COMMISSIONE
EUROPEA

Bruxelles, XXX
SANCO/11510/2013
(POOL/G4/2013/11510/11510-EN.doc)
[…](2013) XXX draft

DOCUMENTO DI LAVORO DEI SERVIZI DELLA COMMISSIONE

DOCUMENTO DI ORIENTAMENTO

concernente gli studi sulla durata di vita della Listeria monocitogenes negli alimenti pronti, in applicazione del regolamento (CE) n. 2073/2005, del 15 novembre 2005, sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari

Il presente documento è stato redatto a scopo puramente informativo. Non è stato adottato né approvato in alcun modo dalla Commissione europea.

La Commissione europea non garantisce l'esattezza delle informazioni fornite e declina ogni responsabilità in merito all'eventuale uso che può esserne fatto. Gli utilizzatori devono quindi assumere tutte le necessarie precauzioni prima di fare uso di queste informazioni, di cui si avvalgono esclusivamente a proprio rischio.

FINALITÀ DEL PRESENTE DOCUMENTO

Il presente documento si rivolge in particolare alle imprese del settore alimentare che producono alimenti pronti e realizzano studi sulla durata di vita della *Listeria monocitogenes* in tali alimenti in applicazione dell'articolo 3, paragrafo 2, dell'allegato II del regolamento (CE) n. 2073/2005, del 15 novembre 2005, sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari.

Indice

1. Introduzione e finalità 6

2. Legislazione europea e documenti di orientamento nazionali o settoriali esistenti 7

2.1. Criteri microbiologici di sicurezza degli alimenti relativi alla *Listeria monocitogenes* 7

2.2. Criteri microbiologici relativi alle misure di controllo dell'igiene e principi HACCP 8

2.3. Rapporto tra il presente documento di orientamento e altri documenti dello stesso tipo 9

3. Principi e procedure per gli studi sul periodo di conservabilità 11

3.1. Elementi generali 11

3.2. Caratteristiche del prodotto e letteratura scientifica 15

3.2.1. Caratteristiche del prodotto 15

3.2.2. Letteratura scientifica 15

3.3. Dati storici 16

3.4. Microbiologia predittiva (modellizzazione) 17

3.4.1. Caratteri generali 17

3.4.2. Applicazione pratica della microbiologia predittiva 18

3.5. Studi specifici di laboratorio sul periodo di conservabilità al fine di esaminare la conformità ai criteri per la *Listeria monocitogenes* negli alimenti pronti durante tutto il periodo di conservabilità 19

3.5.1. Caratteri generali 19

3.5.2. Studi sulla durabilità 20

3.5.3. Test di provocazione 21

3.6. Valutazione del periodo di conservabilità che combina i vari disponibili 24

3.7. Collaborazione tra imprese del settore alimentare 27

4. Documenti relativi agli studi dedicati al periodo di conservabilità 28

5. Allegati 29

5.1. Definizioni 29

5.2. Esempi delle fasi necessarie alla decisione per gli studi sul periodo di conservabilità 31

5.3. Esempio di utilizzazione della microbiologia predittiva 34

5.4. Esempi di valutazione del periodo di conservabilità che utilizza un approccio che combina i vari strumenti disponibili 35

5.5. Elenco di riferimento di alcuni documenti di orientamento esistenti 41

1. INTRODUZIONE E FINALITÀ

La *Listeria monocitogenes* può provocare malattie nell'essere umano e si trasmette generalmente sotto forma di patogeni di origine alimentare. La *L. monocitogenes* è spesso presente nell'ambiente, nel suolo, nella vegetazione e nelle feci degli animali. Questo batterio può essere presente negli alimenti crudi come la carne, il latte e il pesce. La sua onnipresenza e la maggiore capacità di proliferare o di sopravvivere in un ambiente refrigerato rispetto alla maggior parte degli altri organismi rendono la *L. monocitogenes* una importante sfida per la produzione alimentare, in particolare per gli alimenti pronti che non sono sottoposti a un trattamento termico al momento della produzione e nei quali la *L. monocitogenes* può svilupparsi, e inoltre per gli alimenti che possono essere contaminati dall'ambiente, compreso l'ambiente di produzione, nel corso della fabbricazione.

È essenziale che i produttori di alimenti pronti (alimenti che il produttore destina al consumo umano diretto, dal momento che non richiedono cottura o altri processi di trasformazione in grado di eliminare o ridurre a un livello accettabile i microorganismi pericolosi) adottino misure volte a controllare la contaminazione da *L. monocitogenes* e il suo sviluppo negli alimenti sino al termine del periodo di conservabilità. È necessario conoscere lo sviluppo potenziale di questo batterio nel prodotto alimentare e la relativa documentazione. Questi elementi devono inoltre essere presi in considerazione quando il produttore determina il periodo di conservabilità senza rischi del prodotto.

Il presente documento è destinato ai produttori di alimenti pronti. Il suo scopo è di orientarli nell'identificazione del rischio derivante dalla *L. monocitogenes* nei loro alimenti pronti e a definire principi generali per orientarli a decidere il momento e la natura degli studi necessari durante il periodo di conservabilità. Il presente documento può inoltre essere utilizzato dalle autorità competenti per controllare il processo di realizzazione degli studi sul periodo di conservabilità.

Lo scopo principale del documento è di aiutare gli operatori del settore alimentare che producono alimenti pronti:

- a dimostrare, in modo soddisfacente per l'autorità competente, che i prodotti sono conformi al regolamento dell'Unione sino al termine del periodo di conservabilità,

- a comprendere i vari approcci utili per la definizione di un periodo di conservabilità senza rischi in rapporto con la *L. monocitogenes* e decidere l'approccio adeguato ai loro prodotti e

- a classificare i loro prodotti in alimenti pronti nei quali può svilupparsi o non può svilupparsi la *L. monocitogenes*.

Il presente documento non intende essere normativo per quanto riguarda i particolari tecnici. Il laboratorio comunitario di riferimento per la *Listeria monocitogenes*[1] ha redatto un documento di orientamento tecnico specifico[2] per i laboratori che effettuano studi sul periodo di conservabilità, in particolare studi sulla durabilità e test di provocazione.

2. LEGISLAZIONE EUROPEA E DOCUMENTI DI ORIENTAMENTO NAZIONALI O SETTORIALI ESISTENTI

2.1. Criteri microbiologici di sicurezza degli alimenti relativi alla *Listeria monocitogenes*

Nel suo regolamento (CE) n. 2073/2005 del 15 novembre 2005, sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari[3], l'UE ha definito criteri microbiologici di sicurezza degli alimenti relativi alla *L. monocitogenes* per gli alimenti pronti.

L'articolo 3 del regolamento (CE) n. 2073/2005 stabilisce che gli operatori del settore alimentare provvedono a che i prodotti alimentari siano conformi ai relativi criteri microbiologici fissati in tale regolamento. L'articolo 3 menziona inoltre gli studi sul periodo di conservabilità (elencati nell'allegato II del regolamento), che l'operatore del settore alimentare deve effettuare al fine di esaminare se i criteri sono rispettati per l'intera durata del periodo. Questa disposizione si applica in particolare agli alimenti pronti che costituiscono un terreno favorevole alla crescita di *L. monocitogenes* e che possono costituire un rischio per la salute pubblica in quanto mezzo di diffusione di tale batterio.

I criteri specifici di sicurezza degli alimenti relativi alla *L. monocitogenes* per gli alimenti pronti figurano nell'allegato I del regolamento. Quest'ultimo precisa la categoria alimentare, il piano di campionamento, i limiti microbiologici, i metodi analitici e la fase a cui si applica il criterio. I criteri di sicurezza degli alimenti definiscono l'accettabilità di un prodotto o di un lotto di alimenti applicabile ai prodotti immessi sul mercato. Quando le prove basate sui criteri di sicurezza degli alimenti danno risultati insoddisfacenti, il prodotto o il lotto di alimenti è ritirato o richiamato dal mercato. Devono inoltre essere adottate misure correttive sul sito di produzione, conformemente all'analisi dei rischi e dei punti critici di controllo (HACCP).

L'allegato II del regolamento descrive gli studi sul periodo di conservabilità che l'operatore del settore alimentare deve effettuare, ove necessario, al fine di esaminare se i criteri sono rispettati durante tutto il periodo. Questi studi comprendono sempre:

---

[1] Agence Française de sécurité sanitaire des aliments, Laboratoire d'Etudes et de Recherches sur la Qualité des Aliments et sur les Procédés Agro-alimentaires, Maisons-Alfort, Francia

[2] Technical guidance document on shelf-life studies for *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods (Laboratorio comunitario di riferimento per la *Listeria monocytogenes).*

[3] GU L 338 del 22.12.2005, pag. 1.

- le prove per determinare le caratteristiche fisico-chimiche del prodotto (quali pH, a_w, contenuto salino, concentrazione di conservanti e tipo di sistema di confezionamento) tenendo conto delle fasi e condizioni di lavorazione, delle condizioni di conservazione e delle possibilità di contaminazione e della conservabilità prevista, e

- la consultazione della letteratura scientifica disponibile e dei dati di ricerca sulle caratteristiche di sviluppo e di sopravvivenza dei microorganismi in questione.

Quando gli studi sopra menzionati non consentono di raggiungere la fiducia necessaria in materia di sicurezza del prodotto, l'operatore del settore alimentare effettua ulteriori studi. Questi ultimi tengono conto della variabilità inerente al prodotto, nonché delle condizioni di trasformazione e di conservazione. Essi possono comprendere:

- modelli microbiologici predittivi (matematici) stabiliti per il prodotto alimentare in esame, utilizzando fattori critici di sviluppo o di sopravvivenza per i microorganismi in questione presenti nel prodotto, e/o

- studi per valutare lo sviluppo o lo sopravvivenza dei microorganismi in questione che possono essere presenti nel prodotto durante il periodo di conservabilità, in condizioni ragionevolmente prevedibili di distribuzione, conservazione e uso (definiti studi sulla durabilità o dati storici appropriati), e/o

- prove per determinare la capacità dei microorganismi in questione, debitamente inoculati, di svilupparsi o sopravvivere nel prodotto in diverse condizioni di conservazione ragionevolmente prevedibili (definiti test di provocazione).

2.2. Criteri microbiologici relativi alle misure di controllo dell'igiene e principi HACCP

La legislazione alimentare ha lo scopo principale di garantire un livello elevato di protezione della salute pubblica. Per raggiungere questo obiettivo fondamentale, la legislazione comunitaria nel settore dei prodotti alimentari[4] stabilisce i requisiti generali relativi alla sicurezza degli alimenti. Basandosi su un approccio preventivo, questi requisiti comprendono l'adozione di misure di controllo dell'igiene e procedure basate sui principi HACCP[5] da parte di operatori del settore alimentare in tutte le fasi della catena di produzione alimentare.

---

[4] Regolamento (CE) n. 178/2002 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 28 gennaio 2002 che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare (GU L 31 del 1.2.2002, pag.1).

[5] Articoli 4 e 5 del regolamento (CE) n. 852/2004, del Parlamento europeo e del Consiglio, del 29 aprile 2004, sull'igiene dei prodotti alimentari (GU L 226 del 25.6.2004, pag. 3).

Dal momento che i rischi microbiologici collegati ai prodotti alimentari costituiscono una delle maggiori fonti di malattie di origine alimentare nell'uomo, la legislazione comunitaria prevede che, al momento di attuare o adottare queste procedure e misure igieniche, i prodotti alimentari debbano soddisfare i criteri microbiologici pertinenti (si veda il capitolo precedente).

