al.*, 2004) ed i formaggi prodotti da latte crudo.

5.2 Prodotti carnei

L'analisi dei dati ottenuti da molti studi condotti in periodi e luoghi diversi rivela una diffusa contaminazione dei prodotti carni: nella maggior parte delle indagini le positività maggiori riguardano i prodotti carni cotti, la carne trita cruda, le preparazioni a base di carne da consumarsi previa cottura (hamburger di pollo e di suino, salsicce fresche) e gli insaccati freschi (salsicce e salami da griglia), mentre coinvolgono in minor misura i prodotti crudi stagionati.

Le tipologie di prodotti carni maggiormente coinvolte negli episodi di listeriosi umana risultano essere *hot dog*, prodotti a base di carne spalmabile (Schlech W.F., 2000), lingua di maiale (Jacquet *et al.*, 1995; Dorozynski, 2000), patè di carne (Ryser, 1989; McLaughlin *et al.*, 1991), pollo crudo (Elliot E.L. *et al.*, 2000), carne turca "*deli*" (CDC, 2000; CDC, 2002) e tacchino precotto e affettato (Frye D.M., 2002).

5.3 Prodotti ittici

I prodotti della pesca conservati RTE (insalata di pesce, carne di granchio cotta, gamberi, salmone e altri pesci affumicati a caldo, salmone e altri pesci affumicati a freddo) sembrano più a rischio per *L.m.* (Jinneman *et al.*, 1999), anche se, raramente, i livelli di contaminazione superano le 100 ufc/g.

Molti lavori indicano che *L.m.* può crescere in salmone affumicato a freddo, confezionato sotto vuoto e conservato a temperature di refrigerazione (4-5°C). Alcuni trials (su confezioni inoculate artificialmente) riportano diversi incrementi logaritmici in 3-4 settimane, mentre altri studi riferiscono crescita più lente oppure crescita assente (Gram, 2004).

Per quanto riguarda i casi umani di listeriosi, la bibliografia riporta come più rischioso il consumo di molluschi e pesce crudo (Lennon *et al.*, 1984), gamberi (Riedo *et al.*, 1994), pesce (Facinelli *et al.*, 1989), merluzzo affumicato (Rocourt, 1991), trota affumicata a freddo (Ericsson *et al.*, 1997); cozze affumicate (Misrachi *et al.*, 1991; Mitchell, 1991; Brett *et al.*, 1998).

5.4 I risultati dei controlli effettuati in Europa, Italia e Piemonte

Tra il 2010 e il 2011 nell'Unione Europea (UE) è stata condotta un'indagine sulla presenza di *Listeria monocytogenes* con l'obiettivo di stimarne la prevalenza in UE in alcuni tipi di alimenti *ready-to-eat* durante la fase di commercializzazione. In 3.632 punti vendita di 26 Stati membri e un paese non appartenente all'UE, sono stati campionati in totale 3.053 lotti di pesce confezionato (non congelato) affumicato a caldo o a freddo op-

TABELLA 1
Campioni di alimenti pronti al consumo analizzati per *L. monocytogenes* nel 2011
presso i laboratori dell'I.Z.S. PLVA secondo il reg. CE 2073/2005 e ss.mm.ii. Regione Piemonte

Tipo campione	N. campioni analizzati	N. campioni non conformi	% campioni non conformi
Formaggi e latticini	459	11	2,4
Burro	18	0	0,0
Gelati	16	0	0,0
Carne da consumo cruda	49	8	16,3
Preparazioni di carne Ready To Eat	188	16	8,5
Preparazioni di pesce Ready To Eat	30	0	0,0
Altri alimenti Ready To Eat	46	0	0,0
Totale complessivo	806	35	4,3

Fonte: Osservatorio epidemiologico Regionale per la Prevenzione Veterinaria - I.Z.S. PLVA

pure marinato, 3.530 prodotti a base di carne confezionati trattati termicamente e 3.452 formaggi a pasta molle o semi-molle. I campioni di pesce sono stati analizzati sia al momento dell'arrivo in laboratorio che al termine della *shelf-life*, mentre i prodotti a base di carne e i campioni di formaggio sono stati analizzati solo al termine della *shelf-life*. Su tutti i 13.088 campioni è stata effettuata sia la ricerca che il conteggio di *L.m.*

La prevalenza in tutta l'UE nei campioni di pesce al momento del prelievo è stata del 10,4% e al termine della *shelf-life* è stata del 10,3%, mentre per i campioni di carne e formaggio alla fine della *shelf-life* le prevalenze sono state, rispettivamente, del 2,07% e del 0,47%.

La percentuale di campioni con un livello di *L.m.* superiore a 100 ufc/g al termine della *shelf-life* è stata del 1,7%, 0,43% e 0,06%, rispettivamente, per i campioni di pesce, carne e formaggio, mentre per i pesci al momento del campionamento è stata dell'1%.

Tra settembre 2011 e maggio 2012 in tutte le Regioni italiane è stato effettuato un piano di campionamento integrativo per valutare la prevalenza e i livelli di contaminazione di *L.m.* in talune categorie di prodotti pronti per il consumo a livello della vendita al dettaglio. Sono stati prelevati esclusivamente prodotti RTE, confezionati sottovuoto o in atmosfera protettiva, in particolare formaggi a pasta molle o semi molle, prodotti a base di carne e salmone affumicato. Il valore di prevalenza di *L.m.* nei prodotti RTE a base di carne è stato del 2% (2,33% in Piemonte), nei formaggi è stato del 1% (2,24% in Piemonte), mentre nel salmone affumicato è stato del 20,3% (8,75% in Piemonte) con il 3,3% dei campioni con valori superiori alle 100 ufc/g (tutti i campioni sono risultati inferiori a 100 ufc/g in Piemonte).

