

**Richiesta di aggiornamento del precedente parere dell'SCVPH sul rischio di *Listeria monocytogenes* connesso agli alimenti pronti e una consulenza scientifica sui diversi livelli di *Listeria monocytogenes* negli alimenti pronti e sul relativo rischio di malattia per l'uomo**

**Parere scientifico del gruppo di esperti scientifici sui pericoli biologici  
(Richiesta n. EFSA-Q-2007-064)  
Adottato il 6 dicembre 2007**

**MEMBRI DEL PANEL**

Olivier Andreoletti, Herbert Budka, Sava Buncic, Pierre Colin, John D Collins, Aline De Koeijer, John Griffin, Arie Havelaar, James Hope, Günter Klein, Hilde Kruse, Simone Magnino, Antonio Martínez López, James McLauchlin, Christophe Nguyen-The, Karsten Noeckler, Birgit Noerrung, Miguel Prieto Maradona, Terence Roberts, Ivar Vågsholm, Emmanuel Vanopdenbosch.

**SINTESI**

A seguito di una richiesta della Commissione europea, è stato chiesto al gruppo di esperti scientifici sui pericoli biologici di fornire un parere scientifico sull'aggiornamento della letteratura scientifica rispetto al precedente parere dell'SCVPH sul rischio di *Listeria monocytogenes* connesso agli alimenti pronti e di fornire consulenza scientifica sui diversi livelli di *Listeria monocytogenes* negli alimenti pronti e sul relativo rischio di malattia per l'uomo.

Il gruppo di esperti scientifici BIOHAZ conclude che, dopo un generale declino negli anni 90, il numero di casi europei di listeriosi è in aumento dal 2000. Pur essendo ancora associata alla gravidanza, ora la malattia è prevalentemente associata all'immunodepressione che si riscontra nella popolazione anziana (> 60 anni). Al momento, nessun metodo di routine consente di differenziare tra ceppi virulenti e non virulenti di *L. monocytogenes*.

Gli alimenti che potrebbero essere associati alla trasmissione della listeriosi sono risultati per lo più alimenti pronti che favoriscono la crescita di *L. monocytogenes*. Le indagini sugli alimenti non hanno solo raccolto i dati sulla prevalenza e i livelli di contaminazione da *L. monocytogenes* in diversi tipi di alimenti, ma hanno anche rivelato associazioni con altri parametri, tra cui: tipo di confezionamento dei prodotti alimentari, tecniche di preparazione degli alimenti (per esempio l'uso di affettatrici per i prodotti a base di carne), le temperature di conservazione, il momento del campionamento rispetto al periodo di conservabilità, la mancanza di un efficace

*Traduzione non ufficiale a cura di O. Bassoli, M. Piumi, R. Seghedoni - SVET AUSL Modena - 09/03/09*

sistema HACCP e la mancanza di conoscenze e formazione del personale addetto alla manipolazione degli alimenti. La crescita di *L. monocytogenes* avviene in funzione del tipo di cibo nonché della durata e della temperatura di conservazione. La temperatura di conservazione nel punto vendita al dettaglio e la temperatura nei frigoriferi domestici possono variare in modo significativo, soprattutto in questi ultimi.

In Europa sono stati introdotti dei criteri microbiologici in base alle categorie di alimenti pronti (ad esempio alimenti destinati a consumatori sensibili, alimenti che favoriscono o meno la crescita di *L. monocytogenes*). L'applicazione dei criteri microbiologici costituisce solo una delle varie attività di gestione finalizzate a garantire che gli alimenti pronti presentino un basso rischio per l'uomo. I criteri microbiologici sono destinati a contribuire al controllo dei livelli di *L. monocytogenes*, ad esempio assenza in 25 g o  $\leq 100$  ufc/g al momento del consumo. Una recente valutazione del rischio ha concluso che la maggior parte dei casi di listeriosi è dovuta ad alimenti con contaminazioni nettamente superiori a quest'ultimo limite.

Il più recente documento del CODEX sui criteri microbiologici per *L. monocytogenes* negli alimenti pronti suggerisce una tolleranza zero per tutto il periodo di conservabilità del prodotto per gli alimenti pronti che favoriscono la crescita di questo microrganismo. L'applicazione di questo criterio in prossimità del termine del periodo di conservabilità potrebbe portare a classificare come non soddisfacenti anche quei prodotti che sono a basso rischio. Pertanto un'ulteriore opzione proposta in questo documento del Codex consiste nel tollerare il livello di 100 ufc/g per tutto il periodo di conservabilità, a condizione che il produttore possa dimostrare che il prodotto non supererà tale limite per tutto questo periodo. Per gli alimenti pronti che favoriscono la crescita di *L. monocytogenes* è impossibile prevedere con un elevato grado di certezza se il livello supererà o meno i 100 ufc/g durante il periodo di conservabilità. Pertanto il ricorso a questa opzione può portare ad accettare la possibilità che gli alimenti con oltre 100 ufc/g siano consumati. Gli effetti sulla salute pubblica dipenderebbero dal fatto che livelli nettamente superiori ai 100 ufc/g siano raggiunti.

Il gruppo di esperti scientifici BIOHAZ sostiene che, per valutare meglio i rischi e migliorare le conoscenze sugli alimenti responsabili di listeriosi, sono necessari una più approfondita indagine sui casi sporadici e sui focolai di listeriosi nonché dati sul consumo degli alimenti pronti che favoriscono la crescita di *L. monocytogenes*. Un confronto tra gli studi (ad esempio indagini) dovrebbe essere effettuato solo qualora fossero applicate strategie di campionamento simili e gli studi dovrebbero concentrarsi sugli alimenti pronti in grado di favorire la crescita di *L. monocytogenes*. Dato che l'applicazione dei criteri microbiologici è solo una delle numerose attività di gestione finalizzate a garantire che gli alimenti pronti presentino un basso rischio per l'uomo, occorre un'applicazione coerente e sistematica delle buone pratiche igieniche (GHP) in combinazione con il sistema HACCP onde ridurre al minimo la contaminazione iniziale a livello di produzione e/o ridurre il potenziale di crescita di *L. monocytogenes*. Per ridurre il rischio di listeriosi si dovrebbe migliorare la catena del freddo, soprattutto a livello domestico, nonché l'informazione sull'alimentazione e sulla conservazione degli alimenti (in particolare per gli anziani).