Il regolamento prevede, per i criteri microbiologici, che gli operatori del settore alimentare effettuino prelievi di campioni batteriologici e attuino programmi di analisi che devono costituire parte integrante dell'attuazione delle loro procedure basate sulle corrette prassi igieniche e i principi HACCP. Le frequenze di campionamento (eccettuati i casi in cui il regolamento prevede requisiti specifici minimi di campionamento) devono basarsi sulle proprie analisi di rischio, essere adeguate alla natura e alle dimensioni delle imprese del settore alimentare e prendere in considerazione altri aspetti come le caratteristiche della materia prima, del prodotto finale o del processo produttivo.

Poiché la sicurezza dei prodotti alimentari non può basarsi unicamente sull'analisi del prodotto finale (nessun piano di campionamento può garantire l'assenza di un particolare microorganismo), il rispetto dei criteri di sicurezza dei prodotti alimentari costituisce una delle diverse opzioni di gestione che consentono di garantire che l'alimento prodotto è sicuro. L'attuazione delle corrette prassi igieniche, in combinazione con i principi HACCP, deve essere applicata in modo coerente al fine di controllare lo status microbiologico richiesto nella materia prima, di minimizzare la contaminazione iniziale a livello della fabbricazione, e/o di ridurre lo sviluppo potenziale dei microorganismi. È opportuno ricorrere ai controlli effettuati applicando un criterio di sicurezza dei prodotti alimentari dopo la produzione solo per verificare il processo produttivo e, pertanto, il corretto funzionamento delle corrette prassi igieniche e delle procedure basate sui principi HACCP.

I criteri microbiologici non sono di solito adatti al monitoraggio dei limiti critici così come definiti nelle procedure HACCP. Le procedure di monitoraggio devono poter individuare eventuali perdite di controllo a livello dei punti critici e devono fornire queste informazioni in tempo utile al fine di adottare misure correttive e di riprendere il controllo. È quindi opportuno ricorrere alla misurazione dei parametri fisici e chimici (come i profili orari/termici, pH e a_w), che può essere effettuata in tempo reale sul sito di produzione, piuttosto che controlli effettuati applicando i criteri microbiologici.

2.3. Rapporto tra il presente documento di orientamento e altri documenti dello stesso tipo

Il presente documento non vuole essere normativo e non descrive nei particolari come effettuare ciascuno degli studi descritti sul periodo di conservabilità per un particolare prodotto alimentare. Un documento di orientamento tecnico specifico[2] per i laboratori che effettuano studi sul periodo di conservabilità, in particolare gli studi sulla durabilità e di test di provocazione, è stato elaborato dal Laboratorio comunitario di riferimento per la *Listeria monocitogenes*.

Il panorama generale contenuto nel presente documento può essere completato con documenti di orientamento più dettagliati elaborati da alcuni istituti, autorità nazionali e taluni operatori dell'industria alimentare, nonché da futuri documenti. Questi documenti di orientamento forniscono informazioni particolareggiate sul modo di determinare il periodo di conservabilità di un prodotto. Un elenco di riferimento comprende alcuni di questi documenti di orientamento si trova nell'allegato 5.5. Questo documento non sostituisce gli orientamenti esistenti del settore.

Se non è presente una perizia tecnica pertinente in-house, gli operatori del settore alimentare dovrebbero richiedere l'assistenza del personale debitamente qualificato e formato, al fine di garantire l'adeguata effettuazione degli studi sul periodo di conservabilità. Gli studi di laboratorio sul periodo di conservabilità devono essere effettuati nei laboratori che possiedono le perizie richieste per realizzare tali studi e dimostrano corrette prassi di laboratorio.

3. PRINCIPI E PROCEDURE PER GLI STUDI SUL PERIODO DI CONSERVABILITÀ

3.1. Elementi generali

La determinazione del periodo di conservabilità è molto importante per la sicurezza microbiologica dei prodotti alimentari pronti, in particolare per quelli in cui può svilupparsi la *L. monocitogenes*. Il periodo di conservabilità si definisce come il periodo di tempo durante il quale un prodotto rimane sano e mantiene le sue qualità specifiche in condizioni adeguate di conservazione e di utilizzazione. Il periodo di conservabilità determina la data di durabilità di un prodotto alimentare ed è espresso dalle diciture "da consumare entro" o "da consumarsi preferibilmente entro il …" sul prodotto, come indicato agli articoli 9 e 10 della direttiva 2000/13/CE[6].

Gli studi sul periodo di conservabilità e l'esame del piano HACCP devono essere effettuati nei seguenti casi:

- elaborazione di un nuovo prodotto o modifiche di un prodotto,
- elaborazione di un nuovo processo o modifiche di un processo,
- elaborazione di un nuovo imballaggio,
- qualunque significativa modifica di uno o più ingredienti o dell'imballaggio di un prodotto esistente,
- modifiche sul sito di produzione o delle apparecchiature di produzione, o
- nei casi in cui non è stato effettuato in precedenza nessuno studio sul periodo di conservabilità.

Gli operatori del settore alimentare sono incaricati di determinare il periodo di conservabilità in condizioni ben definite, che devono prendere in considerazione le condizioni di distribuzione, conservazione e utilizzazione ragionevolmente prevedibili. La temperatura di stoccaggio durante l'intero periodo di conservabilità costituisce un elemento importante di queste condizioni prevedibili, per cui occorre giustificare la decisione della o delle temperature scelte per il periodo di conservabilità. In linea generale, utilizzare una temperatura di stoccaggio troppo bassa rispetto alle temperature effettive di distribuzione e di utilizzazione per definire il periodo di conservabilità può comportare una sottostima dello sviluppo dei microbi, in particolare della *L. monocitogenes*, e di conseguenza una sovraestimazione del periodo di conservabilità totale senza rischio. Se le effettive temperature di conservazione non sono conosciute per il prodotto in questione, gli operatori del settore alimentare possono fissare la temperatura di stoccaggio tra gli 8 e i 12 ºC per gli studi sul periodo di conservabilità. Essi devono tuttavia giustificare le temperature utilizzate per determinare il periodo di conservabilità, tenendo conto dei dati di temperatura al momento della distribuzione e durante il periodo di conservabilità da parte dei consumatori.

[6] GU L 109 del 6.5.2000, pag. 29-42.

In pratica, la determinazione del periodo di conservabilità è considerata parte del sistema HACCP del fabbricante e tiene conto dei controlli sui fornitori che garantiscono la qualità delle materie prime e l'evoluzione del monitoraggio sulle materie prime, della fiducia attribuita ai controlli in materia di corrette prassi igieniche attuate nell'ambiente di produzione, secondo quanto indicato dai risultati del campionamento effettuato nelle zone di trasformazione e sulle apparecchiature, dell'esperienza acquisita nella fabbricazione di prodotti simili, del tasso di deterioramento biologico e del mantenimento delle qualità organolettiche in condizioni prevedibili di conservazione e di utilizzazione.

Il periodo di conservabilità costituisce parte integrante della sicurezza del prodotto; l'identificazione dei patogeni interessati, compresa la *L. monocitogenes*, nelle materie prime e nell'ambiente di produzione è essenziale per valutare correttamente un periodo di conservabilità senza rischi. È opportuno ricordare che gli scarti rispetto alle condizioni normali, come un elevato livello di contaminazione iniziale delle materie prime, temperature troppo elevate durante il magazzinaggio o il trasporto o un periodo di conservabilità troppo lungo, possono esercitare un impatto considerevole sulla sicurezza del prodotto.

Gli studi sulla durata di vita della *L. monocitogenes* hanno lo scopo di dimostrare la conformità degli alimenti pronti al limite fissato per la *L. monocitogenes* durante tutta il loro periodo di conservabilità. La determinazione situazione microbiologica nei prodotti alimentari durante il periodo di conservabilità tiene sempre conto di vari fattori come il settore alimentare, il tipo di prodotto e il tipo di processo. Devono inoltre essere prese in considerazione la variabilità inerente dei lotti prodotti e la variabilità collegata ala specie *L. monocitogenes,* oltre alle condizioni di distribuzione, di conservazione e di utilizzazione ragionevolmente prevedibili, comprese le condizioni applicate dal consumatore.

La dimostrazione di conformità e gli studi sul periodo di conservabilità possono essere registrati in molti modi, a cominciare dal confronto delle caratteristiche del prodotto con quelle indicate nella letteratura scientifica disponibile.

Nei casi in cui il confronto delle caratteristiche del prodotto coi dati scientifici o con gli altri dati disponibili non sia in grado di fornire dati sufficienti a sostegno della valutazione del periodo di conservabilità, devono essere effettuati altri studi. Può trattarsi di microbiologia predittiva, dell'utilizzazione dei dati storici appropriati o di studi laboratorio particolari, come gli studi sulla durabilità o i test di provocazione. Ciascuno di questi strumenti presenta vantaggi e inconvenienti e può essere eventualmente combinato con altri.

Gli operatori del settore alimentare possono collaborare e raccogliere il parere di vari laboratori alimentari (ad esempio, istituti di ricerca o laboratori di riferimento), quando realizzano questi studi sul periodo di conservabilità.

Il seguente albero decisionale (figura 1) presenta un approccio tematico per le tappe degli studi sul periodo di conservabilità. Questo albero decisionale indica inoltre agli operatori del settore alimentare quando sono necessari studi specifici supplementari (ad esempio, studi sulla durabilità e test di provocazione) al fine di studiare il loro

sviluppo (potenziale) della *L. monocitogenes* nel prodotto. Ulteriori informazioni relative a questo albero decisionale possono essere consultate nell'allegato 5.2.

Un controllo e una verifica continui durante il periodo di conservabilità sono necessari per confermare il mantenimento delle condizioni definite per ciascun prodotto.