Nel 2011 i risultati delle analisi, effettuate dal Laboratorio Controllo Alimenti dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, della Liguria e della Valle d'Aosta, su campioni di alimenti prelevati dai Servizi Veterinari e Medici delle ASL piemontesi nel corso del 2011, hanno confermato i dati della bibliografia solo per quanto riguarda le carni ed i formaggi (Tabella 1).

6. IL QUADRO NORMATIVO

La diffusione pressoché ubiquitaria del batterio, collegata però ad un ridotto numero di casi di malattia nell'uomo, ha portato, a seguito di approfonditi studi che hanno tenuto in considerazione i costi da sostenere per arrivare a garantire l'assenza di *L.m.* nelle filiere ali-

mentari rispetto ai benefici per la salute pubblica, ad individuare un valore soglia di pericolosità.

Il Comitato Scientifico delle Misure Veterinarie in relazione alla Sanità Pubblica (CSMVSP) ha emesso un parere su *L.m.* in cui ha raccomandato di stabilire come obiettivo una concentrazione di *L.m.* negli alimenti inferiore a 100 ufc/g. Il Comitato scientifico per l'alimentazione si è dichiarato d'accordo con queste raccomandazioni nel parere del 22 giugno 2000. Le indicazioni scientifiche sono diventate norma di riferimento per tutti i Paesi della UE, con l'emanazione da parte della Commissione Europea del regolamento CE del 15 novembre 2005 n. 2073 s.m.i. sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari.

Il regolamento (CE) n. 2073/2005 s.m.i. ha l'obiettivo di garantire alimenti sicuri per il consumatore attraverso il controllo di determinati criteri microbiologici.

Tali criteri si suddividono in due categorie:

- criteri di sicurezza alimentare, che definiscono l'accettabilità di un prodotto alimentare o di una partita di prodotti e sono applicabili ai prodotti immessi sul mercato. Se un prodotto alimentare non rispetta i requisiti microbiologici stabiliti, la partita non potrà essere considerata idonea al consumo umano e si dovrà procedere al ritiro o al richiamo del prodotto, secondo quanto stabilito dal regolamento (CE) n. 178/2002 s.m.i.;
- criteri di igiene del processo, che sono parametri (valori di carica microbica specifica o generica) che servono all'OSA per definire i propri limiti critici e stabilire se il processo funziona in modo igienicamente accettabile oppure no. Questi criteri non si applicano solitamente ai prodotti finiti immessi sul mercato e fissano soltanto valori indicativi da tenere in considerazione per la valutazione del processo, superati i quali si rende necessario applicare le misure correttive, per mantenere l'igiene di produzione.

Sebbene i criteri microbiologici siano concepiti per essere utilizzati dagli operatori alimentari nel contesto delle pratiche di gestione della sicurezza degli alimenti da essi prodotti, essi vengono applicati anche ai campioni prelevati per i controlli ufficiali.

Particolare importanza è rivestita dalle indicazioni contenute nell'Allegato I del regolamento (CE) n. 2073/2005 s.m.i. (frequenza e modalità di campionamento, metodi di analisi, limiti di accettabilità, azioni successive all'ottenimento di risultati non conformi). L'articolo 5, comma

Categoria alimentare	Microorganismi/loro tossine, metaboliti	Piano di campionamento (°)		Limiti (°)		Metodo d'analisi di riferimento (°)	Fase a cui si applica il criterio
		n	c	m	M		
1.1. Alimenti pronti per lattanti e alimenti pronti a fini medici speciali (°)	<i>Listeria monocytogenes</i>	10	0	Assente in 25 g		EN/ISO 11290-1	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità
1.2. Alimenti pronti che costituiscono terreno favorevole alla crescita di <i>Listeria monocytogenes</i> diversi da quelli destinati ai lattanti e a fini medici speciali	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g (°)		EN/ISO 11290-2 (°)	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità
		5	0	Assente in 25 g (°)		EN/ISO 11290-1.	Prima che gli alimenti non siano più sotto il controllo diretto dell'operatore del settore alimentare che li produce
1.3. Alimenti pronti che non costituiscono terreno favorevole alla crescita di <i>Listeria monocytogenes</i> , diversi da quelli destinati ai lattanti e a fini medici speciali (°) (°)	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g		EN/ISO 11290-2 (°)	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità

4 del regolamento (CE) 2073/2005 s.m.i. stabilisce inoltre che: "Quando lo scopo delle prove è di valutare in modo specifico l'accettabilità di una determinata partita di prodotti alimentari o di un processo, la condizione minima richiesta è il rispetto dei piani di campionamento di cui all'Allegato I".

Listeria monocytogenes è trattata nel capitolo 1.

La ricerca di *L.m.* secondo i "criteri di sicurezza" è prevista solo nelle seguenti **categorie alimentari**:

- 1.1 Alimenti pronti per lattanti e alimenti pronti a fini medici speciali;
- 1.2 Alimenti pronti che costituiscono terreno favorevole alla crescita di *L.m.*, diversi da quelli destinati ai lattanti e a fini medici speciali;
- 1.3 Alimenti pronti che non costituiscono terreno favorevole alla crescita di *L.m.*, diversi da quelli destinati ai lattanti e a fini medici speciali.

