



IZSAM G. CAPORALE
TERAMO



Listeria monocytogenes

Laboratorio Nazionale di Riferimento

La contaminazione ambientale nei prodotti da *Listeria monocytogenes* nelle aziende destinate all'export di alimenti di origine animale nei Paesi Terzi. Focus sui risultati e sul follow-up da parte dell'Autorità competente.

Salvatore Antoci

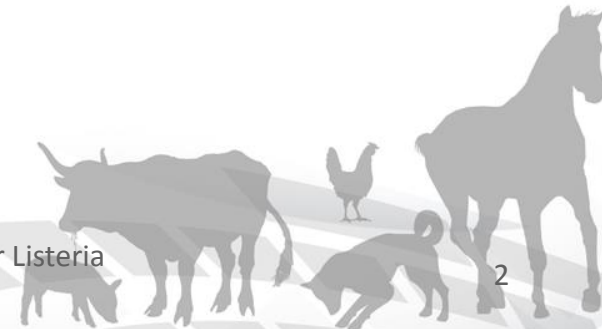


Introduzione

Il commercio internazionale degli alimenti è disciplinato da regole finalizzate a garantire:

- **sicurezza degli alimenti al fine di tutelare la salute del consumatore;**
- **prevenire la diffusione delle malattie degli animali e delle piante.**

Gli stabilimenti per esportare i loro prodotti, devono essere conformi alle pertinenti disposizioni nazionali e comunitarie e alle disposizioni vigenti nel Paese importatore, o dimostrarne l'equivalenza.



Introduzione

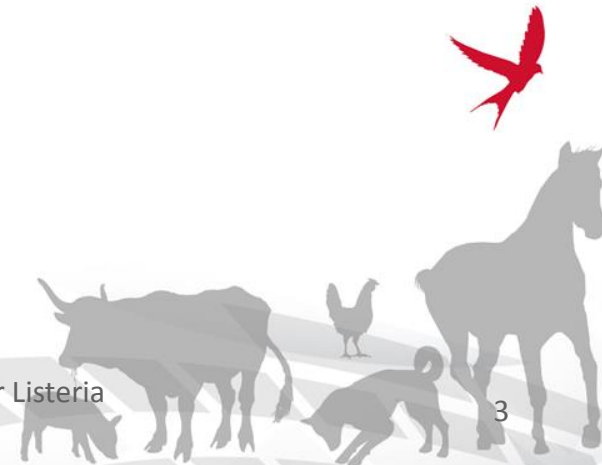
Al fine di poter esportare verso un Paese Terzo è prevista l'iscrizione dell'azienda in apposite liste ufficiali, gestite dal Ministero della Salute.

Il mantenimento dell'iscrizione è subordinato alla ricertificazione annuale dello stabilimento ad opera dei Servizi Veterinari dell'Autorità Competente Locale, che devono attestare la persistenza dei requisiti per l'esportazione, con specifico riferimento alle frequenze di controllo, alle procedure di sanificazione e al sistema HACCP.



Ministero della Salute

Giornata di studio "Il Laboratorio Nazionale di Riferimento per *Listeria monocytogenes*" Teramo 14 dicembre 2017



Le aziende italiane, per essere abilitate all'esportazione devono essere innanzitutto conformi ad una serie di disposizioni tra le quali le **SSOP (*Sanitation Standard Operating Procedures*)**.

Sono procedure scritte che descrivono:

- attività di pulizia e sanificazione, di monitoraggio e verifica
- azioni correttive da attuare in caso di non conformità

Specifici piani di sorveglianza annuali sono attualmente previsti solo per gli stabilimenti che effettuano esportazione di prodotti a base di carne negli Stati Uniti d'America.



Scopo del progetto

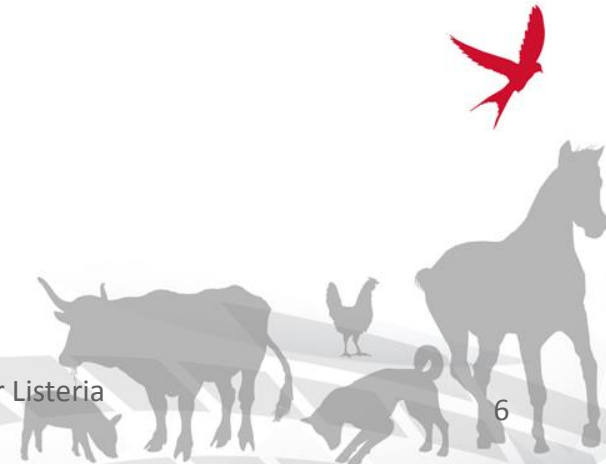
Monitoraggio dei requisiti igienico-sanitari negli stabilimenti autorizzati all'esportazione di Prodotti di Origine Animale verso Paesi Terzi

- ✓ verificare l'omogeneità, il livello di applicazione e la conformità al Regolamento (CE) 882/2004 dei controlli ufficiali, nonché delle procedure SSOP svolti dai Servizi Veterinari delle ASL, mediante l'esecuzione di audit in stabilimenti;
- ✓ verificare l'efficacia delle procedure di pulizia e disinfezione e l'igiene dei prodotti nelle imprese alimentari mediante il prelievo e l'analisi di campioni sia ambientali sia di prodotti.