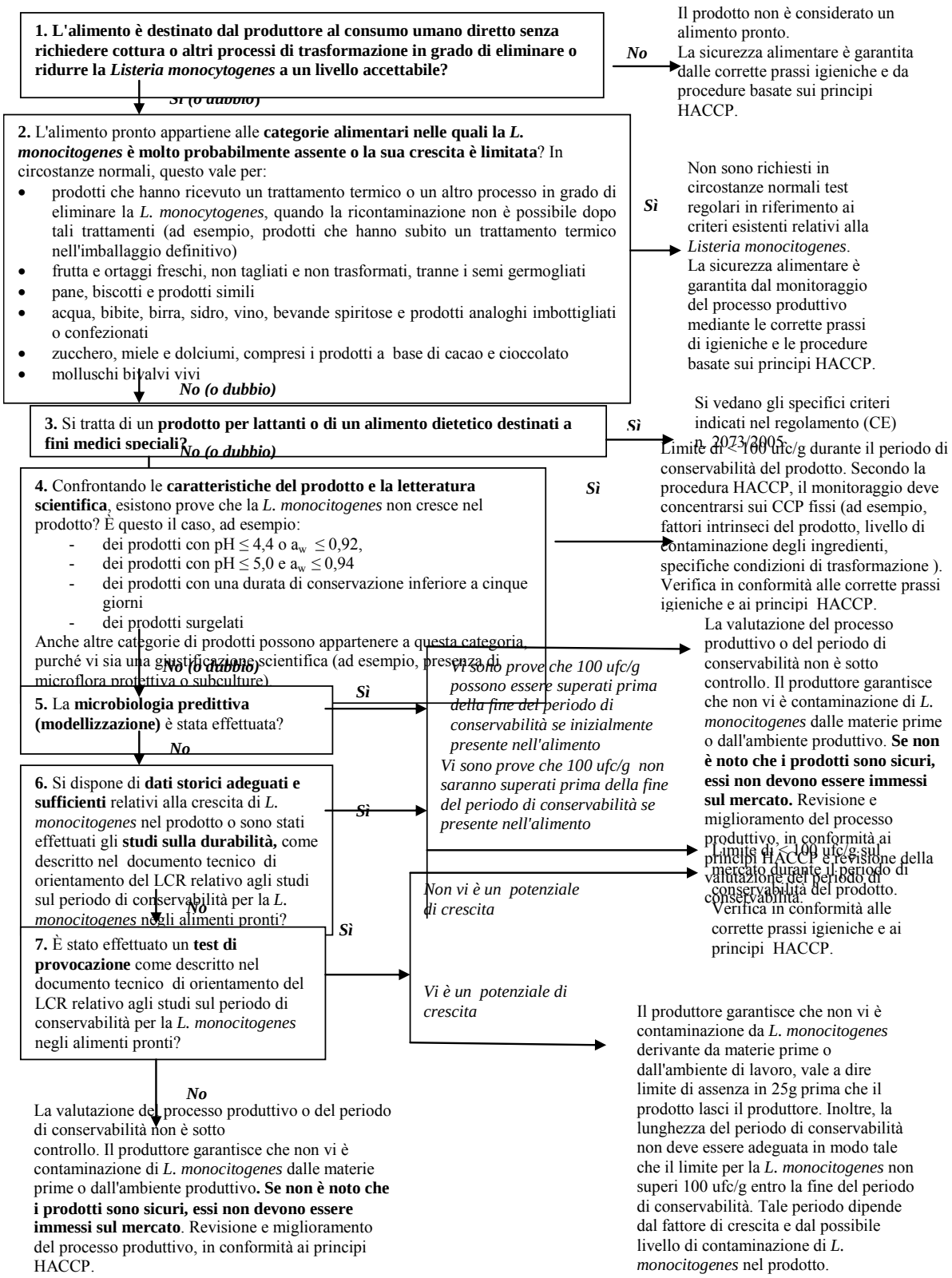

Figura 1. Albero decisionale che illustra in modo schematico le tappe degli studi sul periodo di conservabilità.

3.2. Caratteristiche del prodotto e letteratura scientifica

3.2.1. *Caratteristiche del prodotto*

Al momento della determinazione del periodo di conservabilità di un alimento pronto, è essenziale esaminare se tale prodotto può consentire la sopravvivenza o la crescita della *L. monocitogenes*. La sopravvivenza e la crescita della *L. monocitogenes* in questo alimento pronto sono in funzione delle caratteristiche di quest'ultimo e delle condizioni nelle quali esso è prodotto, imballato e immagazzinato. Queste caratteristiche sono a volte qualificate come proprietà intrinseche ed estrinseche dell'alimento pronto.

Le principali caratteristiche del prodotto che influiscono sulla sopravvivenza e sulla crecita della *L. monocitogenes* negli alimenti pronti sono il pH, l'attività dell'acqua (a_w) la temperatura alla quale questi prodotti sono immagazzinati e la durata della conservazione. Inoltre, i conservanti e la microflora protettiva, comprese le eventuali culture di avviamento, possono avere un impatto considerevole sulla sopravvivenza e la crescita della *L. monocitogenes* nel prodotto.

Conoscendo le caratteristiche (ad esempio pH, a_w, temperatura di stoccaggio) di un alimento pronto, l'operatore del settore alimentare può determinare se la *L. monocitogenes* può sopravvivere o svilupparsi in un alimento pronto. Queste informazioni consentono inoltre alle imprese del settore alimentare di modificare la formulazione dei loro prodotti al fine di prevenire o ridurre al minimo la sopravvivenza o lo sviluppo della *L. monocitogenes*.

3.2.2. *Letteratura scientifica*

Vari libri, riviste scientifiche, università o istituti tecnici offrono numerosi dati sulla *L. monocitogenes* e il periodo di conservabilità. Inoltre, molti organismi nazionali, europei (ad esempio, l'Autorità europea per la sicurezza degli alimenti) e internazionali dispongono di dati.

Quando un operatore del settore alimentare ha definito le caratteristiche (ad esempio pH, a_w, temperatura di stoccaggio) del suo alimento pronto e le condizioni nelle quali esso è prodotto, imballato e immagazzinato, queste informazioni sono utilizzate per confrontare il prodotto con i dati esistenti sulla sopravvivenza e la crescita della *L. monocitogenes* nella letteratura scientifica. Alcuni limiti dei fattori di sopravvivenza e della crescita della *L. monocitogenes* sono forniti nella Tabella 1. Anche altri fattori o combinazioni di vari fattori possono essere pertinenti e sono oggetto di giustificazione scientifica.

La *L. monocitogenes* possiede caratteristiche specifiche che rafforzano la sua importanza in quanto organismo di origine alimentare. Essa può svilupparsi a una temperatura di 0 °C e può pertanto facilmente proliferare negli alimenti refrigerati. Può sopravvivere in un ambiente ostile, all'essicazione e alla salatura. Inoltre la *L. monocitogenes* può svilupparsi in un ambiente a bassa concentrazione di ossigeno,

o in ambiente anerobico, e ciò conferisce un vantaggio a questo organismo negli alimenti imballati sottovuoto.

Tabella 1. Fattori selezionati che influenzano lo sviluppo e la sopravvivenza della L. monocitogenes[a]

Fattore	**Può crescere**[b]			**Può sopravvivere** *(ma non crescere)*[c]
	Limite inferiore di crescita	*Condizioni ottimali*	*Limite superiore di crescita*	
Temperatura (^oC)	-1,5 a +3,0	30,0 a 37,0	45,0	-18,0
pH[d]	4,2 a 4,3	7,0	9,4 a 9,5	3,3 a 4,2
Attività dell'acqua (a_w)	0,90 a 0,93	0,99	> 0,99	< 0,90
Concentrazione di sale (%)[e]	< 0.5	0,7	12 – 16	≥ 20
Atmosfera	Anerobio facoltativo (può svilupparsi in presenza o in assenza di ossigeno, ad esempio in un imballaggio sottovuoto o sotto atmosfera modificata)			
Trattamento termico durante la trasformazione alimentare	Una combinazione temperatura/durata, ad esempio di 70 ^oC e 2 minuti, è necessaria per una riduzione D-6 (vale a dire 10^6 o 6 decimale) del numero di cellule di L. monocitogenes. Anche altre combinazioni temperatura/durata possono generare la stessa riduzione.			

[a] I limiti di crescita e di sopravvivenza della *L. monocitogenes* presentati in questa tabella si basano su una ricerca effettuata in primo luogo su un supporto di laboratorio in condizioni ottimali e dovrebbero essere utilizzati solo come stime dell'impatto sui prodotti alimentari.
[b] La voce "condizioni ottimali" indica quando la crescita di L. monocitogenes è la più rapida.
[c] Il periodo di sopravvivenza varia a seconda della natura dei prodotti alimentari e di altri fattori.
[d] L'inibizione della L. monocitogenes dipende dal tipo di acido presente.
[e] Sulla base della percentuale di cloruro di sodio, fase acquosa.

3.3. Dati storici

I dati storici costituiscono un elemento dei registri conservati dall'impresa alimentare nel quadro delle sue attività correnti. Alcuni di questi dati sono raccolti dagli operatori del settore alimentare nel quadro dei loro obblighi legali in materia di sicurezza degli alimenti, come la tracciabilità, le procedure HACCP e i piani di controllo propri, compresa la qualità delle materie prime, il campionamento nelle zone di trasformazione e sulle apparecchiature (al fine di dimostrare l'efficacia dell'igiene sul lavoro e delle procedure di pulizia) e il test del prodotto, in particolare il giorno della sua produzione e al termine del suo periodo di conservabilità (rispettivamente per verificare il buon funzionamento del sistema HACCP e la

durabilità). I dati storici sono utili per definire il periodo di conservabilità degli alimenti pronti per i seguenti motivi:

- i dati storici indicano il livello di *L. monocitogenes* individuati nell'ambiente di produzione, nelle materie prime e negli alimenti pronti esistenti, nel quadro delle pratiche commerciali attuali in materia di corrette prassi igieniche e HACCP,

- i dati storici sui livelli di *L. monocitogenes* negli alimenti pronti esistenti all'inizio e alla fine del periodo di conservabilità possono essere utilizzati per valutare il suo potenziale di sviluppo negli alimenti pronti simili con caratteristiche intrinseche comparabili (pH, a_w, microflora, ecc.) prodotti in condizioni quasi identiche,

- i dati storici sui livelli di L. monocitogenes negli alimenti pronti esistenti all'inizio e alla fine del periodo di conservabilità sono ampiamente utilizzati anche nella pratica al fine di verificare la durabilità del prodotto e confermare che il periodo di conservabilità definita rimane valida in condizioni di stoccaggio, manipolazione e utilizzazione ragionevolmente previste, e

- i dati storici prodotti in un periodo determinato per alimenti pronti comparabili (come sopra) che continuano ad essere prodotti in permanenza possono essere utilizzati ai fini dell'analisi delle tendenze. Quando i livelli di *L. monocitogenes* negli alimenti pronti alla fine del periodo di conservabilità sono sistematicamente bassi o nulli, e nessun risultato ottenuto è superiore a 100 ufc/g, tali dati possono essere utilizzati in combinazione con dati di campionamento relativi alle zone di trasformazione e alle apparecchiature, e a dati sulla qualità delle materie prime al fine di garantire un livello di fiducia sufficiente dell'innocuità per la salute pubblica di tali alimenti. Questo livello di fiducia aumenta con il numero di dati disponibili. Più il numero di unità di prodotto sottoposto a prove è elevato, più i dati storici sono affidabili.

Gli operatori del settore alimentare devono convincere l'autorità competente che i loro dati storici sono sufficienti a dimostrare che il limite di 100 ufc/g non sarà superato durante il periodo di conservabilità. L'autorità competente può chiedere di completare questi dati con studi supplementari, come ad esempio studi di laboratorio sulla durabilità.

3.4. Microbiologia predittiva (modellizzazione)

3.4.1. *Caratteri generali*

La microbiologia predittiva (modellizzazione) ha lo scopo di predire il comportamento di microorganismi nei prodotti alimentari durante la loro fabbricazione o stoccaggio. Negli ultimi anni sono stati compiuti notevoli progressi nel settore della microbiologia predittiva, in particolare in materia di stima dello sviluppo della *L. monocitogenes* negli alimenti.

Esistono dati e modelli nella letteratura e questi modelli sono stati attuati in alcuni software conviviali. Alcuni di questi modelli sono stati elaborati al fine di predire il comportamento microbico quando le caratteristiche fisico-chimiche del prodotto alimentare (ad esempio, pH, attività dell'acqua, concentrazione di acidi organici) e la temperatura di stoccaggio sono noti. Alcuni modelli sono stati elaborati per predire il comportamento dei microorganismi in alcuni prodotti alimentari, quali che siano le loro condizioni di conservazione.

Alcuni modelli si basano sui dati ottenuti da ambienti microbiologici liquidi e sono utilizzati per descrivere l'impatto potenziale di vari fattori. Alcuni di questi modelli non consentono di descrivere precisamente il comportamento microbico negli alimenti, anche se l'utilizzazione dei modelli più affidabili di questo tipo è stata validata nei prodotti alimentari. I modelli che si basano sugli alimenti possono descrivere efficacemente l'impatto delle condizioni di conservazione per uno specifico prodotto alimentare, ma la loro capacità di descrivere l'impatto della variabilità delle caratteristiche fisico-chimiche del prodotto alimentare o di fare previsioni per altri alimenti è alquanto dubbia. Sono stati anche messi a punto alcuni approcci intermedi al fine di superare i limiti di questi due approcci principali.

Malgrado tali limiti, i modelli predittivi rimangono strumenti preziosi per stimare lo sviluppo della *L. monocitogenes* negli alimenti, purché tali limiti siano noti. I modelli di crescita/non crescita che predicono la probabilità di sviluppo della *L. monocitogenes* negli alimenti possono aiutare le imprese del settore alimentare a classificare i loro prodotti in varie categorie.