Ai fini del citato regolamento s'intende per:

- «alimenti pronti: i prodotti alimentari destinati dal produttore o dal fabbricante al consumo umano diretto, senza che sia necessaria la cottura o altro trattamento per eliminare o ridurre a un livello accettabile i microrganismi presenti;
- alimenti per lattanti: i prodotti alimentari destinati specificamente ai lattanti, come definiti dalla direttiva 91/321/CEE della Commissione;
- alimenti destinati a fini medici speciali: gli alimenti dietetici destinati a fini medici speciali, come definiti dalla direttiva 1999/21/CE della Commissione».

I limiti di accettabilità sono differenti a seconda che si tratti di:

- "alimenti pronti che costituiscono un terreno favorevole alla crescita di *Listeria monocytogenes*" tutti i prodotti alimentari con

- periodo di conservabilità superiore o uguale a 5 giorni e con
- pH >4,4 oppure
- Aw >0,92 oppure
- pH >5,0 in associazione ad Aw >0,94,

come indicato nella nota n. 8, Capitolo 1 dell'Allegato I al regolamento (CE) 2073/2005 s.m.i., oppure di

- "alimenti pronti che NON costituiscono terreno favorevole alla crescita di *Listeria monocytogenes*" i prodotti con

- periodo di conservabilità inferiore a 5 giorni oppure con
- pH ≤4,4 oppure

- Aw ≤0,92 oppure
- pH ≤5,0 in associazione ad Aw ≤0,94.

Anche altri tipi di prodotti possono appartenere a questa categoria, purché vi sia una giustificazione scientifica, come indicato nella nota n. 8, Capitolo 1 dell'Allegato I al regolamento (CE) n. 2073/2005 s.m.i.

Per ulteriori approfondimenti si rimanda all'Albero delle decisioni riportato al fondo dell'articolo.

Il criterio si applica esclusivamente ai prodotti immessi sul mercato durante il loro **periodo di conservabilità**.

Per "periodo di conservabilità" si intende «il periodo che corrisponde al periodo che precede il termine minimo di conservazione o la data di scadenza, come definiti rispettivamente agli articoli 9 e 10 della direttiva 2000/13/CE».

Vengono inoltre individuati, nella nota 4 al fondo del Capitolo 1 dell'Allegato I al regolamento (CE) 2073/2005 e s.m.i, una serie di **prodotti alimentari ai quali il criterio di sicurezza *L.m.* non si applica** in quanto, pur essendo pronti al consumo senza ulteriore cottura, hanno caratteristiche tali per cui si può ragionevolmente escluderne un inquinamento da parte del batterio:

«Prove regolari relative a questo criterio non sono richieste in circostanze normali per i seguenti alimenti pronti:

- che sono stati sottoposti a trattamento termico o ad altra trasformazione avente come effetto l'eliminazione di *L.m.*, quando non è possibile una ricontaminazione dopo tali trattamenti (ad esempio, i prodotti sottoposti a trattamento termico al momento del confezionamento finale),
- frutta e ortaggi freschi, non tagliati e non trasformati, tranne i semi germogliati,
- pane, biscotti e prodotti analoghi,
- acqua, bibite, birra, sidro, vino, bevande spiritose e prodotti analoghi imbottigliati o confezionati,
- zucchero, miele e dolciumi, compresi i prodotti a base di cacao e cioccolato,
- molluschi bivalvi vivi,
- sale alimentare».

Nei casi in cui non siano specificate le frequenze di campionamento e di analisi, è compito dell'OSA stabilirle, sulla base del proprio sistema di prevenzione dei pericoli e gestione dei rischi (sistema di autocontrollo), e darne motivazione relativamente alla loro idoneità e appropriatezza in funzione della garanzia di sicurezza prevista dalle norme vigenti.

I piani di campionamento condotti ai sensi del regolamento (CE) n. 2073/2005 s.m.i. devono essere inseriti nelle procedure di validazione e di verifica del piano di

autocontrollo delle imprese alimentari e la frequenza dei campionamenti, laddove non prevista dall'Allegato I, deve essere definita nell'ambito delle procedure stesse. Con l'eccezione dei casi in cui l'OSA debba valutare l'accettabilità di una partita di prodotti e il dosaggio dell'istamina in alcuni prodotti della pesca, il numero delle unità campionarie può essere ridotto qualora l'Operatore possa documentare l'applicazione di procedure efficaci basate sui principi HACCP, conformemente all'art. 5, comma 3, del regolamento (CE) n. 2073/2005 s.m.i. L'articolo 5, comma 2 del regolamento (CE) n. 2073/2005 richiede altresì che «*Gli operatori del settore alimentare che producono alimenti pronti, i quali possono sviluppare L.m. e presentare pertanto un rischio per la salute pubblica, procedono nell'ambito del loro piano di campionamento al prelievo di campioni dalle aree di lavorazione e dalle attrezzature per la ricerca di L.m.*».

Gli OSA devono altresì disporre di procedure per la gestione dei campioni dopo il prelievo e per l'invio al laboratorio di analisi.

I risultati di tutti i campioni effettuati, ai sensi dell'art. 9 del regolamento (CE) n. 2073/2005 s.m.i., devono essere, sempre a cura dell'OSA, valutati mediante una "analisi del trend" al fine di adottare adeguati provvedimenti nel caso si osservi una tendenza verso risultati insoddisfacenti.