Selezione degli stabilimenti

Gli stabilimenti da sottoporre al monitoraggio sono stati scelti con metodo casuale.

In totale sono stati selezionati 100 stabilimenti (50 da sottoporre al controllo e 50 stabilimenti di riserva) dalla lista che comprende le aziende autorizzate all'esportazione di prodotti a base di carne, latte e prodotti ittici verso Paesi Terzi.



Selezione degli stabilimenti

L'elenco degli stabilimenti autorizzati all'esportazione è stato estrapolato dal sistema informativo SINVSA, che raccoglie le informazioni relative agli stabilimenti, incluso lo stato di ricertificazione annuale.

Sono state eliminate le regioni con bassa densità di stabilimenti autorizzati all'esportazione, quelle logisticamente difficili da raggiungere (Liguria, Molise, Sardegna, Sicilia, Valle d'Aosta) e le aziende già autorizzate all'esportazione verso gli Stati Uniti d'America. Non sono stati selezionati stabilimenti autorizzati per la sola macellazione.





IZSAM G. CAPORALE
TERAMO

 *Listeria monocytogenes*
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Selezione degli stabilimenti

Le attività di audit e di prelievo dei campioni sono stati programmati in 25 stabilimenti situati nelle regioni italiane del Nord e in 25 nel Centro-Sud, nel periodo compreso tra ottobre 2016 e aprile 2017.



IZSAM G. CAPORALE
TERAMO



Istituto Zooprofilattico Sperimentale della
Lombardia e dell'Emilia-Romagna
"B. Ubertini"



Selezione degli stabilimenti



Ministero della Salute

DIREZIONE GENERALE PER L'IGIENE E LA SICUREZZA DEGLI ALIMENTI E DELLA NUTRIZIONE

Ufficio 2

Regioni e Province Autonome
di Trento e Bolzano
Servizi Veterinari
Loro Sedi

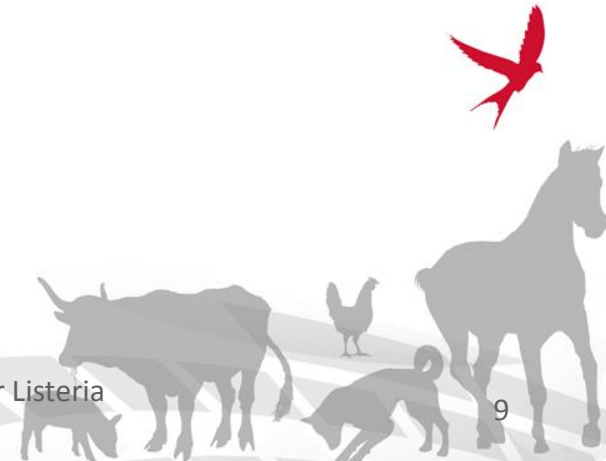
II.ZZ.SS.
ISS
Loro Sedi

Oggetto: monitoraggio del controllo ufficiale nelle aziende autorizzate all'esportazione di prodotti di origine animale verso Paesi terzi

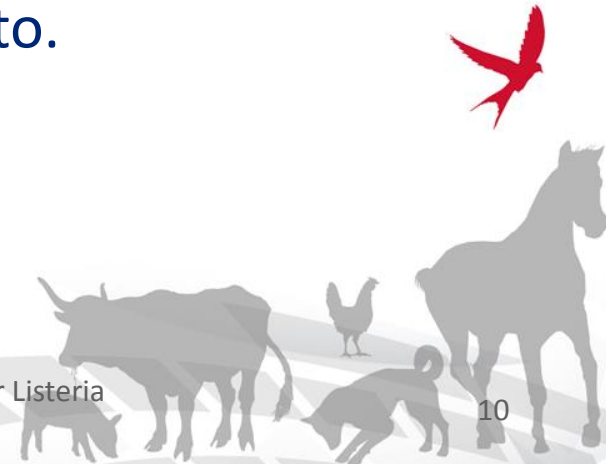
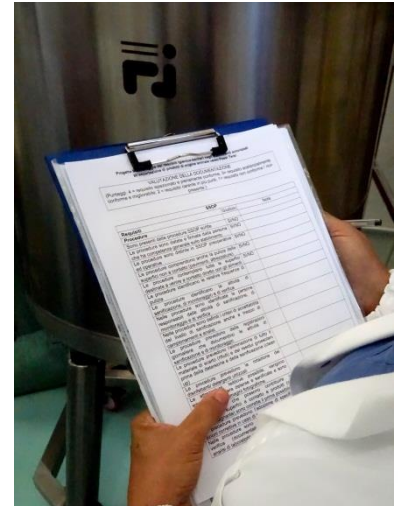
Le funzioni amministrative concernenti il commercio internazionale degli alimenti rientrano sotto diretto controllo dello scrivente Ministero della Salute. In tale contesto, gli stabilimenti di produzione per esportare prodotti di origine animale verso taluni Paesi Terzi devono iscriversi in apposite liste ufficiali, gestite dal Ministero della Salute, previo accertamento da parte dello stesso Ministero del rispetto dei requisiti. Il mantenimento dell'iscrizione è subordinato alla ricertificazione annuale ad opera dei servizi veterinari delle Unità Sanitarie Locali che, previa verifica, devono attestare il mantenimento dei requisiti per l'esportazione con specifico riferimento alle frequenze di controllo, alle procedure di sanificazione e al sistema HACCP.