I modelli che predicono tempi di latenza e i tassi di crescita microbici negli alimenti possono aiutare gli operatori del settore alimentare a valutare lo sviluppo della *L. monocitogenes* nei prodotti alimentari durante lo stoccaggio, prendendo in considerazione la variabilità del ceppo, la trasformazione e la variabilità inerenti dei prodotti alimentari e le condizioni di stoccaggio.

I modelli microbiologici predittivi devono essere utilizzati con prudenza e unicamente da personale formato e qualificato, che conosca i loro limiti e le loro condizioni di utilizzazione. Un esempio di modellizzazione microbiologica predittiva viene fornito nell'allegato 5.3.

3.4.2. *Applicazione pratica della microbiologia predittiva*

La microbiologia predittiva può essere utilizzata per le seguenti applicazioni:

- predire la crescita batterica in varie condizioni,
- predire la probabilità di sviluppo di microorganismi negli alimenti,
- stimare il livello di contaminazione per un giorno determinato del periodo di conservabilità,
- testare la variabilità tra 2 lotti,

- ottimizzare la formulazione (additivi, pH, sale) al fine di garantire la migliore stabilità,
- valutare l'impatto delle rotture della catena del freddo e sottoporre a verifica diversi scenari di stoccaggio, e
- aiutare a identificare i punti di controllo critici in un processo.

Elenchiamo qui alcuni modelli disponibili ampiamente riconosciuti e utilizzati, anche se questo elenco non intende essere esaustivo:

- indicatore di crescita
  disponibile gratuitamente presso l'Institute of Food Research, Regno Unito (Istituto britannico della ricerca alimentare) (www.Ifr.ac.uk/safety/growthpredictor),
- Programma di modellizzazione patogena
  disponibile gratuitamente presso il Ministero dell'Agricoltura degli Stati Uniti, Servizio della ricerca agricola (http://ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=6786).

Altri software sono disponibili in commercio. I calcoli e le illustrazioni degli allegati 5.3 e 5.4 sono realizzati mediante un software commerciale.

3.5. Studi specifici di laboratorio sul periodo di conservabilità al fine di esaminare la conformità ai criteri per la *Listeria monocitogenes* negli alimenti pronti durante tutto il periodo di conservabilità

3.5.1. *Caratteri generali*

Questa sezione descrive le procedure microbiologiche che consentono di determinare lo sviluppo della *L. monocitogenes* a partire dagli studi sulla durabilità e dai test di provocazione (figura 2.). I test di provocazione possono a loro volta essere suddivisi in due categorie: la valutazione del potenziale di crescita (δ) e la valutazione del tasso di crescita massimo (μ_{max}).

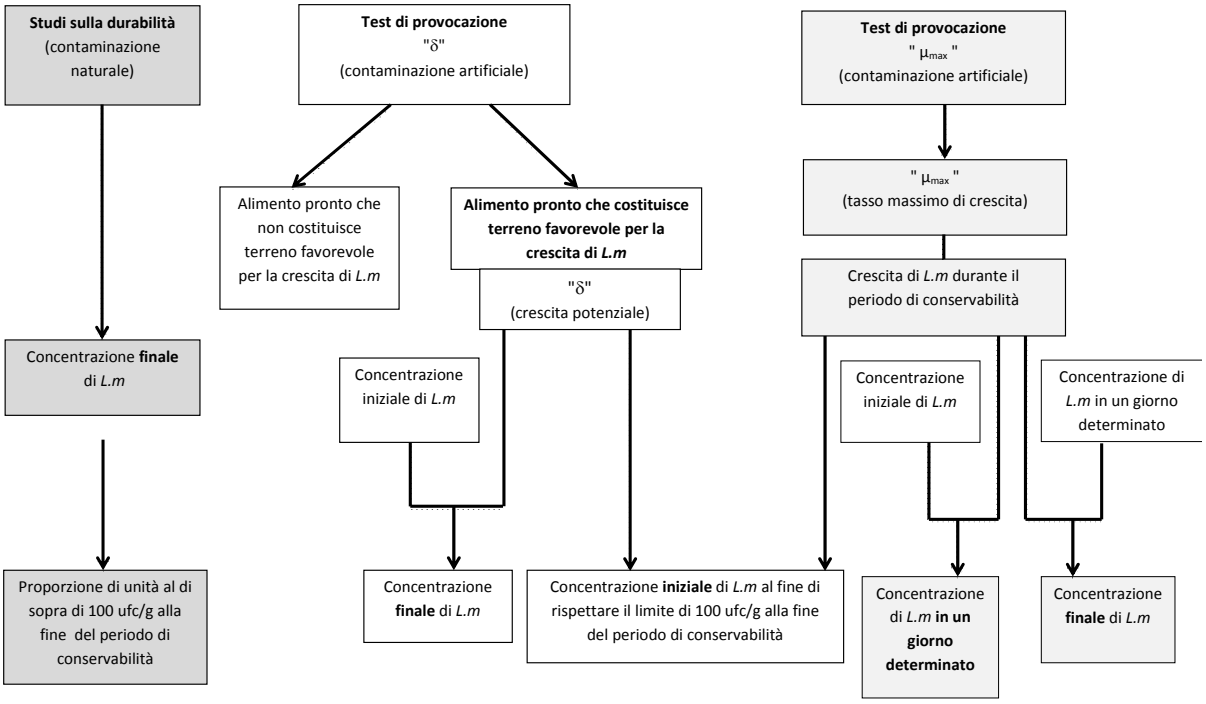

Figura 2. Descrizione degli studi sulla durabilità e dei test di provocazione.

Ulteriori particolari sulla metodologia del calcolo dei risultati sono disponibili nel "Documento di orientamento tecnico relativo agli studi sulla durata di vita della *Listeria monocitogenes* negli alimenti pronti" (Laboratorio comunitario di riferimento *Listeria monocitogenes*).

3.5.2. *Studi sulla durabilità*

3.5.2.1. Finalità e limiti degli studi sulla durabilità

Gli studi sulla durabilità permettono di valutare la crescita della *L. monocitogenes* in un alimento naturalmente contaminato durante lo stoccaggio in condizioni ragionevolmente prevedibili.

Gli studi sulla durabilità sono più realisti dei test di provocazione, poiché la contaminazione (in altri termini il ceppo o i ceppi, la lesione o lo stress, la loro distribuzione e la concentrazione iniziale di *L. monocitogenes*) è naturale.

L'interpretazione dei risultati degli studi sulla durabilità può risultare difficile poiché vi può essere una prevalenza relativamente bassa di unità di un prodotto alimentare contaminato da *L. monocitogenes,* un numero molto basso di *L. monocitogenes* spesso inizialmente presente e una eterogeneità della distribuzione di *L. monocitogenes* nel prodotto alimentare. Per questo motivo è spesso necessario utilizzare altri strumenti, come il test di provocazione.

3.5.2.2. Interpretazione dei risultati degli studi sulla durabilità

Uno storico degli studi sulla durabilità realizzati per lo stesso prodotto nell'ambito dello stesso processo, rappresentativi della variabilità delle condizioni di fabbricazione, consente di valutare alla fine del test i livelli di *L. monocitogenes* nel prodotto alimentare. Questi studi possono anche essere utilizzati per valutare la proporzione (con il relativo intervallo di fiducia) di unità (unità commerciali) che superano il valore limite di 100 ufc/g al termine del periodo di conservabilità, dopo un periodo di stoccaggio che riflette le condizioni prevedibili di distribuzione e stoccaggio. Il livello di fiducia aumenta con la quantità di dati disponibili. Più il numero di unità di prodotti testati è elevato, più lo studio del periodo di conservabilità è affidabile.

3.5.3. *Test di provocazione*

3.5.3.1. Finalità e limiti dei test di provocazione

L'oggetto dei test di provocazione consiste nel fornire informazioni sul comportamento della *L. monocitogenes* artificialmente inoculata in un prodotto alimentare prima dello stoccaggio in condizioni date. I test possono essere realizzati per due diversi scopi: valutare il potenziale di crescita o stimare i parametri di crescita (ad esempio, il tasso di crescita massimo).

I test di provocazione possono prendere in considerazione la variabilità dei prodotti alimentari (utilizzando diversi lotti) e la contaminazione specifica del prodotto alimentare (inoculando ceppi isolati a partire dal prodotto alimentare), ma il livello di contaminazione, la sua eterogeneità e lo stato fisiologico dei batteri sono difficili da riprodurre.

- I test di provocazione microbiologica che valutano il potenziale di crescita (δ) consentono:
    - la classificazione dei prodotti alimentari in "alimenti pronti che costituiscono un terreno favorevole per la crescita di *L. monocitogenes* destinati all'alimentazione dei lattanti o a fini medici speciali" o "alimenti pronti che non costituiscono un terreno favorevole per la crescita di *L. monocitogenes* diversi da quelli destinati all'alimentazione dei lattanti o a fini medici speciali" e
    - la quantificazione del comportamento della *L. monocitogenes* in un prodotto alimentare conformemente alle condizioni definite ragionevolmente prevedibili tra la produzione e il consumo (vale a dire il calcolo della concentrazione al termine del periodo di conservabilità a partire dalla concentrazione iniziale, o la determinazione della concentrazione all'inizio del periodo di conservabilità al fine di rispettare il limite di 100 ufc/g al termine del periodo di conservabilità).

- I test di provocazione microbiologica che valutano il potenziale di crescita massimo (μ_{max}) consentono:
    - di determinare la concentrazione di *L. monocitogenes* in un giorno determinato del periodo di conservabilità se la concentrazione iniziale è nota, e
    - di determinare la concentrazione massima di *L. monocitogenes* che può essere presente durante la fase di produzione al fine di rispettare i limiti di 100 ufc/g al termine del periodo di conservabilità.

3.5.3.2. Interpretazione dei risultati dei test di provocazione

Test di provocazione che valuta il potenziale di crescita

Un test di crescita microbiologica che valuta il potenziale di crescita (δ) è uno studio di laboratorio che misura la crescita di *L. monocitogenes* in un prodotto alimentare artificialmente contaminato, conservato in condizioni di trasporto, di distribuzione e di stoccaggio ragionevolmente prevedibili sino al suo consumo.

Il potenziale di crescita (δ) è la differenza tra il logaritmo$_{10}$ ufc/g alla fine del test e il logaritmo$_{10}$ ufc/g all'inizio del test. Questo potenziale δ dipende da numerosi fattori, i più importanti dei quali sono:

- il ceppo o i ceppi inoculati,
- la lesione o lo stress applicato al ceppo o ai ceppi inoculati,
- le proprietà intrinseche del prodotto alimentare (ad esempio pH, tenore di NaCl, a_w, profilo nutrizionale, microflora associata, componenti antimicrobici) e
- le proprietà estrinseche (ad esempio, profilo di temperatura, atmosfera gassosa).

Ulteriori particolari relativi al calcolo dei risultati sono disponibili nel documento di orientamento tecnico del laboratorio comunitario di riferimento.

Se il livello iniziale di contaminazione di *L. monocitogenes* è noto, il potenziale di crescita permette di stimare la concentrazione finale per un prodotto alimentare identico, un ceppo identico e le stesse condizioni di stoccaggio. Il potenziale di crescita può anche essere utilizzato per calcolare la concentrazione iniziale del prodotto alimentare e permette a questo prodotto di rispettare il limite di 100 ufc/g al termine del periodo di conservabilità.

Test di provocazione che valuta il tasso di crescita massimo

Un test di crescita microbiologica che valuta il tasso di crescita massimo (μ_{max}) è uno studio di laboratorio che misura il tasso di crescita di *L. monocitogenes* in un

prodotto alimentare artificialmente contaminato, immagazzinato in condizioni prevedibili a una temperatura determinata.