Il riscontro del mancato rispetto dei criteri di cui all'Allegato I Capitolo 1 del regolamento (CE) n. 2073/2005 s.m.i. obbliga l'OSA al ritiro o al richiamo del prodotto o della partita di prodotti alimentari che non siano più sotto il suo controllo (art. 7, comma 2 del regolamento (CE) n. 2073/2005 s.m.i. e art. 14 e 19 del regolamento (CE) n. 178/2002 s.m.i.). L'OSA dovrà procedere:

- a) alla individuazione e alla rimozione delle cause dei risultati insoddisfacenti;
- b) alla rivalutazione delle misure di prevenzione dei pericoli e di gestione dei rischi (procedure GMP, GHP, SOP, HACCP) e alla eventuale loro modifica;
- c) alla verifica che il processo di produzione sia nuovamente sotto il suo controllo e che i prodotti siano conformi ai criteri stabiliti dalle norme comunitarie o nazionali ancora vigenti.

Il regolamento (CE) n. 2073/2005 s.m.i. non contempla per l'OSA alcun obbligo di valutare la presenza di L.m. in alimenti "non pronti al consumo" e pertanto, in sede di Controllo ufficiale, è opportuno limitare la ricerca di L.m. agli alimenti che non sono palesemente destinati a cottura o che non recano in etichetta un'informazione relativa a tale obbligo.

Per i prodotti da consumarsi previa cottura si dovrebbero applicare invece i criteri previsti dall'Ordinanza Ministeriale 07/12/93 (che aggiunge il punto V all'Ordinanza del Ministero della Sanità del 11.10.1978). Essa prevede la determinazione di L.m. in «alimenti sfusi o preconfezionati destinati per loro natura ad essere consumati previa cottura o che rechino sulla confezione la dizione "da consumarsi previa cottura" (esclusi il latte e i derivati del latte)». Le categorie specifiche individuate per la ricerca quantitativa di L.m., tramite la metodica dell'MPN, sono: "Alimenti crudi non sottoposti a trattamento di riscaldamento", "Alimenti congelati o surgelati" e "Alimenti precotti o pastorizzati". Il prelievo deve essere effettuato sui prodotti finiti pronti per la vendita in attesa di essere commercializzati e ancora sotto il controllo diretto dell'OSA che li produce. Tuttavia è al vaglio di un gruppo di lavoro ministeriale l'eliminazione di tale

criterio in quanto attualmente è ritenuto di scarso significato ai fini della tutela della salute del consumatore poiché una normale cottura è in grado di inattivare il microrganismo. Inoltre, l'esperienza riferita da molti I.ZZ.SS. indica che spesso l'O.M. non viene correttamente applicata, in quanto il prelievo viene effettuato a livello della distribuzione e non a livello di produzione. Questo aspetto genera spesso contestazioni da parte degli OSA nei riguardi dell'Autorità Competente.

7. INDICAZIONI OPERATIVE PER IL CONTROLLO UFFICIALE

Tra gli strumenti del controllo ufficiale vi è il "prelievo di campioni". Nonostante la Commissione Europea, mediante il regolamento (CE) n. 882/2004 s.m.i., si fosse proposta di armonizzare il sistema dei controlli sulla sicurezza alimentare tra i diversi Paesi europei, permangono a tutt'oggi grandi differenze. In Italia la situazione risulta altrettanto complessa in quanto la programmazione dei controlli è demandata alla singole Regioni e Province Autonome, con conseguenti peculiarità legate spesso a fattori locali.

Le principali differenze interpretative portano ai seguenti modelli:

- il controllo ufficiale si limita a verificare che l'OSA effettui correttamente i campioni previsti e che gestisca i risultati orientando le risorse disponibili ai controlli per verificare il rispetto del criterio di sicurezza alimentare di 100 ufc per L.m. negli alimenti in commercio;
- il controllo ufficiale verifica che l'OSA effettui correttamente i campioni previsti e che gestisca i risultati effettuando, oltre ai controlli sugli alimenti in commercio, a sua volta un certo numero di campioni ufficiali per la valutazione del rispetto dei criteri di sicurezza alimentare di cui al Capitolo 1 dell'Allegato I del regolamento (CE) n. 2073/2005 s.m.i. o di altri criteri fissati da norme comunitarie e da norme nazionali di settore ancora vigenti.

Mentre gran parte dei Paesi Europei opera secondo il primo modello, limitando i campionamenti ufficiali ai casi problema, in Italia ed in particolare in Piemonte si è scelto il secondo modello.

Vengono pertanto definiti annualmente dei piani di sorveglianza per la verifica dei parametri stabiliti dal regolamento CE n. 2073/2005 s.m.i. che prevedono un certo numero di campioni prelevati nell'ambito del controllo ufficiale ed inviati ai Laboratori degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IZS) territorialmente competenti per l'esecuzione delle analisi.

I piani di sorveglianza prevedono in genere:

- il prelievo di campioni ufficiali presso aziende sotto il controllo dell'autorità competente locale per confermare i risultati dell'autocontrollo dell'OSA;
- il prelievo di campioni ufficiali presso la rete di commercializzazione per verificare il rispetto dei criteri di sicurezza dei prodotti posti in vendita.

L'approccio quali-quantitativo legato al tipo di alimento adottato per *Listeria monocytogenes* ha talvolta creato difficoltà nel valutare il risultato analitico e nel definire i provvedimenti, preventivi e sanzionatori, da adottare.