Gli stessi uffici ministeriali, conformemente al Regolamento (CE) 882/2004, effettuano periodicamente audit per monitorare il coordinamento efficace ed efficiente tra il livello regionale e il livello locale, l'imparzialità, la qualità e la coerenza dei controlli ufficiali, nonché il mantenimento dei requisiti igienico-sanitari richiesti da parte delle autorità del Paese importatore.

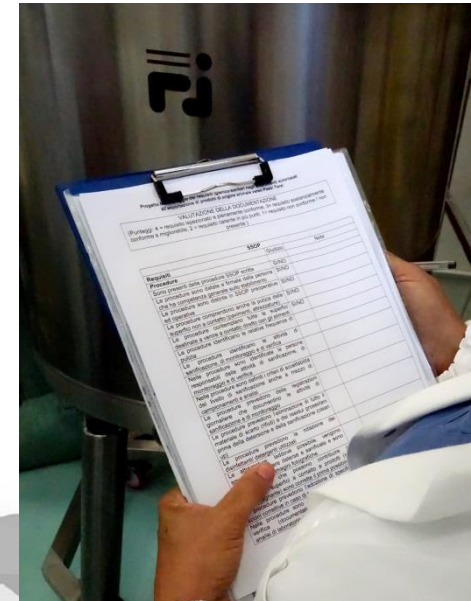
Lo scrivente Ministero, con l'obiettivo di assicurare l'omogeneità di applicazione delle procedure di controllo e, nell'eventualità, programmare futuri interventi di formazione, ha deciso di integrare i controlli già in essere con il monitoraggio di cinquanta stabilimenti autorizzati all'esportazione, attraverso una serie di controlli sia di tipo ispettivo che analitico. Inoltre, per una migliore programmazione, gestione e rendicontazione, gli interventi sono stati ricompresi all'interno di un progetto.



- Informazioni generali sullo stabilimento
- tipologia di produzione;
- Certificazioni volontarie;
- Ricertificazione annuale per l'export;
- Planimetria dello stabilimento con la descrizione dei flussi di prodotto al fine di individuare le linee di produzione da sottoporre a campionamento.



- Analisi di laboratorio eseguite in autocontrollo (se eseguite da laboratori interni o esterni);
- Pulizia (se eseguita da personale interno o esterne);
- Manuale di autocontrollo ed in particolare le procedure relative alle SSOP:
 - ✓ Evidenze relative alle procedure ispezionate;
 - ✓ Implementazione e monitoraggio delle SSOP;
 - ✓ Aggiornamento delle SSOP;
 - ✓ Azioni correttive;
 - ✓ Documentazioni e RegISTRAZIONI.



Il livello di conformità dei requisiti delle SSOP (procedure e registrazioni) è stato valutato attribuendo alla valutazione un punteggio da 1 a 4:

- ✓ 4 = requisito “ispezionato e pienamente conforme”;
- ✓ 3 = requisito “sostanzialmente conforme e migliorabile”;
- ✓ 2 = requisito “carente in più punti”;
- ✓ 1 = requisito “non conforme / non presente”.