Per la crescita esponenziale, il tracciato del logaritmo naturale del numero di cellule in funzione della durata genera una linea retta. La pendenza di questa linea costituisce il tasso di crescita massimo (μ_{max}) dei batteri. Il tasso di crescita massimo è un parametro importante della curva di crescita che dipende:

- dal ceppo o dai ceppi inoculati,
- dalle proprietà intrinseche del prodotto alimentare (ad esempio pH, tenore di NaCl, a_w, profilo nutrizionale, microflora associata, componenti antimicrobici) e
- dalle proprietà estrinseche (ad esempio, profilo di temperatura, atmosfera gassosa).

L'interpretazione dei test di provocazione è spiegata con maggiori dettagli nel documento di orientamento tecnico del laboratorio comunitario di riferimento.

3.6. Valutazione del periodo di conservabilità che combina i vari disponibili

È possibile distinguere tra due approcci diversi: approccio "caso unico" e approccio "basato sul rischio" (figura 3).

L'approccio "caso unico" presuppone che, in caso di contaminazione, il prodotto alimentare contenga in origine un numero dato di cellule batteriche, che questo alimento possieda caratteristiche fisse e sia stoccato in condizioni statiche. Generalmente questo approccio fornisce informazioni limitate e insufficienti poiché queste condizioni non tengono conto della variabilità naturale dei parametri suscettibili di avere un impatto sulla contaminazione al termine del periodo di conservabilità. La contaminazione da *L. monocitogenes* può infatti avere diverse evoluzioni a seconda:

- del livello di contaminazione iniziale (concentrazione iniziale bassa o elevata),
- dello stato fisiologico delle cellule contaminanti (stress batteriologico che genera un tempo di latenza più o meno lungo),
- della capacità di crescita del ceppo batterico che contamina il prodotto alimentare,
- delle caratteristiche del prodotto alimentare (variabilità del pH tra lotti o all'interno di lotti, attività dell'acqua), e
- delle condizioni di stoccaggio, dalla distribuzione sino al frigorifero domestico.

Questo approccio può portare a determinare un periodo di conservabilità:

- eccessivamente corto nello "scenario più pessimistico", il che significa che le ipotesi dello studio sono troppo prudenti (le contaminazioni più elevate, i ceppi a crescita più rapida, l'assenza di tempi di latenza, il prodotto alimentare più favorevole alla crescita, le temperature di stoccaggio più elevate), o
- al contrario pericolosamente lungo se, ad esempio, tutte le condizioni di distribuzione, di stoccaggio, e di utilizzazione ragionevolmente prevedibili non sono prese in considerazione.

Questo approccio può tuttavia essere sufficiente a dimostrare, nello "scenario più pessimistico", che il prodotto alimentare rispetta il limite al termine del periodo di conservabilità. Gli operatori del settore alimentare possono in tal modo stimare la contaminazione massima finale al termine del periodo di conservabilità quando la contaminazione iniziale è massima, con un potenziale di crescita massimo e nelle peggiori condizioni di stoccaggio.

Se la contaminazione massima stimata non supera il limite, il periodo di conservabilità può essere considerato sicuro. Al contrario, se questa contaminazione

massima supera il limite, il periodo di conservabilità deve essere abbreviato o gli operatori del settore alimentare devono esaminare la probabilità di superare il limite del periodo di conservabilità considerato e determinare se questa probabilità è accettabile o no. In questo caso, deve essere utilizzato un approccio basato sul rischio per stimare la distribuzione della contaminazione al termine del periodo di conservabilità per tutte le condizioni ragionevolmente prevedibili. Gli operatori del settore alimentare devono inoltre prevedere di migliorare le condizioni d'igiene dei locali e/o lo status microbiologico degli ingredienti, dando una nuova valutazione del periodo di conservabilità.

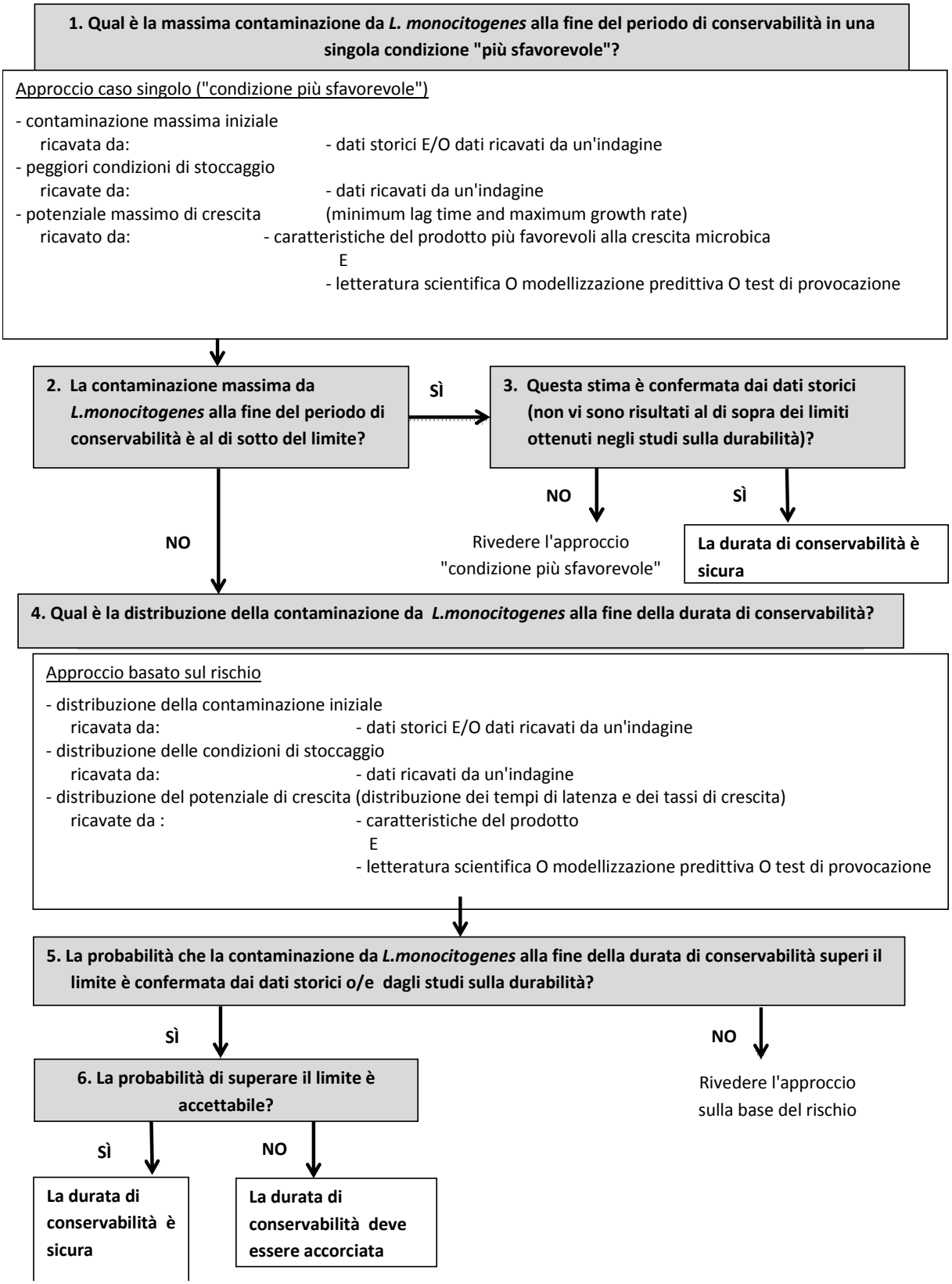

Figura 3. Albero decisionale che descrive il metodo di combinazione per la decisione sul periodo di conservabilità (vari esempi sono forniti nell'allegato 5.4.).

3.7. Collaborazione tra imprese del settore alimentare

Se necessario, gli operatori del settore alimentare effettuano studi (determinazione delle caratteristiche fisico-chimiche del prodotto, modelli matematici predittivi, dati storici, prove sulla durabilità o test di provocazione) al fine di esaminare se i criteri sono rispettati durante tutto il periodo di conservabilità. Le imprese del settore alimentare possono cooperare all'effettuazione di questi studi. Nonostante questa collaborazione, è essenziale che gli operatori del settore alimentare tengano conto dell'ambiente di ciascuna delle linee produttive del fabbricante.

Gli operatori del settore alimentare che fabbricano prodotti simili in condizioni simili possono utilizzare i risultati degli stessi studi. Tuttavia, al fine di utilizzare lo stesso o gli stessi studi per alimenti prodotti in impianti alimentari diversi, è opportuno prendere in considerazione i seguenti aspetti:

- i prodotti devono presentare le stesse caratteristiche (pH, a_w, tenore di sale, concentrazione di conservanti, sistema di imballaggio, microflora associata o qualunque altra caratteristica importante per la sopravvivenza e lo sviluppo della *L. monocitogenes*) affinché questi studi valgano per tali prodotti. Se una o più caratteristiche sono diverse, gli studi non possono essere utilizzati senza determinare l'effetto di queste caratteristiche diverse sulla sopravvivenza e la crescita della *L. monocitogenes*;

- la ricetta del prodotto deve essere identica e, in caso contrario, gli ingredienti devono essere oggetto di una valutazione per determinare il loro effetto sulla crescita della *L. monocitogenes*;

- il processo produttivo dei prodotti deve essere simile. Le fasi di questo processo devono essere confrontate in dettaglio ed è opportuno determinare l'effetto di qualunque differenza nel processo produttivo sulla sopravvivenza e la crescita. Gli studi devono tenere conto della variabilità inerente collegata al prodotto;

- le condizioni di stoccaggio e il periodo di conservabilità devono essere simili e, in caso contrario, le differenze devono essere esaminate al fine di determinare il loro effetto sulla crescita della *L. monocitogenes*, e

- la microflora associata (colture di avviamento) deve essere identica e, in caso contrario, avere lo stesso effetto sulla *L. monocitogenes*.

Gli operatori del settore alimentare devono dimostrare all'autorità competente che i prodotti e la trasformazione dei prodotti sono simili e, se i prodotti non sono simili, gli operatori del settore alimentare devono poter determinare quali sono le differenze e il loro effetto sulla sopravvivenza e la crescita della *L. monocitogenes.* Gli operatori del settore alimentare possono utilizzare la letteratura scientifica e i dati ricavati dalla ricerca come documenti di consultazione.

4. DOCUMENTI RELATIVI AGLI STUDI DEDICATI AL PERIODO DI CONSERVABILITÀ

Gli operatori del settore alimentare devono conservare i documenti relativi agli studi sul periodo di conservabilità e sulla loro verifica nel quadro delle loro procedure in materia di corrette prassi igieniche e di HACCP. Questi documenti devono comprendere tutti i dati necessari (caratteristiche del prodotto, letteratura scientifica utilizzata e tipi e risultati di altri studi sul periodo di conservabilità) utilizzati per determinare il periodo di conservabilità.

È essenziale che questi documenti siano facilmente consultabili, ad esempio affinché gli operatori del settore alimentare siano in grado di dimostrare, con soddisfazione dell'autorità competente, che i loro prodotti sono conformi al regolamento comunitario sino alla fine del periodo di conservabilità. Gli operatori del settore alimentare possono scegliere il formato di questi documenti.

5. ALLEGATI

5.1. Definizioni

Partita

Un gruppo o una serie di prodotti identificabili ottenuti mediante un determinato processo in circostanze praticamente identiche, in un luogo determinato entro un periodo di produzione definito.

Criterio di sicurezza alimentare

Un criterio che definisce l'accettabilità di un prodotto o di una partita di prodotti alimentari applicabile ai prodotti immessi sul mercato.