**Parole chiave:** alimenti pronti, *Listeria monocytogenes*, criteri microbiologici

**TABELLA DEI CONTENUTI**

Membri del Panel..... 1

Sommario..... 1

Contesto come previsto dalla DG SANCO ..... 4

Termini di riferimento come previsto dalla DG SANCO..... 5

Ringraziamenti ..... 5

Valutazione..... 6

1. Introduzione..... 6

2. Identificazione del pericolo (aggiornamento del § 4.1. dell’opinione SCVPH 1999) ..... 6

3. Caratterizzazione del pericolo (aggiornamento del § 4.2. dell’opinione SCVPH 1999) ..... 10

    3.1. Virulenza and patogenicità (aggiornamento del § 4.2.2. dell’opinione SCVPH 1999)..... 10

    3.2. Dose/Risposta (aggiornamento del § 4.2.3. dell’opinione SCVPH 1999)..... 10

4. Valutazione dell’esposizione (aggiornamento del § 4.3. dell’opinione SCVPH 1999) ..... 11

    4.1. Presenza negli alimenti..... 11

    4.2. Origine della contaminazione degli alimenti..... 13

    4.3. Catena del freddo (temperature dei frigoriferi)..... 13

    4.4. Curve e modelli di crescita..... 17

    4.5. Modelli di crescita e non crescita..... 18

5. Caratterizzazione del rischio (aggiornamento del § 4.4. dell’opinione SCVPH 1999)..... 19

    5.1. Nuove informazioni derivanti dai recenti studi di valutazione del rischio..... 19

    5.2. Focus sulle conclusioni della valutazione del rischio della FAO/OMS..... 20

    5.3. Osservazioni conclusive sulla valutazione quantitativa del rischio microbiologico..... 23

6. Criteri microbiologici e categorie di alimenti pronti ..... 24

Conclusioni e Raccomandazioni ..... 26

Riferimenti..... 28

Appendici..... 38

Appendice I..... 38

Appendice II ..... 39

Appendice III ..... 40

Appendice IV..... 41

Appendice V ..... 42

## CONTESTO COME PREVISTO DALLA DG SANCO

### Parere scientifico UE e nuovi criteri UE

Il Comitato Scientifico per le Misure Veterinarie relative alla Sanità Pubblica (SCVPH) nel 1999 e il Comitato Scientifico dell'Alimentazione Umana (SCF) nel 2000, raccomandano l'obiettivo di mantenere la concentrazione di *Listeria monocytogenes* negli alimenti inferiore a 100 ufc/g, al fine di garantire la sicurezza dei prodotti alimentari.

Questi pareri scientifici sono stati la base per la Comunità nella definizione dei criteri di *L. monocytogenes* in alimenti pronti nel Reg. (CE) n. 2073/2005<sup>2</sup> sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari. I nuovi criteri Comunitari coprono gli alimenti pronti durante la vita commerciale. Una distinzione è stata fatta tra le seguenti categorie di alimenti pronti:

- alimenti pronti per lattanti e alimenti pronti a fini medici speciali
- alimenti pronti in grado di favorire la crescita di *L. monocytogenes*, diversi da quelli destinati ai lattanti e a fini medici speciali
- alimenti pronti non in grado di favorire la crescita di *L. monocytogenes*, diversi da quelli destinati ai lattanti e a fini medici speciali

### Commissione CODEX in materia di igiene alimentare, riunione nel 2006

Nella 38<sup>a</sup> sessione della Commissione del CODEX in materia di igiene alimentare (CCFH), Houston USA 4-9 Dicembre 2006, è stato considerato nel progetto linee guida sull'applicazione dei principi generali di igiene alimentare il controllo di *Listeria monocytogenes* in alimenti pronti.

Nella riunione la Comunità Europea e i suoi Stati Membri (ECMS) hanno espresso soddisfazione e sostenuto il progetto di linee guida, nonché l'allegato I: raccomandazioni per un programma di monitoraggio ambientale per *Listeria monocytogenes* in aree di lavorazione degli alimenti. Il Comitato ha convenuto di trasmettere la bozza delle linee guida tra cui all'allegato I, per l'adozione definitiva nella fase 8.

Tuttavia, la ECMS ha espresso la necessità di sviluppare ulteriormente i criteri microbiologici per *L. monocytogenes* in alimenti pronti. Il comitato ha ricordato la storia dello sviluppo del progetto linee guida, che è nato dalla necessità di definire criteri microbiologici per *L. monocytogenes*.

L'ECMS ha visto che la proposta di linee guida trarrebbe ulteriore beneficio dall'inserimento di criteri microbiologici. Mentre ECMS ritiene che ci sono già sufficienti dati scientifici disponibili a livello internazionale per la valutazione dei rischi in alimenti pronti nel commercio internazionale, il Comitato ha esortato ECMS a prendere un impegno irrevocabile ad avviare l'elaborazione di criteri appropriati per alimenti pronti nel corso del prossimo anno.

Il Comitato è stato informato che la Comunità europea ha recentemente stabilito criteri per *L. monocytogenes* che coprono tutti gli alimenti pronti durante la loro vita commerciale, al fine di armonizzare i criteri all'interno dell'UE, e quindi agevolare il commercio internazionale dei prodotti alimentari. Comunque, erano richiesti sia un ampio consenso sia una giustificazione scientifica nello stabilire nuovi criteri UE.