Prelievo di campioni ambientali

L'esecuzione di tamponi ambientali è stata effettuata durante la lavorazione (fase operativa) lungo una sola linea produttiva selezionata casualmente. Per ciascun stabilimento ispezionato sono stati effettuati 15 tamponi:

- 10 da superfici a contatto **FCS**
- 5 da superfici non a contatto **NFCS**

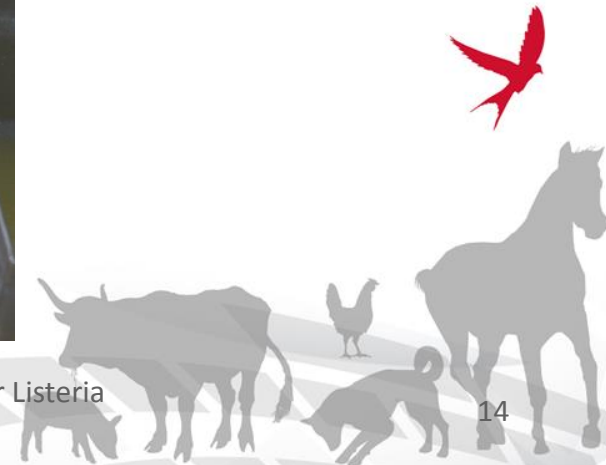


Le dimensioni delle superfici da sottoporre a campionamento sono state, ove possibile, di 30 cm x 30 cm (900 cm²). Nel caso di superfici di piccole dimensioni (ad esempio la lama di un coltello) è stata campionata l'intera superficie utile. Per ogni tampone eseguito è stata effettuata una foto nel punto di prelievo.



Prelievo di campioni ambientali

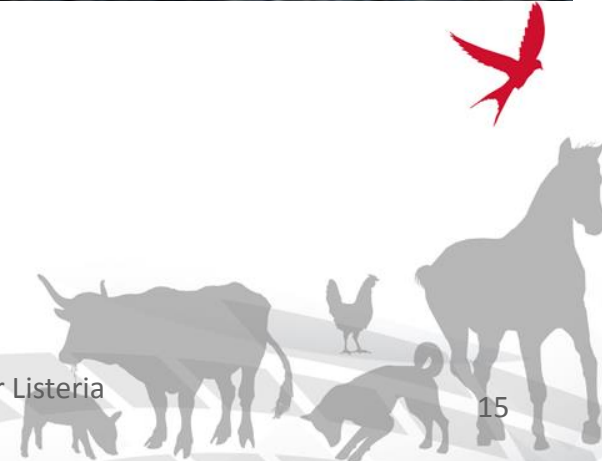
Tutti i campioni sono stati prelevati attraverso spugnette sterili di cellulosa (sponge bag) non trattate con sostanze battericide, contenute in sacchetti sterili di plastica sigillati e idratate con 10 ml di una soluzione di Dey-Engley neutralizing broth (soluzione neutralizzante) immediatamente prima del prelievo.



Prelievo di campioni di prodotto

Sono stati prelevati 5 campioni di prodotto pronto per la vendita, quando disponibili, di lotti diversi. I campioni sono stati selezionati casualmente tra i principali prodotti dello stabilimento:

- ✓ 145 prodotti a base di carne
- ✓ 80 prodotti a base di latte
- ✓ 25 prodotti ittici



Accertamenti analitici

I campioni sono stati esaminati con metodi di prova ISO di o con metodi interni validati in conformità alla norma ISO 16140 .

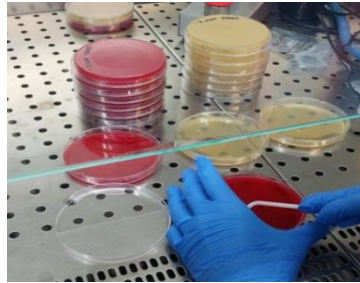
Tamponi ambientali:

- ✓ ricerca di *Listeria monocytogenes*

Prodotti:

- ✓ determinazione pH;
- ✓ determinazione attività dell'acqua (a_w);
- ✓ ricerca *L. monocytogenes*;
- ✓ numerazione *L. monocytogenes*;
- ✓ ricerca *Salmonella* spp.





Accertamenti analitici

In 10 campioni di prodotto (sughi pronti a base di carne e preparazioni gastronomiche miste) provenienti da 2 stabilimenti oltre ai precedenti accertamenti sono stati eseguiti:

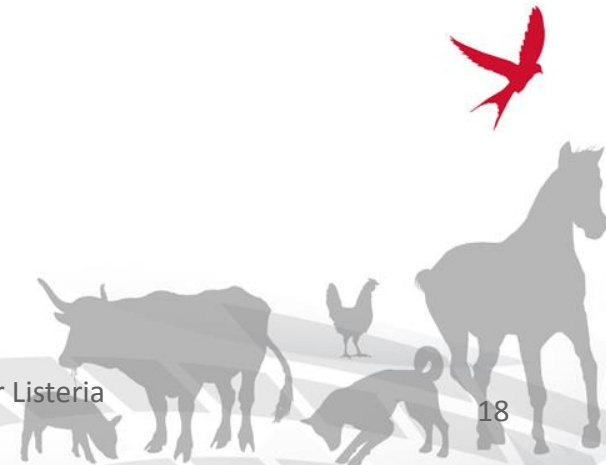
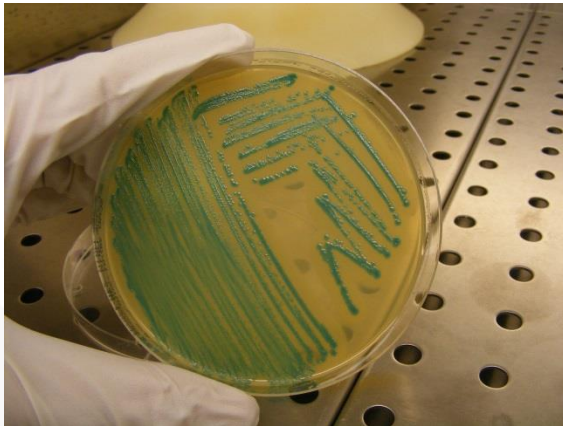
- ✓ esame ispettivo
- ✓ prova di stabilità microbiologica mediante analisi a tempo zero (arrivo in laboratorio), dopo 10 giorni con incubazione a 30° C e dopo 7 giorni con incubazione a 55° C (metodo interno).

In 5 campioni (conservate a base di carne) è stata effettuata:

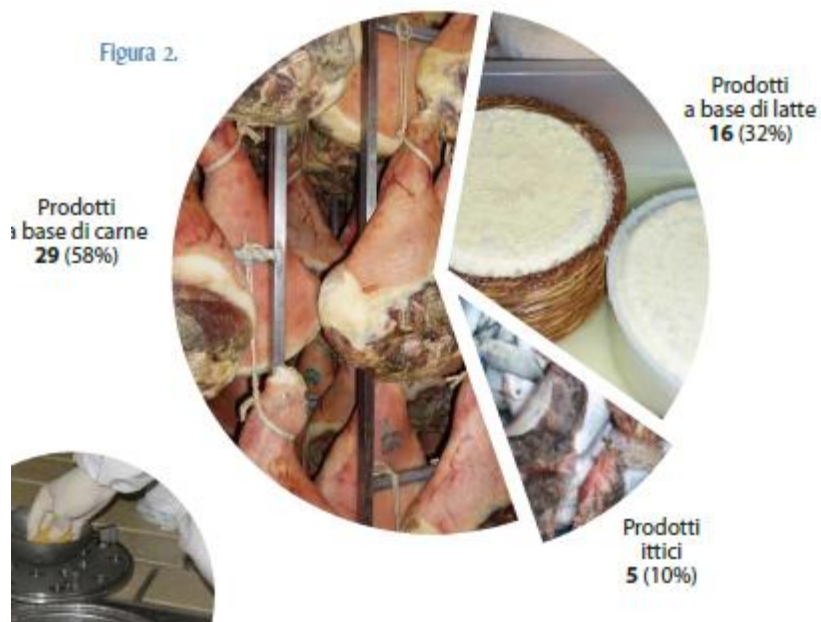
- ✓ determinazione Ivermectina (ELISA – metodo interno),
- ✓ determinazione Nitrati e Nitriti (HPLC – metodo interno)
- ✓ determinazione Solfiti (Titrimetrico- AOAC 990.28 1994).