Corrette prassi igieniche

Conformità con tutti i requisiti ed obblighi legali e applicazione delle regole di igiene basate su conoscenze scientifiche al fine di ottenere prodotti alimentari sicuri durante il processo produttivo quando tali prodotti sono immessi sul mercato.

Analisi dei pericoli e punti critici di controllo (HACCP)

Un sistema che identifica, valuta e controlla i pericoli che sono significativi per la sicurezza dell'alimento. Un punto critico di controllo è una fase nella quale il controllo può essere messo in atto ed è essenziale per prevenire, eliminare o ridurre a un livello accettabile il pericolo per la sicurezza dell'alimento.

pH

Una misura dell'acidità o dell'alcalinità di un prodotto alimentare. Il pH 7 è definito come neutro. Valori inferiori a sette sono considerati acidi mentre valori superiori a sette sono considerati basici (o alcalini).

Alimenti pronti

Prodotti alimentari destinati dal produttore o dal fabbricante al consumo umano diretto, senza che sia necessaria la cottura o altra lavorazione per eliminare o ridurre a livello accettabile i microorganismi presenti.

Periodo di conservabilità

Il periodo che precede la data di scadenza o il termine minimo di conservazione dei prodotti, così come definito rispettivamente negli articoli 9 e 10 della direttiva 2000/13/CE concernente, fra l'altro, l'etichettatura dei prodotti alimentari.

Attività dell'acqua (a_w)

Il termine designa l'acqua libera o monocellulare contenuta nei prodotti alimentari, diversa dal tenore di acqua dell'alimento. L'acqua contenuta nei prodotti alimentari che non è collegata ad altre molecole può incrementare la crescita di microbi. L'attività dell'acqua può avere valori che vanno da 0 a 1,0 (acqua pura) ma la maggior parte dei prodotti alimentari presenta un'attività dell'acqua intorno allo 0,2 per i prodotti alimentari molto secchi e di 0,99 per i prodotti alimentari freschi e umidi.

Validazione

Un processo o uno studio in base al quale si prova che un metodo o un processo è accettabile per la sua utilizzazione specifica, e che attesta che gli elementi del piano HACCP sono efficaci.

Verifica

Dimostrazione mediante esperimento che un metodo o un processo stabilito funziona nelle mani dell'utilizzatore conformemente alle specifiche del metodo o del processo definiti nello studio di validazione. Il termine designa anche l'applicazione di metodi, procedure, test e altre valutazioni, oltre al monitoraggio che consente di determinare la conformità con il piano HACCP.

Giorno 0

Data di produzione o dell'imballaggio.

Fine del periodo di conservabilità

Ultimo giorno del periodo di conservabilità così come definito dagli operatori del settore alimentare e indicato sul prodotto dalla data che segue la dicitura "da consumare entro" o "da consumarsi preferibilmente entro il".

5.2. Esempi delle fasi necessarie alla decisione per gli studi sul periodo di conservabilità

Le seguenti domande sono collegate alla figura 1 del testo principale del presente documento.

Domanda 1:

La prima domanda alla quale devono rispondere gli operatori del settore alimentare consiste nel sapere se esistono prove che il prodotto è cotto o trasformato in modo efficace al fine di eliminare o ridurre la *L. monocitogenes* a un livello accettabile prima del consumo. In questo caso, non è applicabile all'alimento alcun criterio specifico relativo alla *L. monocitogenes* poiché il prodotto alimentare non è considerato come un alimento pronto. La sicurezza dei prodotti alimentari deve essere gestita ricorrendo alle corrette prassi igieniche e alle procedure basate sui principi HACCP, che devono comprendere il controllo dello status microbiologico della materia prima (minimizzando in tal modo la contaminazione iniziale a livello della fabbricazione), il controllo del processo produttivo, ecc.

Domanda 2:

La seconda domanda alla quale devono rispondere gli operatori del settore alimentare consiste nel sapere se esistono prove che la *L. monocitogenes* è probabilmente assente dal prodotto alimentare o la sua crescita è limitata. In circostanze normali, e conformemente alla nota 4 dell'allegato I, del regolamento (CE) n. 2073/2005, i seguenti alimenti pronti possono appartenere a questa categoria:

- alimenti che sono stati sottoposti a trattamento termico o ad altra trasformazione avente come effetto l'eliminazione di *L. monocitogenes*, 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, e

- molluschi bivalvi vivi.

Per questi prodotti, i test effettuati per individuare la *L. monocitogenes* non sono necessari in circostanze normali. La sicurezza dei prodotti alimentari è gestita attraverso il monitoraggio del processo produttivo ai punti di controllo critici (ad

esempio, il trattamento termico). I test effettuati per individuare la *L. monocitogenes* al termine del periodo di conservabilità possono essere utilizzati per verificare l'efficacia del piano HACCP.

Domanda 3:

Al momento della produzione o della manipolazione dei prodotti destinati ai lattanti o dei prodotti alimentari dietetici destinati a fini medici specifici, è opportuno applicare un criterio specifico per la *L. monocitogenes* (assenza in 25 g, n=10, c=0).

Domanda 4:

Se gli operatori del settore alimentare sono in possesso di prove scientifiche che la *L. monocitogenes* non si sviluppa nel prodotto, il limite di 100 ufc/g *L. monocitogenes* deve essere applicato quando il prodotto è sul mercato.

Conformemente alla nota 8 dell'allegato I, del regolamento (CE) n. 2073/2005, i seguenti prodotti appartengono direttamente a questa categoria:

- prodotti con pH $\leq$ 4,4 o $a_w \leq$ 0,92,
- prodotti con pH $\leq$ 5,0 e $a_w \leq$ 0,94,
- prodotti con un periodo di conservabilità inferiore a cinque giorni,
- prodotti congelati,
- altri prodotti purché vi sia una giustificazione scientifica.

Anche i prodotti menzionati nella nota 4 del regolamento sono considerati tali da non consentire la crescita della *L. monocitogenes* (si veda la domanda 2).

Altre categorie di prodotti possono essere inserite in questo gruppo purché vi sia una giustificazione scientifica.

Conformemente alle procedure HACCP, la sicurezza dei prodotti alimentari è gestita mediante il monitoraggio dei punti di controllo critici fissati (ad esempio, sorveglianza dei fattori intrinseci del prodotto, come a_w e pH). Il controllo dei livelli iniziali di contaminazione delle materie prime e degli ingredienti, oltre alle corrette prassi igieniche (contaminazione incrociata, ecc.), devono garantire che il livello di *L. monocitogenes* sia di 100 ufc/g durante il periodo di conservabilità del prodotto.

Domande 5 e 6:

Quando la crescita della *L. monocitogenes* nel prodotto non può essere esclusa dalla documentazione scientifica o secondo quanto indicato alle note 4 e 8 del regolamento, gli operatori del settore alimentare devono effettuare studi specifici al fine di esaminare se i criteri sono rispettati durante tutto il periodo di conservabilità

utilizzando i dati storici, la modellizzazione predittiva, le prove sulla durabilità e i test di provocazione.

Dopo che questi studi sono stati effettuati conformemente al metodo sopra descritto e si è in possesso dei dati pertinenti, i quali provano che il prodotto alimentare non conterrà più 100 ufc/g di *L. monocitogenes* al termine del periodo di conservabilità, gli operatori del settore alimentare possono dimostrare il rispetto del limite di 100 ufc/g. La sicurezza dei prodotti alimentari deve essere gestita mediante l'applicazione delle corrette prassi igieniche, l'attuazione e il monitoraggio dei punti di controllo critici, nonché il controllo del livello di contaminazione microbiologica iniziale delle materie prime e degli ingredienti. Le prove effettuate per individuare la *L. monocitogenes* devono essere utilizzate per verificare le corrette prassi igieniche e le procedure basate sui principi HACCP.

Quando i dati indicano che il limite di 100 ufc/g è suscettibile di essere superato al termine del periodo di conservabilità, gli operatori del settore alimentare non possono dimostrare il rispetto del regolamento e, conformemente ai principi HACCP, il processo produttivo e la determinazione iniziale del periodo di conservabilità devono essere rivisti e migliorati. Questo processo deve comprendere il controllo della qualità microbiologica delle materie prime e degli ingredienti, la riduzione della potenziale crescita della *L. monocitogenes,* l'adeguamento dei fattori intrinseci del prodotto finale, un trattamento termico supplementare, ecc.

Domanda 7:

Quando un test di provocazione è stato realizzato come indicato nel documento di orientamento tecnico e nessun potenziale di crescita è stato scoperto durante il periodo di conservabilità stimato, il limite di 100 ufc/g deve applicarsi a questo prodotto. La sicurezza dei prodotti alimentari deve essere gestita ricorrendo alle corrette prassi igieniche e alle procedure basate sui principi HACCP. Le prove effettuate per individuare la *L. monocitogenes* devono essere utilizzate per verificare l'efficacia del monitoraggio dei punti di controllo critici.

Quando il test di provocazione mostra che la crescita di *L. monocitogenes* è possibile, secondo quanto indicato nel documento di orientamento tecnico, gli operatori del settore alimentare devono adeguare il periodo di conservabilità al fine di garantire il rispetto del limite di 100 ufc/g durante il periodo di conservabilità del prodotto. I controlli effettuati per la *L. monocitogenes* applicando questo criterio devono essere utilizzati per verificare le corrette prassi igieniche e le procedure basate sui principi HACCP.

> Quando non vi sono informazioni disponibili sul prodotto e l'eventuale crescita di L. *monocitogenes* nel prodotto, non può essere garantito il rispetto dei criteri relativi alla *L. monocitogenes* e pertanto neppure la sicurezza del prodotto alimentare. In questo caso, il processo produttivo, compresi i requisiti applicabili alle materie prime, agli ingredienti, ecc., deve essere oggetto di revisione e di miglioramento, conformemente ai principi HACCP. Gli operatori del settore alimentare devono rispettare il limite di assenza in 25g prima che il prodotto lasci il produttore.

5.3. Esempio di utilizzazione della microbiologia predittiva

È possibile prevedere i parametri di crescita per altre temperature di stoccaggio a partire dai parametri di crescita della *L. monocitogenes* osservati in un prodotto alimentare ad una temperatura di stoccaggio data. Ad esempio, a partire dal tasso di crescita di 0,17 $\log_{10}$ ufc/g al giorno ed un tempo di latenza di 3,1 giorni ottenuto per un prodotto alimentare a 8 °C, è possibile prevedere i parametri di crescita nello stesso prodotto alimentare a 4 °C, 6 °C, e 10 °C.

- a 4 °C, il tasso di crescita è di 0,06 $\log_{10}$ ufc/g al giorno e il tempo di latenza 8,8 giorni,
- a 6 °C, il tasso di crescita è di 0,11 $\log_{10}$ ufc/g al giorno e il tempo di latenza 4,8 giorni,
- a 10 °C, il tasso di crescita è di 0,25 $\log_{10}$ ufc/g al giorno e il tempo di latenza 2,1 giorni.