Il Comitato ha convenuto di istituire un gruppo di lavoro guidato dalla Germania con l'obiettivo di sviluppare criteri microbiologici su *L. monocytogenes* in alimenti pronti.

<sup>2</sup> Il Reg. (CE) n. 2073/2005, GU L 338 del 22.12.2005, pag 1, rettificata dalla GU L 278, 10.10.2006, p. 32, e GU L 283, 14.10.2006, p. 62.

Il Comitato è del parere che questo lavoro sui criteri microbiologici dovrebbe essere completato entro due sessioni del Comitato ai fini dell'adozione da parte della Commissione Codex Alimentarius nel 2009.

È ovvio che, nel contesto dello sviluppo dei criteri per *L. monocytogenes*, il legame tra i criteri, i risultati delle valutazioni del rischio disponibili a livello internazionale così come i nuovi concetti sui parametri microbiologici (ad esempio, FSO, PO, PC), sarà considerata anche se è stato rilevato dal CCFH (Houston 2006) che l'applicazione pratica di questi nuovi parametri, è ancora in un fase di sviluppo.

Dal punto di vista comunitario, all'EFSA si richiede di fornire elementi scientifici per la Commissione al fine di individuare la posizione dell'UE nello stabilire i criteri di *L. monocytogenes* nel gruppo di lavoro CCFH.

#### **TERMINI DI RIFERIMENTO COME PREVISTO DALLA DG SANCO**

All'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare è chiesto di:

- Aggiornare la letteratura scientifica nel parere SCVPH su *Listeria monocytogenes* e rischi connessi ad alimenti pronti.
- Fornire pareri scientifici sui vari livelli di *Listeria monocytogenes* in alimenti pronti (assenza in 25 g, 100cfu/g, e livelli più alti) e il relativo rischio per la malattia nell'uomo.

#### **RINGRAZIAMENTI**

L'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare desidera ringraziare i membri del gruppo di lavoro per la preparazione di questo parere: Edda Bartelt, Marie Cornu (relatore), Konstantinos Koutsoumanis, James McLauchlin, Christophe Nguyen-The (presidente), Birgit Noerrung.

## VALUTAZIONE

### 1. Introduzione

Nel 1999, il comitato scientifico per le misure veterinarie relative alla sanità pubblica (SCVPH) ha emesso un parere su *Listeria monocytogenes* (SCVPH, 1999). Lo scopo del presente parere scientifico è quello di aggiornare la letteratura scientifica del parere dell'SCVPH su *L. monocytogenes*. A tal fine, gli elementi della valutazione del rischio microbiologico (ad esempio, identificazione del pericolo, caratterizzazione del pericolo e caratterizzazione del rischio), come descritto e presentato nel parere SCVPH sono aggiornati prendendo in considerazione le nuove informazioni scientifiche che vanno dal 1999 al 2007. Inoltre, ai fini di questo parere, per alimenti pronti si intendono:

**Alimenti pronti (RTE):** prodotti alimentari destinati dal produttore o dal fabbricante direttamente al consumatore finale, senza la necessità di cottura o altro trattamento efficace a eliminare o ridurre ad un livello accettabile i microrganismi di interesse<sup>3</sup>.

Infine si forniscono informazioni scientifiche sui diversi livelli di *L. monocytogenes* in alimenti pronti e il relativo rischio per la malattia.

### 2. Identificazione del pericolo (aggiornamento del § 4.1. nel parere SCVPH del 1999)

L'identificazione del pericolo, come descritto nel parere SCVPH su *L. monocytogenes*, è stato aggiornato e le precedenti conclusioni restano valide: *"Mentre la listeriosi è una malattia che si verifica raramente, l'elevato tasso di mortalità per listeriosi è una grave minaccia per la salute pubblica, in particolare per i gruppi ad alto rischio come gli anziani, le persone immunodepresse (ad esempio persone affette da cancro, HIV, malattie reumatiche) e donne in stato di gravidanza"*.

Per la Listeriosi umana si è osservato una generale diminuzione del numero di casi nel corso degli anni 1990 in Europa rispetto ai picchi di incidenza degli anni 1980, e questa diminuzione coincide con una riduzione sostanziale sia della percentuale di alimenti pronti contaminati da *L. monocytogenes*, sia dei livelli di contaminazione rilevati (McLauchlin, 1996a; Goulet et al. 2001; McLauchlin, 2006). Tuttavia, la situazione epidemiologica della listeriosi umana mette in evidenza dei cambiamenti dopo il 2000 in alcuni Stati membri.

Il numero di casi nei rapporti sulle zoonosi dai 26 Stati membri (EFSA, 2006; EFSA, 2007a) mostrano un aumento da 910 casi di listeriosi umana segnalati nel 2001 a 1.427 casi segnalati nel 2005 e 1583 casi segnalati nel 2006. Sebbene questo incremento dal 2001 al 2006 possa riflettersi nel cambiamento dei sistemi di sorveglianza e nel miglioramento dei sistemi di segnalazione, almeno per alcuni Stati membri (vedi sotto), questo sembra mostrare un vero aumento del numero di casi.

Tra i 26 Stati membri, le segnalazioni di casi di listeriosi umana riportati nel 2005, l'incidenza media su tutta la UE è di 0,3 casi per 100.000 abitanti: 12 Stati membri riportano tassi  $\leq 1$  caso per 100.000 abitanti, il tasso più elevato è stato registrato in Danimarca (0,90 casi per 100.000), Belgio (0,8 casi per 100.000), Finlandia (0,7 casi per 100.000) e Germania (0,6 casi per 100.000). Nel 2006, i tassi più alti sono stati segnalati in Danimarca (1,0 caso per 100.000), in Finlandia e in Lussemburgo (0,9 casi per 100.000), in Repubblica Ceca (0,8 casi per 100.000) e in Germania (0,6 casi per 100.000).