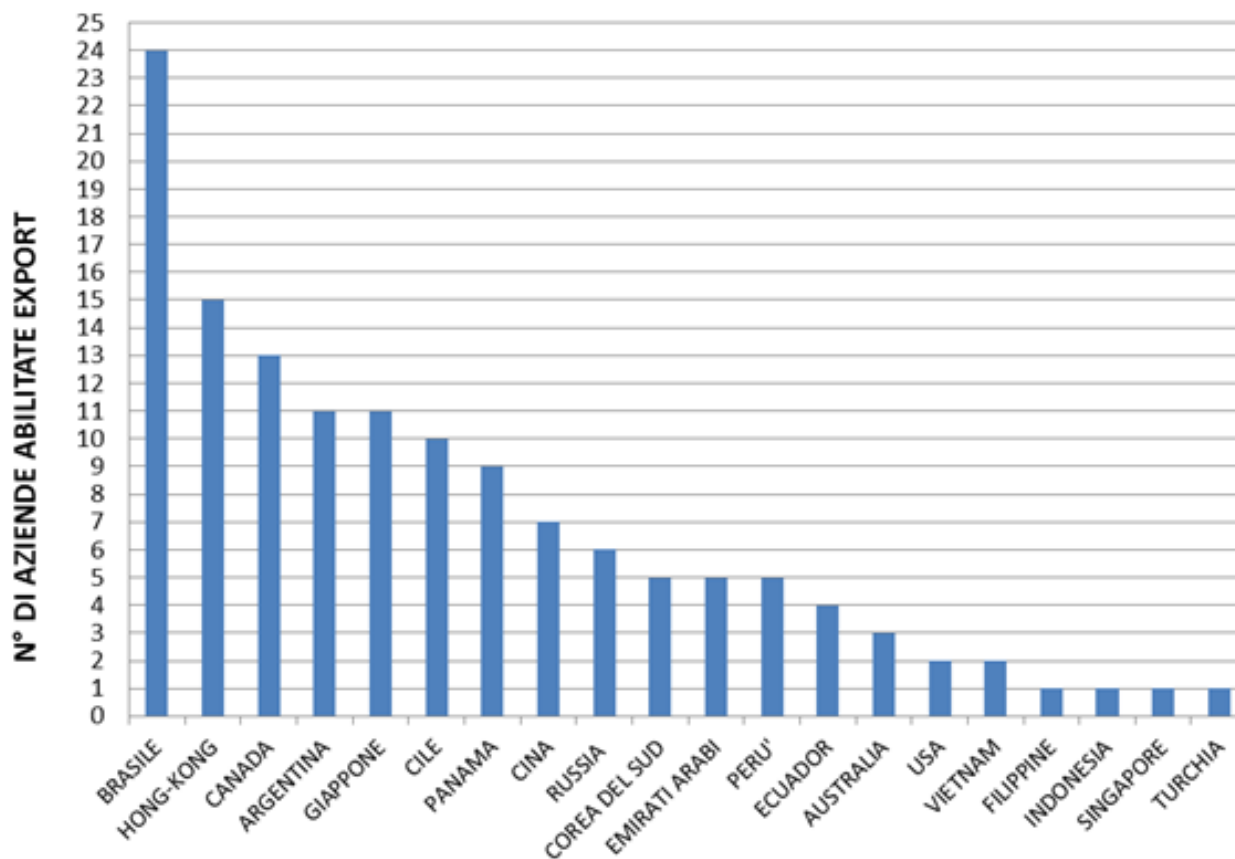
Caratterizzazione dei ceppi

- a) Identificazione sierologica
- b) PCR sierogruppo
- c) PFGE
- d) Analisi dei profili PFGE



Stabilimenti sottoposti al monitoraggio





Distribuzione aziende per Paese verso cui sono abilitate ad esportare

In 29 aziende visitate, l'identificazione delle attività di sanificazione, monitoraggio e verifica nell'ambito delle procedure è risultata pienamente conforme, in 17 è stata giudicata migliorabile (punteggio 3), in 4 carente in più punti (punteggio 2).

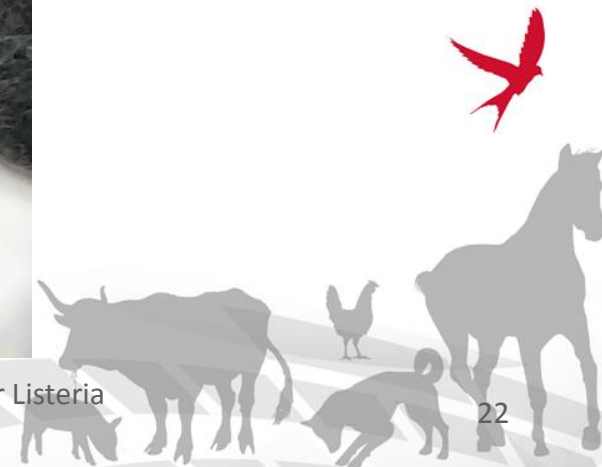


Il requisito relativo alla prassi quotidiana di smontare le attrezzature prima della detersione e sanificazione, è risultato soddisfatto in tutti gli stabilimenti con macchinari smontabili, mentre in altri l'attività non è stata prevista, per la mancanza di macchinari da smontare.



Risultati

Le registrazioni giornaliere che hanno fornito evidenza dell'avvenuta sanificazione e monitoraggio delle SSOP sono risultate presenti in 49 stabilimenti, un solo stabilimento non è stato in grado di documentare adeguatamente tali attività.





Risultati

***L. monocytogenes* è stata rilevata in 58 superfici di 25 stabilimenti.**

	ABBIGLIAMENTO	ATTREZZATURA	IMPIANTO	MACCHINARIO	MATERIALE PER PULIZIA	UTENSILE	TOT.
SUPERFICE A CONTATTO CON L'ALIMENTO (FCS)	1 (guanto dell'operatore)	13 (tavolo di lavorazione in teflon e acciaio, cassone raccolta prodotto)	1 (asse appoggio forme - cella stagionatura)	10 (tritacarne, polivalente, insaccatrice, impastatrice)		7 (coltello, spatola, paletta, contenitore)	32
SUPERFICE NON A CONTATTO CON L'ALIMENTO (NFCS)	6 (suola scarpa operatore)		14 (pozzetto di scarico acque di lavaggio, parete, pavimento)	1 (ruota)	4 (scopa, tira acqua)	1 (carrello)	26