Le modalità operative proposte sono riportate di seguito, nei punti a, b e c.

In caso di positività, l'Autorità Competente provvederà ad effettuare le opportune verifiche e richieste all'OSA. In caso di prodotto prelevato da un OSA residente sul territorio dell'ASL o del ricevimento di una segnalazio-

a) Analisi effettuate dall'Autorità competente sui prodotti finiti pronti per la vendita in attesa di essere commercializzati e ancora sotto il controllo diretto dell'OSA che li produce

Valutazione dell'Autorità Competente

Alimenti sfusi o preconfezionati destinati per loro natura ad essere consumati previa cottura o che rechino sulla confezione la dizione «da consumarsi previa cottura» (esclusi il latte e i derivati del latte).

Alimento	Reg. CE 2073/05	O.M. 07/12/93	N° u.c.	Limiti	Misure preventive/sanzionatorie
Alimenti crudi non sottoposti a trattamento di riscaldamento	No	Si	3	≤ 11 ufc/g in 1 u.c. ≤ 110 ufc/g in 2 u.c.	Ritiro Notizia di reato
Alimenti congelati o surgelati	No	Si	5	≤ 11 ufc/g in 2 u.c. ≤ 110 ufc/g in 3 u.c.	Ritiro Notizia di reato
Alimenti precotti o pastorizzati	No	Si	5	≤ 11 ufc/g in 4 u.c. ≤ 110 ufc/g in 1 u.c.	Ritiro Notizia di reato

Valutazione dell'Autorità Competente

Alimenti che non rientrano nelle esclusioni della nota 4 del reg. CE n. 2073/05, confezionati e RTE di cui l'Autorità competente è in grado di conoscere le caratteristiche per valutare l'attuazione dei controlli analitici da parte dell'OSA.

Alimento	Reg. CE 2073/05	O.M. 07/12/93	N° u.c.	Limiti	Misure preventive/sanzionatorie
Consente la crescita – periodo di conservabilità ≥ 5 giorni e – con pH > 4,4 oppure – Aw > 0,92 oppure – con pH > 5,0 in associazione ad Aw > 0,94 e l'OSA è in grado di dimostrare*, con soddisfazione dell'A.C., che il prodotto non supererà il limite di 100 ufc/g durante il periodo di conservabilità.	Si	No	5	≤ 100 ufc/g in 5 u.c.	Se L.m. ≤ 100 ufc/g in 5 u.c.: Nessuna misura
					Se L.m. > 100 ufc/g anche solo in 1 u.c.: Ritiro Notizia di reato
Consente la crescita – periodo di conservabilità ≥ 5 giorni e – con pH > 4,4 oppure – Aw > 0,92 oppure – con pH > 5,0 in associazione ad Aw > 0,94 e l'OSA NON è in grado di dimostrare*, con soddisfazione dell'A.C., che il prodotto non supererà il limite di 100 ufc/g durante il periodo di conservabilità	Si	No	5	Assente/25 g in 5 u.c.	Se L.m. è assente in 5 u.c.: Nessuna misura
					Se L.m. è presente, ma ≤ 100 ufc/g in 5 u.c.: Ritiro
					Se L.m. > 100 ufc/g anche solo in 1 u.c.: Ritiro Notizia di reato
Non consente la crescita – periodo di conservabilità < 5 giorni oppure – con pH ≤ 4,4 oppure – Aw ≤ 0,92 oppure – con pH ≤ 5,0 in associazione ad Aw ≤ 0,94	Si	No	5	≤ 100 ufc/g in 5 u.c.	Se L.m. ≤ 100 ufc/g in 5 u.c.: Nessuna misura
					Se L.m. > 100 ufc/g anche solo in 1 u.c.: Ritiro Notizia di reato

*Studi condotti dall'OSA:

- dimostrazione che non esiste rischio di contaminazione da L.m. (esiti di analisi nelle varie fasi di produzione e sul prodotto finito per la validazione del processo); oppure
- caratteristiche fisico-chimiche del prodotto, quali pH, Aw, contenuto salino, concentrazione di conservanti e tipo di sistema di confezionamento, validate mediante analisi (anche provenienti da clienti e autorità pubbliche) che dimostrano il mantenimento durante il periodo di conservabilità di un livello ≤ 100 ufc/g; oppure
- consultazione della letteratura scientifica disponibile e dei dati di ricerca sulle caratteristiche di sviluppo e di sopravvivenza dei microrganismi in questione; oppure
- modelli matematici predittivi stabiliti per il prodotto alimentare in esame, utilizzando fattori critici di sviluppo o di sopravvivenza per i microrganismi in questione presenti nel prodotto; oppure
- prove per determinare la capacità dei microrganismi in questione, debitamente inoculati, di svilupparsi o sopravvivere nel prodotto in diverse condizioni di conservazione ragionevolmente prevedibili; oppure
- studi per valutare lo sviluppo o la sopravvivenza dei microrganismi in questione che possono essere presenti nel prodotto durante il periodo di conservabilità, in condizioni ragionevolmente prevedibili di distribuzione, conservazione e uso.

ne di positività da parte di un'altra ASL o ente di controllo, l'Autorità Competente dovrà assicurarsi che l'operatore individui le cause della contaminazione e adotti gli opportuni accorgimenti per ridurre i rischi per il consumatore rispetto al prodotto eventualmente già commercializzato e rimuovere le cause al fine di evitare il ripetersi del problema. In questa fase è di fondamentale importanza concentrare l'attenzione sulle effettive modalità operative e sui documenti di registrazione. Occorre tener conto a questo proposito che gli obblighi per l'OSA stabiliti dal regolamento CE n. 852/2004 prevedono la tenuta di una documentazione commisurata alle dimensioni ed alla tipologia dell'impresa.