<sup>3</sup> Ai sensi del Reg (CE) n. 2073/2005, GU L 338 del 22.12.2005, pag 1, rettificata dalla GU L 278, 10.10.2006, p. 32, e GU L 283 del 14.10.2006, pag 62.

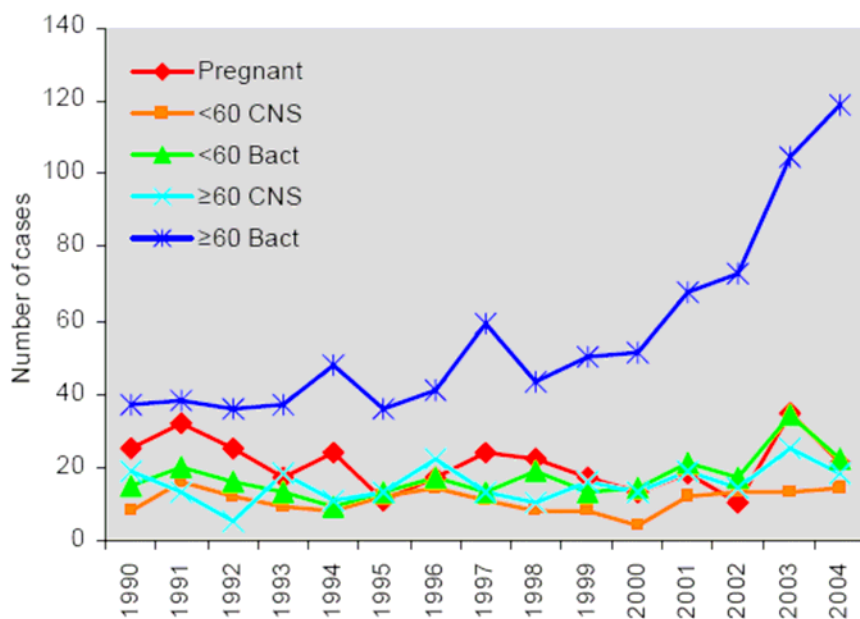
I metodi di sorveglianza dei singoli Stati membri sono stati precedentemente comparati (de Valk et al. 2005) e ci sono notevoli differenze nazionali. Tuttavia, queste differenze, probabilmente riflettono le reali differenze nel numero di casi nei diversi Stati membri.

Il 67% di tutti i casi all'interno della UE nel 2005 sono stati riportati dalla Germania, dalla Francia e dal Regno Unito, tutti questi Stati membri hanno segnalato aumenti dal 2001: gli aumenti sono stati considerevolmente più piccoli in Francia rispetto a quelli della Germania e del Regno Unito. L'aumento in Germania, è stato descritto più in dettaglio da Koch e Stark, (2006) e nonostante i cambiamenti nei sistemi di sorveglianza e diagnostica c'è la consapevolezza (la denuncia di casi di listeriosi è diventata obbligatoria dal 2001) di più di un raddoppio del numero di casi tra il 2001 e il 2005.

L'aumento dei casi in Germania si è verificato quasi esclusivamente in pazienti di età  $\geq 60$  anni e non sembra essere collegato a una qualsiasi comune fonte epidemica: i casi sono stati prevalentemente di natura sporadica. L'aumento nel Regno Unito è stato puntualmente descritto (Gillespie et al., 2006) e ha mostrato caratteristiche simili a quello della Germania, anche se non c'è alcuna prova di una relazione fra l'incremento nelle due nazioni.

L'incremento nel Regno Unito si è verificato prevalentemente in pazienti di età  $\geq 60$  anni i quali hanno presentato setticemia (presenza di batteri nel sangue) senza infezione del sistema nervoso centrale. Il numero di casi segnalati tra pazienti di età  $< 60$  anni, quelli con invasione nel sistema nervoso centrale, e quelli associati a gravidanza sono rimasti simili dal 1990 (Figura 1). Aumenti si sono verificati in più regioni dell'Inghilterra, del Galles, della Scozia e dell'Irlanda del Nord, in entrambi i sessi, causati da più sottotipi di *L. monocytogenes*, le infezioni non hanno fonti comuni e i focolai sono stati prevalentemente di natura sporadica. L'aumento nel Regno Unito è stato indipendente da cambiamenti demografici indicativamente si è osservato una triplicazione dei casi di listeriosi in specifiche fasce d'età in Inghilterra e nel Galles tra il 1990 e il 2006 (Figura 2). Tra il 2002 e il 2006 si sono verificati un raddoppio del numero totale dei casi in Danimarca e un aumento del 25% in Francia (EFSA, 2007a).

In Europa, il 55,6% di tutti i casi di listeriosi sono stati riscontrati in pazienti sopra i 65 anni (EFSA, 2007a), quindi anche se questa malattia continua a verificarsi in associazione con la gravidanza, ora è prevalentemente un'infezione in soggetti anziani immuno-depressi. Le misure di controllo, compresi i consigli dietetici sono stati in precedenza prevalentemente mirati verso le donne in stato di gravidanza. Tuttavia a causa del cambiamento di età nella distribuzione dei casi, insieme ad un'evoluzione demografica della popolazione nel suo complesso, le misure di controllo saranno più efficaci se mirate verso le fasce più anziane della popolazione.



CNS: Sistema Nervoso Centrale  
Bact.: Bacteriemia

Figura 1: Numero di casi di listeriosi segnalati in Inghilterra e nel Galles 1990-2006 (dati da Gillespie et al., 2006).