***L. monocytogenes* è stata rilevata in 7 campioni su 245 (2,86%):**

- 3 salami;
- 1 lardo;
- 1 preparazione alimentare mista a base di pesce;
- 1 salsiccia stagionata;
- 1 soppressata;



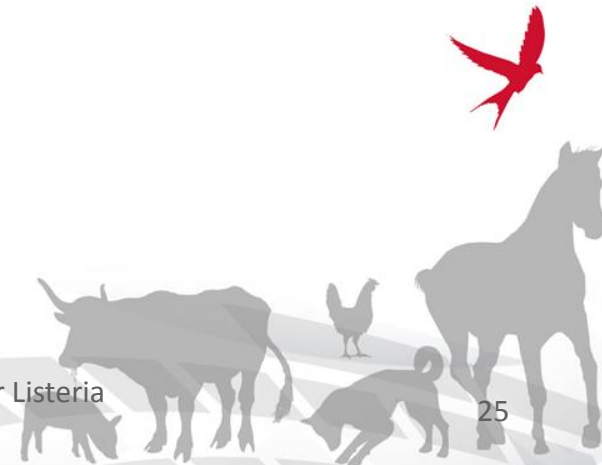
I livelli di contaminazione sono risultati sempre <10 UFC/g.





In nessun campione di alimento è stata rilevata la presenza di *Salmonella* spp.

Gli esiti delle prove di stabilità e la determinazione dell'Ivermectina, dei Nitrati, Nitriti e Solfiti hanno fornito risultati conformi.



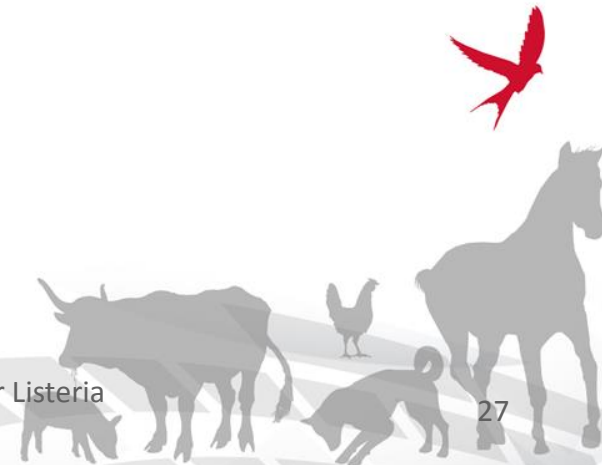
Sono stati esaminati n. 63 ceppi:

- 33 (52,4%) sierotipo 1/2a
- 15 sierotipo 1/2c (23,8%)
- 8 (12.4%) al sierotipo 1/2b e
- 7 (11.1%) al sierotipo 4b.

Nei quattro ceppi isolati negli alimenti, due appartenevano al sierotipo 1/2a e due al sierotipo 1/2c.


La determinazione del sierogruppo in PCR ha confermato il sierotipo: i ceppi 1/2a appartenevano al sierogruppo IIa, i ceppi 1/2b al sierogruppo IIb, i ceppi 1/2c al sierogruppo IIc e i ceppi 4b al sierogruppo IVb.

- Tutti i 63 ceppi confermati sono stati sottoposti alla determinazione del pulsotipo con gli enzimi di restrizione *Ascl* e *Apal*.
- L'analisi ha permesso di ottenere 23 profili di macrorestrizione per l'enzima *Ascl* e 34 profili di macrorestrizione per l'enzima *Apal*.
- L'analisi combinata dei due enzimi ha prodotto 34 differenti pulsotipi.



Follow-up dell'Autorità Competente

 *Listeria monocytogenes*
Laboratorio Nazionale di Riferimento

- 
- a) Prescrizioni
 - b) Ritiro di un prodotto
 - c) Regione Toscana nei giorni 15, 22 e 29 settembre 2017 eventi di sensibilizzazione diretti agli OSA e ai VU coinvolti nelle esportazioni
 - d) Campionamento ripetuto in un solo stabilimento in cui sono state rilevate numerose positività



Conclusioni

L'attuazione delle SSOP è stata ritenuta conforme in tutti gli stabilimenti coinvolti nel progetto.

Le non conformità sono state rilevate soprattutto nel controllo delle attività di verifica, spesso confusa con il monitoraggio.

Nel 50% degli stabilimenti almeno in un tampone ambientale prelevato è stata rilevata *L. monocytogenes*.



La presenza di *L. monocytogenes* sulle superfici non a contatto rappresenta un punto critico nella gestione delle procedure di pulizia e sanificazione.