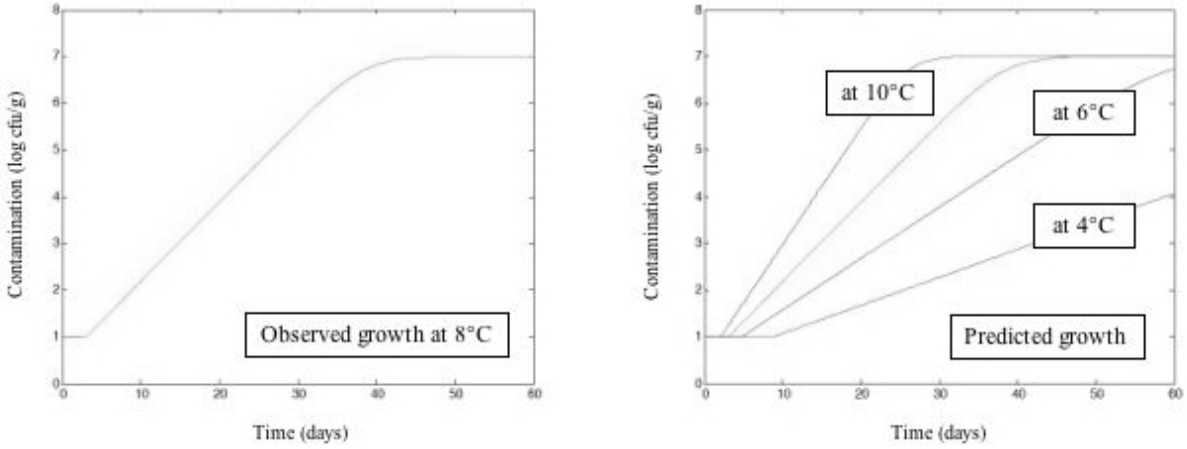

Figura 4. Esempio di microbiologia predittiva.

5.4. Esempi di valutazione del periodo di conservabilità che utilizza un approccio che combina i vari strumenti disponibili

Caratteristiche del prodotto utilizzate per i seguenti esempi 1-3:

- pH medio = 5.97 ± 0.05
- a_w medio = 0.960 ± 0.012
- contaminazione massima iniziale[7] = 1 ufc/g

Il tasso di crescita massimo (μ_{max}) e il tempo di latenza per un prodotto identico con pH = 6,03 e a_w = 0,959 a 10 °C (dati ricavati dalla letteratura o dalla modellizzazione predittiva o dai test di provocazione):

- μ_{max} = 0,3 $\log_{10}$ ufc/g al giorno
- tempo di latenza = 4,4 giorni.

1. Periodo di conservabilità di 10 giorni a 6 °C (approccio "caso unico")

Questo esempio descrive un approccio "caso unico" per un periodo di conservabilità di 10 giorni e una temperatura di stoccaggio di 6 °C.

Per una temperatura massima di stoccaggio di 6 °C, il tempo di latenza medio è di 14 giorni e il tasso di crescita medio è di 0,12 $\log_{10}$ ufc/g al giorno. La presa in considerazione delle caratteristiche fisico-chimiche del prodotto e del comportamento dei ceppi di *L. monocitogenes* consente di valutare:

- il tempo di latenza minimo[7] = 5,4 giorni
- il tasso di crescita massimo[7] = 0,20 $\log_{10}$ ufc/g al giorno.

Per una concentrazione massima iniziale di 1 ufc/g (vale a dire 0 $\log_{10}$ ufc/g) la concentrazione finale è di:

$$0 + (10 - 5{,}4) \times 0{,}20 = 0{,}92 \log_{10} \text{ufc/g vale a dire 8 ufc/g.}$$

Anche per un tempo di latenza uguale a zero, la concentrazione finale è di:

$$0 + 10 \times 0{,}20 = 2 \log_{10} \text{ufc/g vale a dire 100 ufc/g.}$$

[7] Massimo o minimo = in questo caso, probabilità molto bassa (<5%) di superare questo valore.

In questo caso, l'approccio "caso unico" è sufficiente a dimostrare che il limite di 100 ufc/g non è superato al termine del periodo di conservabilità.

2. Periodo di conservabilità di 28 giorni con 10 giorni a 4 °C e 18 giorni a 8 °C

Approccio "caso unico"

- tasso di crescita massimo[7] ($\log_{10}$ ufc/g al giorno) : 0,10 a 4 °C e 0,33 a 8 °C
- tempo di latenza minimo[7]: 11 giorni a 4 °C e 0,4 giorni a 8 °C (dopo 10 giorni a 4 °C)

Concentrazione finale:

$0 + (18 – 0,4) \times 0,33 = 5,8 \log_{10}$ ufc/g vale a dire $6,4 \times 10^5$ ufc/g.

In questo caso, un approccio "caso unico" mostra che il limite di 100 ufc/g è notevolmente superato al termine del periodo di conservabilità. È opportuno utilizzare un approccio basato sul rischio al fine di prendere in considerazione la variabilità inerente del prodotto e di valutare la probabilità di superare il limite.

Approccio basato sul rischio

Unità di vendita = 200 g

La contaminazione iniziale è valutata a partire dai dati storici delle analisi microbiologiche: 2% di risultati positivi nei campioni di 25g. Supponendo una distribuzione omogenea della contaminazione nel prodotto, il 27% delle unità di vendita di 200g sono contaminate da almeno 1 ufc/g per unità.

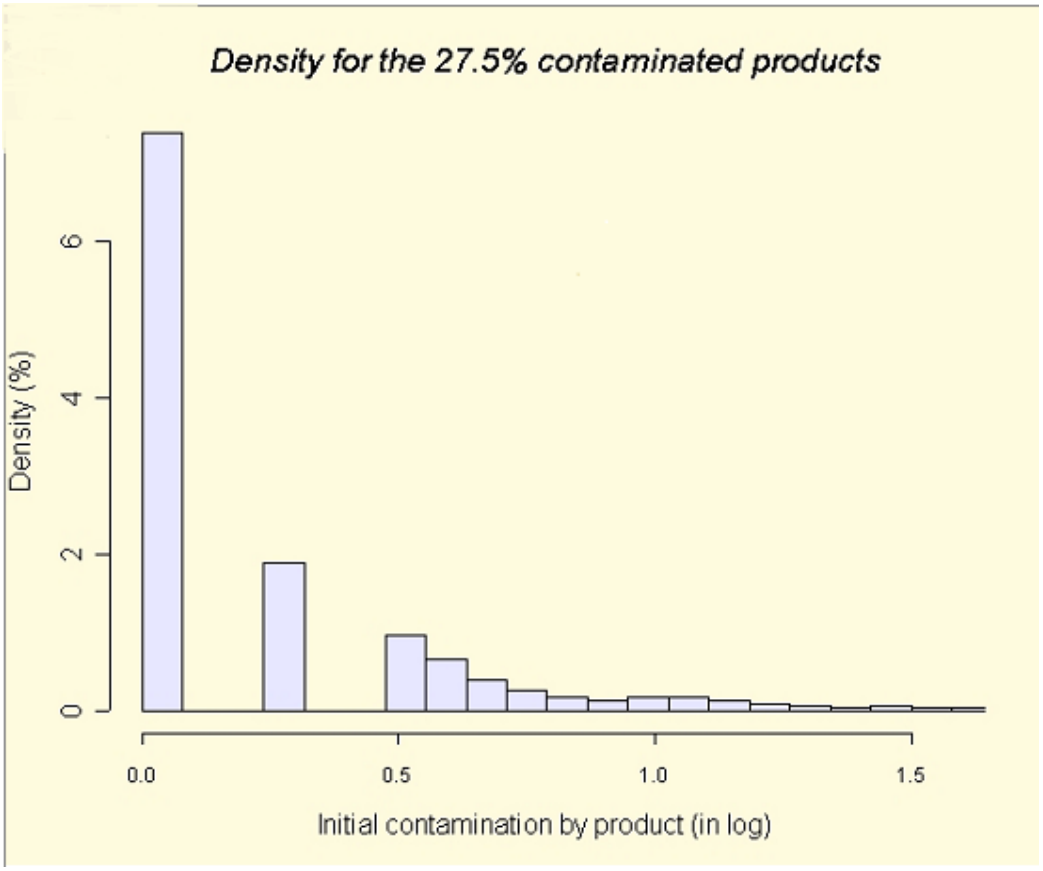

Figura 5. Valutazione di distribuzione della contaminazione iniziale dei prodotti alimentari

I tassi di crescita sono compresi (95% dei casi):

- a 4 °C, tra 0 e 0,10 $\log_{10}$ ufc/g al giorno, con una media di 0,04
- a 8 °C, tra 0 e 0,33 $\log_{10}$ ufc/g al giorno, con una media di 0,20

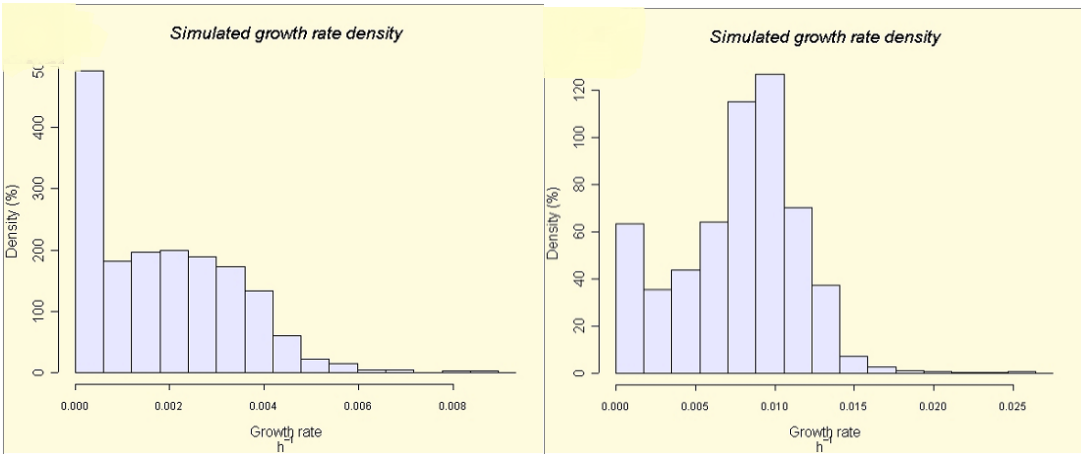

Figura 6. Variabilità del tasso di crescita ($\log_{10}$ cfu/h) a 4 °C (a sinistra) e 8 °C (a destra)

Il tempo di latenza si situa tra 11 e 200 giorni a 4 °C con una media di 45 giorni. Il tempo di latenza residuo a 8 °C compreso tra 0,4 e più di 1000 giorni, con una media di 6,6 giorni.

La concentrazione finale delle unità contaminate da 200 g dopo 10 giorni a 4 °C seguiti da 18 giorni a 8 °C è compresa tra 0,005 ufc/g e $3{,}10^3$ ufc/g, con una media di 5 ufc/g.

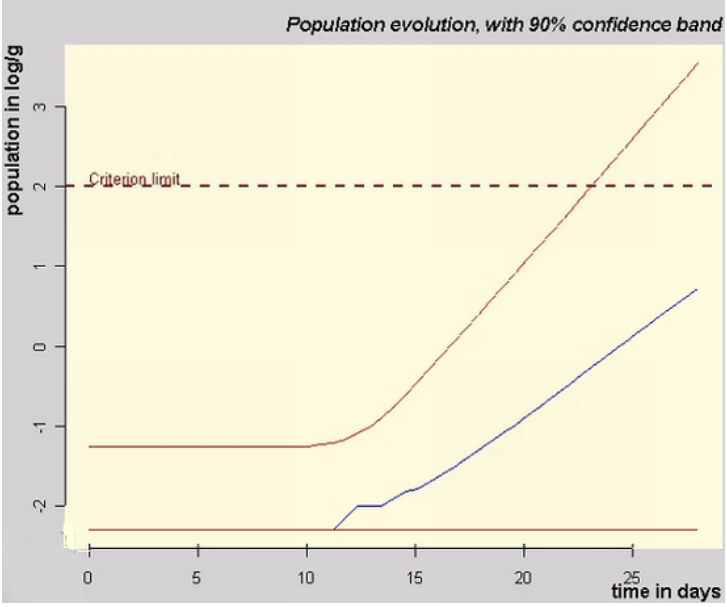

Figura 7. Simulazione di crescita con intervallo di confidenza (curva superiore e linee rette inferiori), compresa la variabilità inerente al microorganismo, ai fattori fisico-chimici e alla contaminazione iniziale.