È inoltre importante tener presente che l'HACCP e le Buone Prassi di Igiene adottate dall'OSA, anche quando applicati nel migliore dei modi, sono in grado di ridurre i rischi per il consumatore ma non di eliminarli (non esiste il rischio "zero", ma il cosiddetto rischio accettabile), tant'è che la legislazione europea ha stabilito precisi obblighi che prevedono la presenza di procedure di rintracciabilità mediante le quali l'OSA deve dimostrare di essere in grado di ritirare/ricchiama eventuali prodotti non conformi. Pertanto, per la valutazione delle responsabilità dell'operatore, l'Autorità Competente dovrebbe focalizzare l'attenzione sulla ricerca delle effettive carenze che possono aver causato l'incidente.

b) Analisi effettuate dall'Autorità competente sui prodotti finiti presenti sul mercato

Valutazione dell'Autorità Competente

Alimenti preconfezionati all'origine e RTE di cui l'autorità competente non conosce le caratteristiche del prodotto e per i quali può essere utile richiedere la valutazione di pH ed Aw da parte del Laboratorio di analisi. Il limite di sicurezza stabilito dal regolamento per gli alimenti in commercio è ≤ 100 ufc/g di *Listeria monocytogenes* in 5 u.c.

Alimento	Reg. CE 2073/05	O.M. 07/12/93	N° u.c.	Limiti	Misure preventive/sanzionatorie
Consente la crescita - periodo di conservabilità ≥ 5 giorni e - con pH $> 4,4$ oppure - Aw $> 0,92$ oppure - con pH $> 5,0$ in associazione ad Aw $> 0,94$	Si	No	5	≤ 100 ufc/g in 5 u.c.	Se L.m. < 10 ufc/g in 5 u.c.: Nessuna misura
					Se L.m. ha valore compreso tra 10 e 100 ufc/g in 5 u.c.: Segnalazione all'OSA ed all'ASL di competenza del risultato ottenuto. Sarà responsabilità dell'OSA, sotto il controllo dell'Autorità Competente per territorio, decidere le misure da adottare in relazione alla valutazione del rischio art. 14 reg. CE n. 178/2002*
Non consente la crescita - periodo di conservabilità < 5 giorni oppure - con pH $\leq 4,4$ oppure - Aw $\leq 0,92$ oppure - con pH $\leq 5,0$ in associazione ad Aw $\leq 0,94$	Si	No	5	≤ 100 ufc/g in 5 u.c.	Se L.m. > 100 ufc/g anche solo in 1 u.c.: Ritiro/Richiamo Notizia di reato

*In questo caso, trattandosi di un prodotto preconfezionato all'origine, il detentore dovrebbe essere escluso da responsabilità, ai sensi dell'art. 19 della L.n. 283/1962: "Le sanzioni previste dalla presente legge non si applicano al commerciante che vende, pone in vendita o comunque distribuisce per il consumo prodotti in confezioni originali, qualora la non corrispondenza alle prescrizioni della legge stessa riguardi i requisiti intrinseci o la composizione dei prodotti o le condizioni interne dei recipienti e sempre che il commerciante non sia a conoscenza della violazione o la confezione originale non presenti segni di alterazione".

Il produttore dovrebbe essere in grado di fornire uno o più dei seguenti elementi:

- dimostrazione che non esiste rischio di contaminazione da L.m. (esiti di analisi nelle varie fasi di produzione e sul prodotto finito per la validazione del processo); oppure
- caratteristiche fisico-chimiche del prodotto, quali pH, Aw, contenuto salino, concentrazione di conservanti e tipo di sistema di confezionamento, validate mediante analisi (anche provenienti da clienti e autorità pubbliche) che dimostrano il mantenimento durante il periodo di conservabilità di un livello ≤ 100 ufc/g; oppure
- consultazione della letteratura scientifica disponibile e dei dati di ricerca sulle caratteristiche di sviluppo e di sopravvivenza dei microrganismi in questione; oppure
- modelli matematici predittivi stabiliti per il prodotto alimentare in esame, utilizzando fattori critici di sviluppo o di sopravvivenza per i microrganismi in questione presenti nel prodotto; oppure
- prove per determinare la capacità dei microrganismi in questione, debitamente inoculati, di svilupparsi o sopravvivere nel prodotto in diverse condizioni di conservazione ragionevolmente prevedibili; oppure
- studi per valutare lo sviluppo o la sopravvivenza dei microrganismi in questione che possono essere presenti nel prodotto durante il periodo di conservabilità, in condizioni ragionevolmente prevedibili di distribuzione, conservazione e uso.

Nel caso in cui il produttore sia consapevole che il prodotto consente la crescita e che i livelli riscontrati possono far ipotizzare un superamento del limite di sicurezza prima della scadenza del prodotto, dovrà provvedere al ritiro/richiamo. L'autorità competente per territorio valuterà le attività dell'OSA anche ai fini di eventuali procedimenti sanzionatori.

c) Analisi effettuate dall'Autorità competente su alimenti prodotti presso il punto vendita

Nell'ambito dei controlli presso la rete di commercializzazione, oltre alla presenza di prodotti pre-confezionati all'origine, si riscontrano spesso prodotti alimentari realizzati presso il punto vendita. Esistono 2 tipologie di alimenti: ceduti al consumatore a libero servizio, preincartati, oppure con vendita assistita, sfusi.