Superfici non facilmente raggiungibili da detergenti e disinfettanti o che non subiscono regolare pulizia, possono rappresentare possibili nicchie trofiche per *L. monocytogenes*, favorendo la persistenza del microrganismo negli ambienti di lavorazione.




Conclusioni

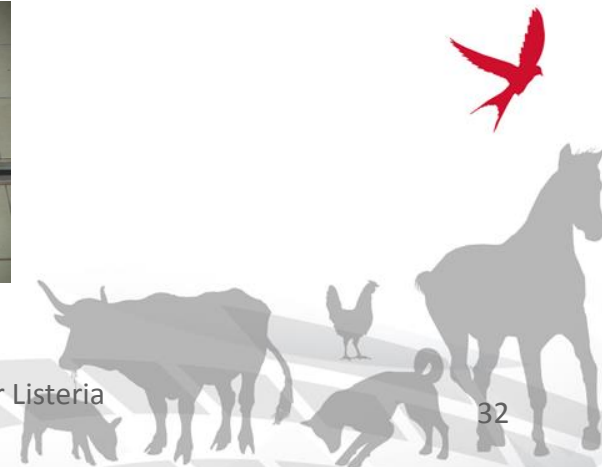
Pertanto sarà necessario:

- intervenire efficacemente sulla formazione del personale, per assicurare che le buone pratiche di lavorazione (GMP) e di igiene (GHP) non solo siano conosciute ma anche effettivamente rispettate.



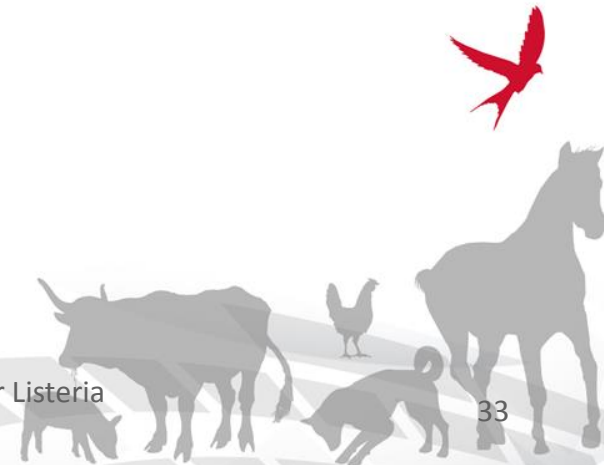
Conclusioni

- 
- implementare e eseguire regolari piani di campionamento che prevedano prelievi ambientali in tutte le aree di lavorazione, sia superfici a contatto che non a contatto. L'esecuzione dei campionamenti dovrebbe avvenire sia prima che dopo la sanificazione.
 - verificare l'efficacia delle attività di sanificazione;
 - revisionare e rivalidare il piano di autocontrollo.



I risultati acquisiti serviranno per:

- implementare specifiche misure correttive negli stabilimenti,
- effettuare una verifica approfondita del sistema di controllo locale e regionale di riferimento;
- eseguire di attività formative rivolte ai Servizi Veterinari, all'OSA;
- riprogrammare le attività da svolgersi negli anni successivi.

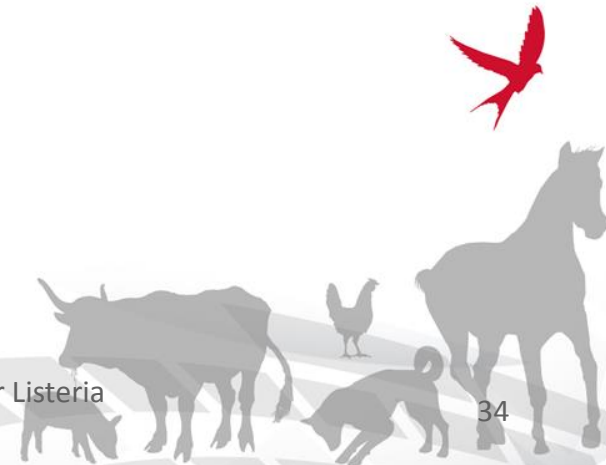




Ringraziamenti

 *Listeria monocytogenes*
Laboratorio Nazionale di Riferimento

Si ringraziano i funzionari del Ministero della Salute, i Medici Veterinari Regionali, i Servizi Veterinari delle Aziende Sanitarie Locali e le Sezioni degli II.ZZ.SS. delle Regioni Abruzzo, Basilicata, Calabria, Campania, Emilia Romagna, Friuli Venezia Giulia, Lazio, Lombardia, Marche, Piemonte , Province Autonome di Trento e Bolzano, Puglia ,Toscana, Umbria, Veneto e quanti hanno collaborato per la buona riuscita del progetto.





Grazie per l'attenzione!