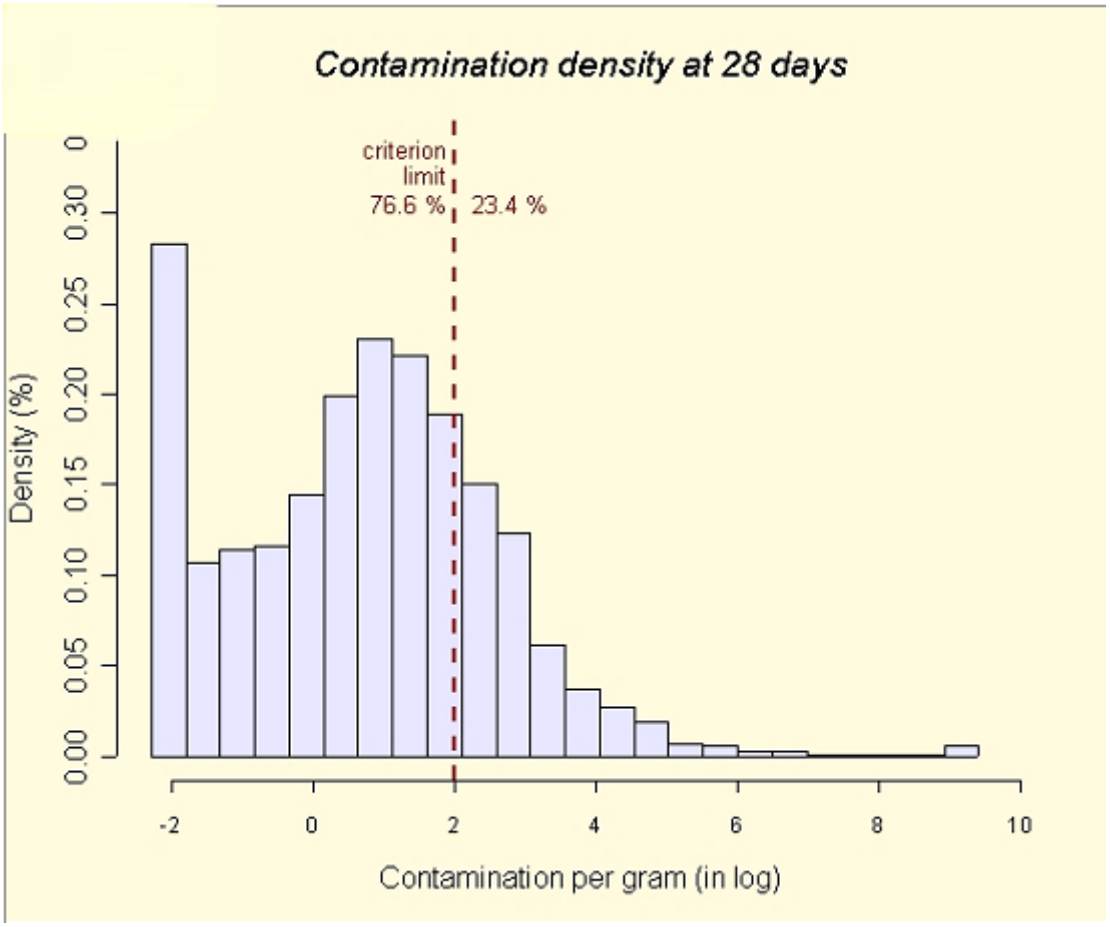

Figura 8. Distribuzione della popolazione a 28 giorni, compresa la variabilità inerente al microorganismo, ai fattori fisico-chimici e alla contaminazione iniziale.

Questi dati permettono di calcolare che il 23,4% delle unità contaminate da 200g superano il limite di 100 ufc/g, vale a dire 6,4% del totale delle unità fabbricate.

3. Periodo di conservabilità di 21 giorni con 1/3 a 4 °C e 2/3 a 8 °C

Approccio "caso unico"

Temperatura massima di stoccaggio: 7 giorni a 4 °C seguiti da 14 giorni a 8 °C.

- a 4 °C:
  - tasso di crescita massimo[7] = 0,10 $\log_{10}$ al giorno
  - tempo di latenza minimo[9] = 11 giorni
- a 8 °C:
  - tasso di crescita massimo[7] = 0,33 $\log_{10}$ al giorno
  - tempo residuo di latenza minimo[7] = 1,4 giorni

Concentrazione finale:

$$0 + (14 - 1{,}4) \times 0{,}33 = 4{,}2 \log_{10} \text{ufc/g vale a dire } 1{,}6 \times 10^4 \text{ ufc/g.}$$

<u>Approccio basato sul rischio</u>

La contaminazione iniziale è valutata a partire dai dati storici delle analisi microbiologiche: 2% di risultati positivi nei campioni da 25g. Solo il 27,5% delle unità di vendita da 200g è contaminato da una media di 1 ufc/g.

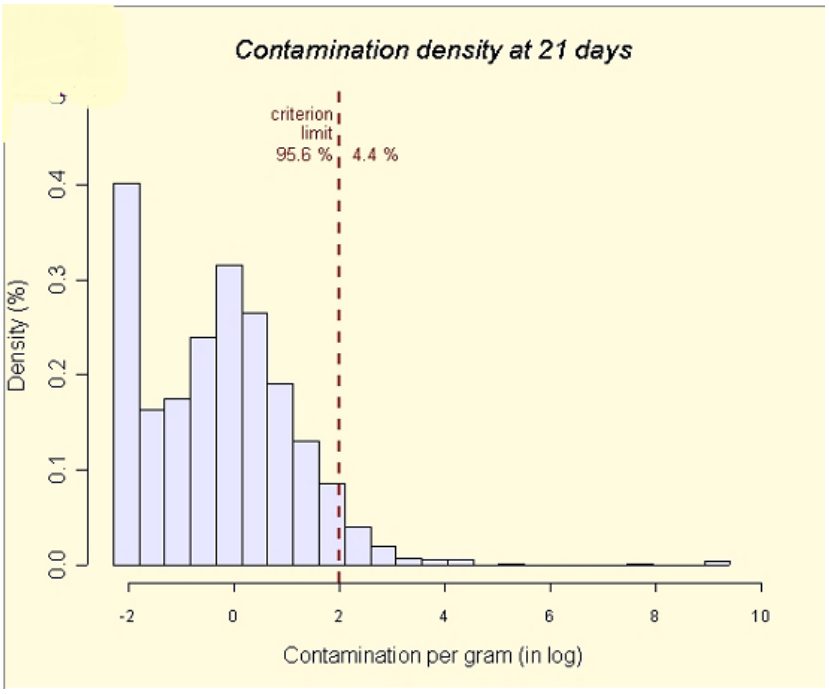

Figura 9. Distribuzione della popolazione a 21 giorni, compresa la variabilità inerente al microorganismo, ai fattori fisico-chimici e alla contaminazione iniziale.

L'attuazione di un approccio basato sul rischio, come indicato nel capitolo 3.6, permette di calcolare che il 4,4% delle unità contaminate da 200g superano il limite di 100 ufc/g, vale a dire l'1,2% di tutte le unità fabbricate.

5.5. Elenco di riferimento di alcuni documenti di orientamento esistenti

<u>Nota:</u> questo elenco è fornito unicamente a titolo di esempio. È possibile che esistano altri documenti pertinenti. Si consiglia pertanto agli operatori del settore alimentare di fare in modo di consultare questi documenti (compresi quelli aggiornati).

<u>Documenti di orientamento nazionali o settoriali esistenti</u>

- Evaluation of Product Shelf-life for Chilled Foods (Valutazione del periodo di conservabilità del prodotto per gli alimenti refrigerati), Guideline No. 46, Campden and Chorleywood Food Research Association (CCFRA, 2004), UKGuideline No. 46, Campden and Chorleywood Aliment Research Association (CCFRA, 2004), Regno Unito.

  Questo documento è stato elaborato con la collaborazione di esperti del settore. Si tratta di una struttura generale per la valutazione del periodo di conservabilità dei prodotti alimentari refrigerati che comprende un protocollo di prova normalizzato. Questo approccio è stato ampiamente adottato dalle imprese britanniche del settore alimentare insieme a programmi di controllo rigorosi basati sulle corrette prassi igieniche e di fabbricazione e sull'attuazione delle procedure basate sui principi HACCP. L'approccio si concentra su prove effettuate il giorno di produzione e alla fine della durata di un prodotto (studi sulla durabilità) al fine di verificare il periodo di conservabilità e il rispetto dei criteri relativi alla *Listeria monocitogenes*.

Altri documenti di orientamento nazionale o settoriali si basano generalmente su uno o sull'altro di questi documenti:

- Aide à la maîtrise de l'hygiène alimentaire des plats préparés réfrigérés, Alésial services, ISBN 2-9509242-0-4, (1995), Francia.

- Best Practice Guidelines for the Production of Chilled Food, Fourth Edition, Chilled Food Association, CFA, (2005), Regno Unito.

- Determination of Product Shelf-life, Guidance Note No. 18, Food Safety Authority of Ireland, FSAI, (2005), Irlanda.

- GBPH "Produits traiteurs", Syndicat National des Fabricants de Plats Préparés Frais, SYNAFAP, (2008), France.

- Guide to calculating the shelf life of foods, Food Safety Authority of New Zealand, NZFSA, http://www.nzfsa.govt.nz/processed-food-retail-sale/shelf-life/shelflife1-2-2.pdf, (2005). Nuova Zelanda.

- Protocol for the implementation of shelf life studies on *Listeria monocytogenes*, Food and Consumer Product Safety Authority, Voedsel en Waren Autoriteit, (2008), Paesi Bassi.

- Recommendations for the Production of Prepackaged Chilled Food, European Chilled Food Federation, ECFF, (2006).

Norme

Sono disponibili documenti AFNOR. Si tratta di norme francese che definiscono gli orientamenti per l'effettuazione di studi volti a determinare il periodo di conservabilità microbiologico dei prodotti alimentari:

- Hygiène et sécurité des produits alimentaires - Lignes directrices pour l'élaboration d'un protocole de test de vieillissement pour la validation de la durée de vie microbiologique - Denrées périssables, réfrigérées (Igiene e sicurezza dei prodotti alimentari: Orientamenti per l'elaborazione di un protocollo di studio sulla durabilità per la validazione della durata di vita microbiologica – Generi deperibili refrigerati), NF V01-003 febbraio 2004, Association française de Normalisation (AFNOR 2004), Francia.

  Il documento NF V01-003 propone una metodologia per la realizzazione di un protocollo di studio sulla durabilità per la validazione del periodo di conservabilità microbiologica di un prodotto deperibile e refrigerato. Questo periodo di conservabilità microbiologica è uno dei dati necessari per calcolare la data da indicare dopo le menzioni "da consumare entro" o "da consumarsi preferibilmente entro il". Questo documento precisa i mezzi necessari per determinare le condizioni di stoccaggio utilizzate per test (prendendo in considerazione la distribuzione della temperatura reale).

- Hygiène et sécurité des produits alimentaires - Lignes directrices pour la réalisation des tests de croissance microbiologiques (Igiene e sicurezza dei prodotti alimentari: Orientamenti per la realizzazione di test di provocazione microbiologici), NF V01-009 settembre 2007, Association française de Normalisation (AFNOR 2007), Francia.

Il documento NF V01-009 descrive i protocolli di laboratorio per l'effettuazione dei test di provocazione al fin e di valutare l'evoluzione della flora batteriologica nei prodotti alimentari artificialmente contaminati, valutando sia il potenziale di crescita che il tasso di crescita massimo.