Valutazione dell'Autorità Competente

Alimenti sfusi o pre-incartati destinati per loro natura ad essere consumati previa cottura o che rechino sul pre-incarto o su cartelli informativi la dizione «da consumarsi previa cottura» (esclusi il latte e i derivati del latte).

Alimento	Reg. CE 2073/05	O.M. 07/12/93	N° u.c.	Limiti	Misure preventive/sanzionatorie
Alimenti crudi non sottoposti a trattamento di riscaldamento	No	Si	3	≤ 11 ufc/g in 1 u.c. ≤ 110 ufc/g in 2 u.c.	Ritiro/ricambio Notizia di reato
Alimenti congelati o surgelati	No	Si	5	≤ 11 ufc/g in 2 u.c. ≤ 110 ufc/g in 3 u.c.	Ritiro/ricambio Notizia di reato
Alimenti precotti o pastorizzati	No	Si	5	≤ 11 ufc/g in 4 u.c. ≤ 110 ufc/g in 1 u.c.	Ritiro/ricambio Notizia di reato

Valutazione dell'Autorità Competente

Alimenti sfusi o pre-incartati per i quali non siano disponibili informazioni sul tipo di impiego da parte del consumatore. In questo caso le informazioni dovranno essere raccolte dall'Autorità Competente prima del prelievo per essere riportate sul verbale di campionamento e dovranno riguardare:

- le caratteristiche del prodotto (fresco/stagionato) verificando ad esempio la disponibilità di una data di produzione sulle confezioni originali o sul DDT del produttore;
- la durata prevista: per il pre-incarto non è previsto l'obbligo di indicare la data di scadenza. Occorrerà pertanto verificare eventuali indicazioni previste dal piano di autocontrollo o acquisire le dichiarazioni degli addetti presenti al momento del prelievo che saranno riportate sul verbale di prelievo;
- la destinazione d'uso: in caso di vendita assistita sarà necessario acquisire la dichiarazione degli addetti al servizio da riportare sul verbale di prelievo;
- la disponibilità di dati in grado di dimostrare*, con soddisfazione dell'A.C., che il prodotto non supererà il limite di 100 ufc/g durante il periodo di conservabilità;
- la Richiesta per la determinazione di pH e Aw al laboratorio analisi.

Sulla base delle informazioni raccolte potrà essere definito il tipo di campionamento da effettuare e la successiva interpretazione dei risultati così come indicato al punto b).

N.B. Per la ricerca di L.m. durante la vita commerciale dei prodotti alimentari, si segnala che esistono delle criticità sia utilizzando quale riferimento il regolamento CE n. 2073/2005 in quanto lo stesso stabilisce che il prodotto deve essere prelevato nel corso della sua vita commerciale, concetto difficile da trasferire ad un prodotto sfuso che in genere è altamente deperibile e non riporta indicazioni, sia per quanto riguarda l'OM 07/12/93 la cui applicazione è espressamente destinata ai prodotti ancora sotto il controllo del produttore (ad es. anche il laboratorio del supermercato che prepari in proprio preparazioni o prodotti alimentari).

Nel caso in cui il produttore, mediante un processo di valutazione del rischio, sia consapevole che il prodotto consente la crescita o che non sia in grado di dimostrare che l'alimento non consente la crescita e che pertanto i livelli riscontrati possano far ipotizzare un superamento del limite di sicurezza di 100 ufc/g di *Listeria monocytogenes*, prima della scadenza del prodotto, dovrà provvedere al ritiro/ricambio.

L'autorità competente per territorio è chiamata a valutare le decisioni dell'OSA, imponendo eventuali misure che si rendano necessarie, anche ai fini di eventuali procedimenti sanzionatori.

Le responsabilità rispetto ad illeciti amministrativi o penali, in presenza di alimenti preconfezionati, dovrebbero, alla luce dell'articolo 19 della Legge 283/1962, essere verificate dall'Autorità Competente ove risiede lo stabilimento di produzione.

8. INDICAZIONI DA FORNIRE ALL'AUTORITÀ GIUDIZIARIA IN CASO DI NON CONFORMITÀ

Tenuto conto della complessità del quadro normativo, risulta di estrema importanza che l'Autorità Competente in presenza di non conformità fornisca all'Autorità Giudiziaria tutte le informazioni utili alle fasi successive del procedimento. In particolare dovranno essere indicati nelle annotazioni allegate alla Notizia di reato:

- le caratteristiche dell'alimento: il pH e l'Aw, desunti dal rapporto di prova del laboratorio di controllo ufficiale oppure da documenti del produttore oppure ancora su base bibliografica; tali dati consentono, congiuntamente con la data di scadenza od il tempo minimo di conservazione una oggettiva classificazione del prodotto;
- le indicazioni presenti in etichetta, su cartelli esposti nel punto vendita oppure le dichiarazioni degli addetti al servizio sulla destinazione d'uso e sulla conservabilità presso il punto vendita in caso di pre-incarto o vendita assistita;
- i dati eventualmente disponibili presso il produttore (esiti di campioni precedenti, altri campioni ufficiali, ecc) comprese valutazioni presenti nel piano HACCP inerenti la possibilità di sviluppo e crescita di L.m. o prove di shelf-life o challenge test, forniti dal produttore o dall'importatore su richiesta ufficiale da parte dell'Autorità Competente;
- un giudizio finale da parte dell'Autorità Competente sul limite applicabile e sulle motivazioni (per es. L'alimento per le sue caratteristiche, data di scadenza a 30 giorni, pH=6,2 e Aw=0,97, rientra tra quelli che consentono la crescita ed il produttore non ha prodotto, a seguito di richiesta prot. n. xxx del gg/mm/aa, alcuna documentazione in grado di dimostrare che il numero di microrganismi alla fine della vita commerciale sia inferiore a 100 ufc/g);