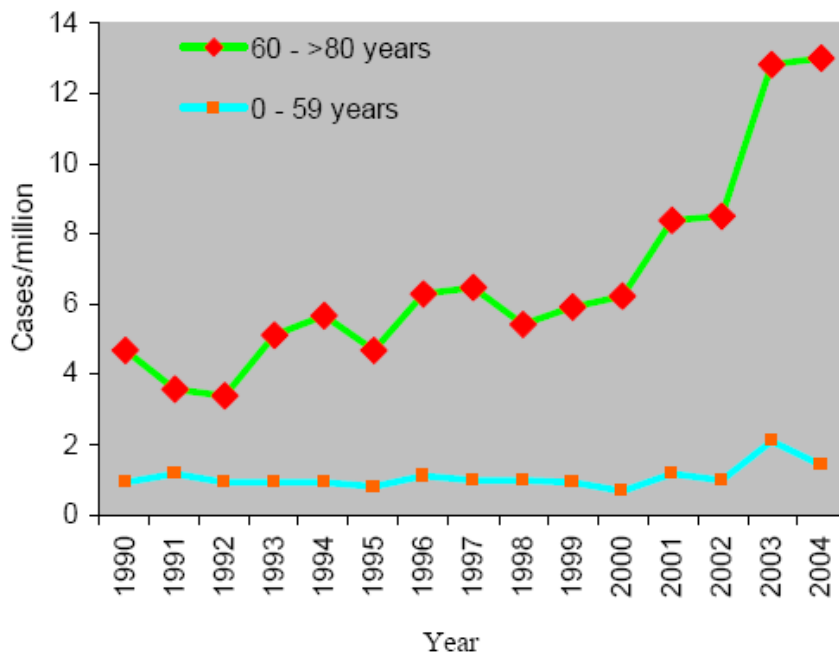


Figura 2: casi di listeriosi per fasce d'età in Inghilterra e nel Galles 1990-2006 (dati provenienti da Gillespie et al., 2006).

I dati sulla listeriosi negli Stati Uniti, mostrano una marcata riduzione simile a quella in Europa, questa coincide con una diminuzione della contaminazione degli alimenti pronti (Voetsch et al., 2007). Allo stesso modo per l'Europa, la listeriosi umana negli USA è prevalentemente di natura sporadica (solo il 5% dei casi potrebbero essere identificati come associati a focolai), l'88% dei casi non sono stati associati alla gravidanza, il 71% dei casi erano in età > 44 e il 40% dei casi in età ≥ 70 (Varma et al., 2007; Voetsch et al., 2007).

Precedenti analisi di casi sporadici e focolai di listeriosi umana hanno dimostrato che gli alimenti coinvolti sono prevalentemente alimenti pronti, in grado di favorire la crescita di *L. monocytogenes* (McLauchlin, 1996). Dati su focolai e casi sporadici di listeriosi umana dalla letteratura sono già stati presentati (SCVPH, 1999) e un elenco degli alimenti coinvolti, riportato nella tabella 1, è descritto nel parere del SCVPH. Gli alimenti associati a questi incidenti hanno mostrato caratteristiche simili a quelle descritte sopra.

**Tabella 1. Alcuni casi di listeriosi alimentare segnalati dal 1999**

Nota: sono citati solo focolai e casi sporadici per i quali il veicolo è stato identificato.

Anno	Paese	Numero di casi <sup>(a)</sup>	veicolo	Riferimenti
1998	USA	108	Hot dog	(Mead <i>et al.</i> , 2006)
1999	Inghilterra	4	Tramezzini ospedalieri	(Gillespie <i>et al.</i> , 2006)
1999-2000	Francia	10	Rillettes di maiale	(de Valk <i>et al.</i> , 2001)
1999-2000	Francia	32	Lingua di maiale in gelatina	(de Valk <i>et al.</i> , 2001)
2000	Nuova Zelanda	4*	Arrosto affettato	(Sim <i>et al.</i> , 2002)
2000	USA	13	Formaggio molle stile Messicano	(MacDonald <i>et al.</i> , 2005)
2000	USA	30	Tacchino arrosto	(Olsen <i>et al.</i> , 2005)
2001	USA	16*	Tacchino arrosto affettato	(Frye <i>et al.</i> , 2002)
2001	Svezia	50*	Formaggio	(Carrique-Mas <i>et al.</i> , 2003)
2001	Giappone	38*	Formaggio	(Makino <i>et al.</i> , 2005)
2002	USA	54	Tacchino arrosto	(Gottlieb <i>et al.</i> , 2006)
2002	Canada	17	Formaggio	(Gaulin <i>et al.</i> , 2003)
2003	Inghilterra	17	Burro	(Gillespie <i>et al.</i> , 2006)
2003	Inghilterra	18	Non identificato	(Gillespie <i>et al.</i> , 2006)
2003	Galles	2	Tramezzini ospedalieri	(Gillespie <i>et al.</i> , 2006)
2003	Inghilterra	5	Tramezzini ospedalieri	(Gillespie <i>et al.</i> , 2006)
2004	Inghilterra	2	Tramezzini ospedalieri	(Gillespie <i>et al.</i> , 2006)
2005	Svizzera	10	Formaggio Tomme	(Bilie <i>et al.</i> , 2006)
2006	Repubblica Ceca	78	Formaggio tenero	(Vit <i>et al.</i> , 2007; EFSA, 2007a)
2006	Germania	6	Formaggio duro	(EFSA, 2007a)

(a): Tutti casi di grave malattia sistemica, ad eccezione di quelli contrassegnati con \* dove il sintomo prevalente era la gastroenterite con febbre

### 3. Caratterizzazione del pericolo (aggiornamento del § 4.2. del parere SCVPH 1999)

#### 3.1. Virulenza e patogenicità (aggiornamento del § 4.2.2 del parere SCVPH 1999)

La superficie della proteina InternalinA, codificata dal gene *inlA*, ha un ruolo chiave nella penetrazione di *L. monocytogenes* nell'epitelio intestinale promuovendo l'invasione degli enterociti, la traslocazione attraverso la barriera intestinale e la mediazione per l'accesso ai tessuti più profondi (Lecuit et al., 2001).