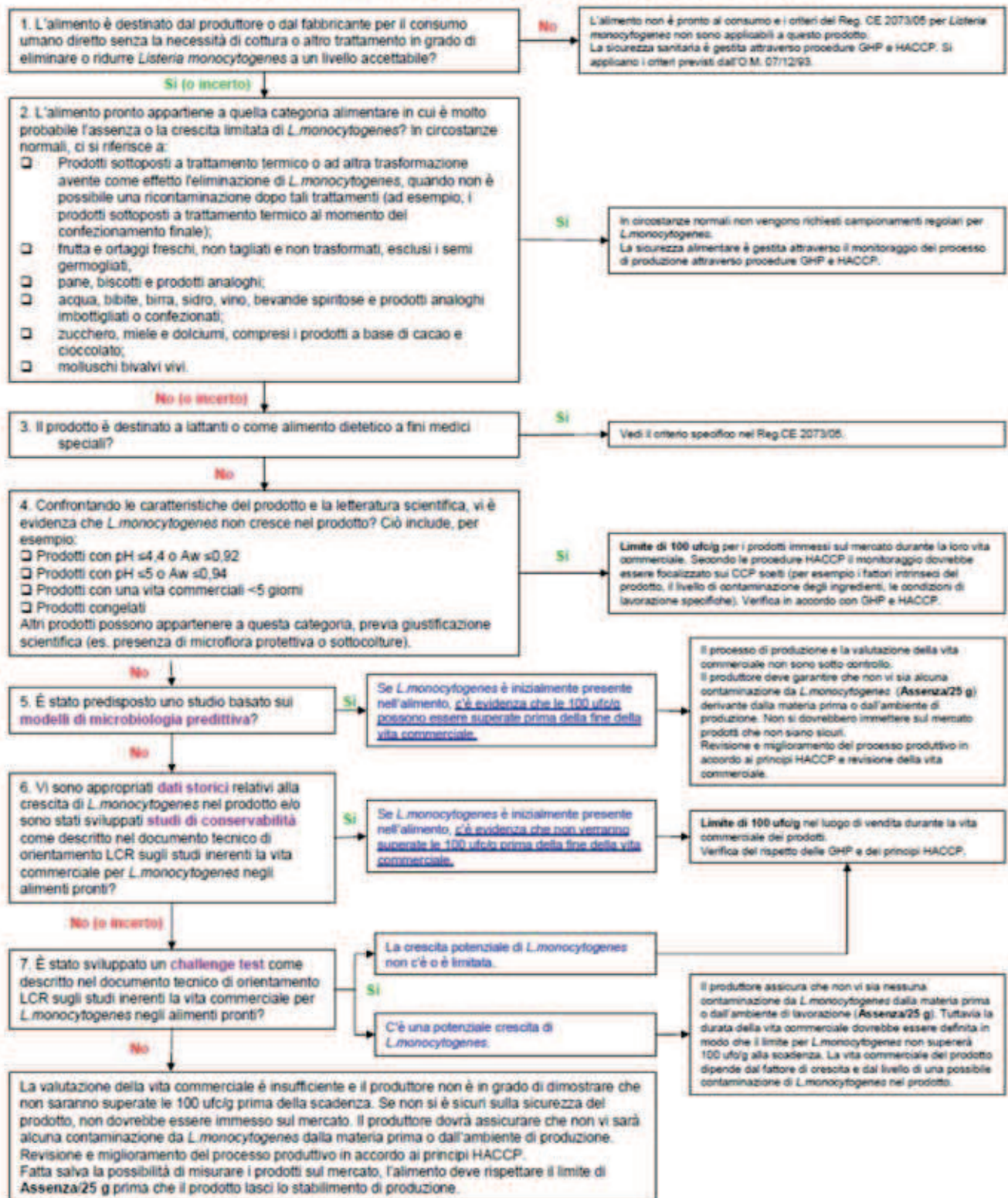
- le eventuali motivazioni circostanziate che rendono, a parere dell'Autorità Competente, non sufficienti le misure adottate e la documentazione prodotta dall'impresa.

Le attività conseguenti a positività presente devono essere svolte con procedure di Polizia Giudiziaria.

Bibliografia disponibile presso gli Autori.

ALBERO DELLE DECISIONI PER LA CLASSIFICAZIONE DEGLI ALIMENTI IN RELAZIONE ALLE POSSIBILITÀ DI CRESCITA DI *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Fasi di studio sulla vita commerciale degli alimenti pronti al consumo inerenti *L. monocytogenes* ai sensi del Reg. CE 2073/05 (albero delle decisioni)



SANCO/1628/2008 ver. 9.3 (26112008). Documento di orientamento per gli studi sulla vita commerciale degli alimenti pronti al consumo inerenti la *L. monocytogenes*, ai sensi del Reg. (CE) 2073/2005

L'Albero delle decisioni è anche consultabile all'indirizzo http://www.ceirsa.org/rischi_biologici.php