È stata descritta una interazione specifica tra il gene *inlA* e l'E-caderina umana (Lecuit et al., 1999). Si è riscontrato che, mentre le cavie (porcellini d'india), i polli e i conigli, sono portatori di un omologo dell'E-caderina umana che codifica una prolina in posizione 16, i ratti e i topi hanno l'acido glutammico in questa posizione, il che rende la E-caderina in questi roditori incapace di promuovere l'ingresso di *L. monocytogenes* nell'epitelio intestinale.

Durante l'ultimo decennio diversi tentativi sono stati fatti per trovare un modello animale adatto per la differenziazione fra le *L. monocytogenes* isolate (Schlech et al., 1993; O'Driscoll et al., 1996; Larsen et al., 2002; Smith et al., 2003; Takeuchi et al., 2006). La maggior parte di questi modelli sono basati su ratti o topi. Esempi di modelli animali, che portano un omologo E-caderina umana includono un modello di primate non umano (Smith et al., 2003) e un modello di topi geneticamente modificati (Lecuit et al., 1999). Alcuni modelli bypassano la via intestinale revedendo l'iniezione dei batteri nel peritoneo (O'Driscoll et al., 1996; Takeuchi et al., 2006) altri usano la via orale-gastrica (Schlech et al., 1993; Larsen et al., 2002; Smith et al., 2003). Fatta eccezione per i modelli su primati, questi modelli non includono la classica via di esposizione per le malattie alimentari e non sono validi per valutare le differenze di virulenza. Prove epidemiologiche e di comportamento di ceppi di tipo selvatico utilizzando modelli in vivo e in vitro suggeriscono che in natura ci sono naturalmente ceppi avirulenti e ceppi con virulenza attenuata (McLauchlin et al., 2004; Liu et al. 2007). Ad esempio, Jacquet et al. (2004) riportano che i ceppi isolati dagli alimenti erano più probabilmente quelli che esprimevano la versione tronca della proteina internalin A rispetto a quelli causanti la malattia nell'uomo. Tuttavia la virulenza, è il prodotto dell'espressione di più geni (Liu et al., 2007) e test genotipici e fenotipici di routine non sono disponibili per caratterizzare l'espressione di tutti i geni virulenti. Metodi di routine che permettano differenziazioni tra patogeni, non patogeni o ceppi meno virulenti non sono attualmente disponibili. Pertanto, la conclusione del SCVPH che "*tutte le L. monocytogenes, comprese quelle presenti nei prodotti alimentari, dovrebbero essere considerate come potenzialmente patogene*" è ancora valida.

#### 3.2. Dose / risposta (aggiornamento del § 4.2.3 del parere SCVPH 1999)

Dal 1999 sono stati pubblicati nuovi tentativi di caratterizzare il pericolo di *L. monocytogenes* con modelli dose-risposta (Chen et al., 2003; FDA / USDA / CDC, 2003; FAO / OMS, 2004; McLauchlin et al., 2004; Chen et al., 2006). Attualmente la modellizzazione dose-risposta è basata di solito sul gruppo dei modelli a singola dose infettante (single-hit). I presupposti fondamentali alla base di questi modelli sono (i) singola dose scatenante (qualunque microrganismo vitale ha una probabilità di provocare l'infezione e la malattia diversa da zero), (ii) azione indipendente (la probabilità della singola dose infettante è indipendente dal numero totale ingerito).

Il gruppo di lavoro della FAO/OMS ha proposto a livello internazionale due modelli, uno per la popolazione con aumentata sensibilità (dovrebbe rappresentare dal 15% al 20% del totale della popolazione, ma dal 90 al 98% dei casi) e l'altra per il resto della popolazione (FAO/OMS, 2004). Ad esempio, per una dose di  $1 \times 10^{10}$  ufc/porzione (ad esempio, 100 g di un alimento contaminato con  $1 \times 10^8$  ufc/g), la media dei casi di listeriosi nella popolazione sensibile è stimata in 1 su 100 porzioni, con limiti di incertezza inferiore di 1 su 400 (5%) e superiore di 1 su 10 (95%). Per la stessa dose, nella popolazione in buona salute, il tasso medio di listeriosi è stimato in 1 su 4000 porzioni, con limiti di incertezza inferiore di 1 su 30.000 (5%) e superiore di 1 su 400 (95%).

Il gruppo di lavoro della FAO/OMS (2004) ha fornito ulteriori dettagli sui differenti gruppi di popolazione sensibile (anziani, bambini, donne incinte, e pazienti immuno-depressi) rispetto alla popolazione generale. È stata calcolata la suscettibilità relativa della popolazione a rischio, sulla base di dati epidemiologici provenienti da Francia e Stati Uniti. Nel modello FAO/OMS, la stima del valore di  $r$  ( $r$ -value) (cioè la probabilità media che le ufc ingerite causino la malattia), è costante per una data popolazione.

Tuttavia, nei dati disponibili, i livelli massimi di *L. monocytogenes* per ogni porzione singola non sono specificati (riportati come  $> x$  ufc/g) questo introduce qualche ulteriore elemento di incertezza. Pertanto nel modello FAO/OMS i valori  $r$  sono stati calcolati su diverse ipotesi con i livelli di dose più elevati.

Per il gruppo più sensibile (pazienti che hanno subito trapianti), la stima dei valori di  $r$  variava da  $5,8 \times 10^{-10}$  (il log della dose più alta stimata è 7,5) a  $2,3 \times 10^{-11}$  (il log della dose più alta stimata è 10,5). In confronto, i valori di  $r$  stimati variavano da  $2,23 \times 10^{-13}$  a  $7,45 \times 10^{-15}$  per la popolazione non immunodepressa. Questi valori di  $r$  sono estremamente bassi rispetto ad altri valori  $r$  per altri batteri patogeni alimentari.

Impostando la sensibilità della popolazione non immunodepressa a 1, le persone che hanno ricevuto trapianti di organi sono 2584 volte più sensibili quando sono stati infettati con una dose di 7,5 log. Le persone anziane (sopra 60 anni) possono essere 1,6-7,5 volte più sensibili delle persone più giovani non immuno-depresse.

Le incertezze che risultano dal rapporto dose-risposta sono quindi notevoli.

Tuttavia con tutti questi modelli, si conviene che il rischio per porzione sarebbe approssimativamente proporzionale all'esposizione (numero di cellule ingerite dal consumatore); l'incertezza, per quanto grande possa essere, riguarda unicamente il valore del parametro di proporzionalità.

Per questo motivo, è ragionevole supporre:

- (i) che qualsiasi strategia in grado di ridurre l'esposizione consentirà di ridurre il rischio,
- (ii) che, salvo ad altissime dosi, 1000 porzioni con un determinato livello di contaminazione, hanno lo stesso impatto sulla salute pubblica come 10.000 porzioni con un numero di organismi dieci volte inferiore (FAO/OMS, 2004),
- (iii) che la maggior parte dei casi previsti derivano dall'esposizione della popolazione sensibile a rari livelli di contaminazione più alti.

#### **4. Exposure Assessment (Valutazione dell'esposizione - aggiornamento del § 4.3. del Parere del 1999)**

##### **4.1. Presenza negli alimenti**

I dati 2004-2005 confermano le precedenti conclusioni del parere SCVPH: *L. monocytogenes* è ubiquitaria, quasi tutte le categorie di alimenti possono essere contaminati da *L. monocytogenes*, in alcuni casi molto frequentemente. Il parere SCVPH riporta per i vari prodotti alimentari il grado di contaminazione con *L. monocytogenes* (vale a dire la % risultata positiva): 7-36% per macinato di carne, 0-52% per prodotti a base di carne; 9-85% per il settore del pollame, 4-60% per prodotti a base di pesce, 1-12% per insalate di verdure, 2-12% per il latte crudo. I dati quantitativi mostrano che la maggior parte dei prodotti alimentari contaminati contiene meno di 100 ufc/g, ma una piccola parte (ossia, da 0 a 1,8% in base al tipo di alimenti) ne contiene più di 100 ufc/g.

Nelle Relazioni sintetiche comunitarie sull'andamento e fonti delle zoonosi, gli agenti zoonotici e la resistenza antibatterica nell'Unione europea del 2004, 2005 e 2006 (EFSA, 2005; EFSA, 2006; EFSA, 2007a), il range di contaminazione degli alimenti con *L. monocytogenes* (presenza in 25 g) è stato: 0-48% in prodotti a base di carne, 0-40% in prodotto a base di carne di pollame, 0-30% per prodotti a base di pesce, 0-100% nel latte crudo. Inoltre, le Relazioni sintetiche comunitarie riportano il grado di contaminazione di altri alimenti, non considerati nel parere SCVPH (1999): 0-38% per i formaggi, 0-33% per la frutta e la verdura, da 0 a 33% per i panini.

Nelle Relazioni sintetiche comunitarie del 2004, 2005 e 2006, la maggior parte delle indagini hanno rilevato l'assenza di *L. monocytogenes* nei prodotti lattiero-caseari pronti al consumo, nei formaggi, nella frutta e verdura pronta al consumo, campionamenti con elevate frequenze di risultati positivi sono state un'eccezione nell'UE.

Infatti, la % media di campioni positivi per questi prodotti è stata inferiore all'1% nel 2005 (1,2% per i formaggi nel 2006). Nelle Relazioni sintetiche comunitarie la frequenza più alta di campioni positivi in alimenti pronti è stata trovata in prodotti alimentari a base di carne e prodotti a base di pesce: 2,7% per il prodotto a base di carne e 7,5% per prodotti a base di pesce nel 2005, 3,5% per i prodotti a base di carne bovina, 2,7% per i prodotti a base di carne suina e 4,9% per prodotti a base di pesce nel 2006. La prevalenza di campioni di prodotti alimentari contenenti più di 100 *L. monocytogenes* per grammo è in conformità con quanto riportato nel parere SCVPH (0 - 1,8%), tranne che per alcune indagini su prodotti a base di carne e prodotti a base di pesce con circa il 5% (carne) o addirittura fino al 20% (pesce) di campioni contenenti più di 100 *L. monocytogenes* per g. Nelle Relazioni sintetiche comunitarie dal 2004 al 2006, la presenza di alcuni campioni contenenti più di 100 *L. monocytogenes*/g è stata osservata in tutte le categorie di alimenti considerati.

I dati presentati nelle Relazioni sintetiche comunitarie del 2004, 2005 e 2006 mettono in evidenza che prodotti a base di pesce pronti al consumo sono contaminati da *L. monocytogenes* più frequentemente, con una maggiore percentuale di campioni contenenti più di 100 *L. monocytogenes* per grammo di prodotto, rispetto ad altre categorie di alimenti (campioni con > 100 ufc/g sono stati trovati nel 29% delle indagini di prodotti a base di pesce esaminate nella Relazione sintetica comunitaria del 2005). Seguono in ordine decrescente rispetto al grado di contaminazione i prodotti a base di carne pronti al consumo (Appendice I). Tutto questo coincide con uno studio su 2217 campioni di prodotti di pesce e di carne importati o esportati dalla Svizzera, dove è emerso che la più alta concentrazione di *L. monocytogenes* si ha nei prodotti ittici (Jemmi et al., 2002).

Tuttavia, l'osservazione che alcune categorie di alimenti sono stati più frequentemente contaminate con *L. monocytogenes* rispetto ad altre non comporta che queste categorie di alimenti abbiano più probabilità di causare listeriosi. In particolare, sarebbe necessario valutare se tali alimenti favoriscono la crescita di *L. monocytogenes*, in quale momento della vita commerciale è stato fatto il campione e se questi prodotti sono sottoposti a trattamento listericida prima del consumo.

L'ultima Relazione sintetica comunitaria (EFSA, 2007a), fornisce ulteriori indicazioni sulla fase di campionamento (ad esempio, al dettaglio), la natura dei prodotti alimentari (ad esempio, già cotti, stabilizzati, formaggio morbido rispetto al formaggio a pasta dura), e la destinazione d'uso (ad esempio, destinati ad essere consumati cotti). I risultati riportati nelle Relazioni sintetiche comunitarie del 2004 e del 2005 sono in linea con altre indagini pubblicate nell'UE a partire dal 2000. Per esempio lo 0 o 2-3% dei campioni di verdure al dettaglio contengono *L. monocytogenes*, con 0 o meno dell'1% dei campioni contenenti più di 100 *L. monocytogenes*/g (Sagoo et al., 2001; Sagoo et al., 2003a; Sagoo et al., 2003b; Francesco e O'Beirne, 2006). Nel pesce affumicato al dettaglio, dal 13,3% al 77,8% dei campioni è risultato positivo per *L. monocytogenes* con lo 0,3% - 11% dei campioni contenenti più di 100 ufc/g (Dominguez et al., 2001; Medrala et al., 2003; Suppin et al. 2006). Un'indagine su pâté ha rivelato che il 5,4% dei campioni è contaminato (Dominguez et al., 2001). Tra i prodotti lattiero-caseari, lo 0,4% dei campioni di burro contiene *L. monocytogenes* (Lewis et al., 2006). La prevalenza di *L. monocytogenes* in salsiccie alla fine del processo di produzione è stata del 10% in Francia per le salsicce essiccate e fermentate (Thevenot et al., 2006) e dal 3 al 4% per salsicce crude da spalmare in Germania (Hechelmann et al., 2002). In entrambi i casi, tutti i livelli di contaminazione sono stati inferiori a 100 ufc/g.

È difficile valutare se l'incidenza di *L. monocytogenes* in alimenti pronti al consumo è cambiata dal parere SCVPH del 1999, in particolare a causa dell'estrema variabilità sulla percentuale dei campioni positivi tra le varie indagini. Inoltre, i piani di campionamento e i metodi utilizzati per le varie indagini riportati nelle diverse relazioni o presentate nelle pubblicazioni scientifiche non sono di solito gli stessi, questo comporta una serie di difficoltà nel confronto tra le diverse indagini. Un'osservazione, tuttavia, è che in entrambi i documenti, Relazione sintetica comunitaria 2004-2005 e parere SCVPH del 1999, le indagini che riportano un'elevata frequenza di campioni contaminati sono rare.

Comunque nella maggior parte dei casi la diminuzione di *L. monocytogenes* in alimenti pronti, è probabilmente il risultato degli sforzi fatti dalle industrie alimentari per migliorare l'igiene dei loro prodotti. Indagini longitudinali in Francia, Inghilterra e Galles suggeriscono che, almeno per alcuni tipi di prodotti alimentari, ci

sono stati miglioramenti nei livelli di contaminazione da *L. monocytogenes* tra il 1980 e il 1990 (Goulet et al., 2001; McLauchlin, 2006).

Raramente si sono rintracciati gli alimenti implicati nei casi sporadici di listeriosi. Ad esempio, la tipizzazione molecolare dei ceppi isolati da carne di maiale in Francia (Hong et al., 2007), formaggi in Portogallo (Malak et al., 2001) e formaggi in Belgio (Leite et al., 2006), non ha trovato nessuno scontro con i ceppi isolati dai pazienti.

Le indagini su alimenti effettuate dopo il parere SCVPH del 1999 non solo hanno raccolto dati sulla prevalenza e sui livelli di contaminazione di *L. monocytogenes* in diversi tipi di prodotti alimentari, ma hanno messo in evidenza anche le associazioni con altri parametri che forniscono una base per il controllo di questo batterio nella filiera alimentare. I parametri connessi alla presenza del batterio comprendono il tipo di imballaggio alimentare, la procedura di preparazione (ad esempio l'utilizzo di affettatrici per prodotti a base di carne), le temperature di stoccaggio, la fase della vita commerciale in cui è effettuato il campionamento, la mancanza di un efficace sistema HACCP e la mancanza di addestramento e formazione degli addetti alla manipolazione degli alimenti (Lewis et al., 2006; Lianou e Sofos, 2007; Little et al., 2007; Sagoo et al., 2007).

#### 4.2. Origine della contaminazione degli alimenti

Il parere SCVPH 1999 segnala in alimenti di origine animale contaminazioni di *L. monocytogenes* tra 1 e 10%. Questo concorda con la maggior parte delle indagini elaborate nelle Relazioni sintetiche comunitarie del 2005 e 2006 (EFSA, 2006; EFSA, 2007a), tranne che per alcune indagini con una maggiore proporzione (fino a un terzo) di animali positivi segnalati nel 2006.

Il parere SCVPH 1999 descrive la presenza di *L. monocytogenes* negli ambienti degli stabilimenti di lavorazione degli alimenti, che diventano una fonte di contaminazione per gli alimenti durante la lavorazione. Questo è stato confermato da diversi studi utilizzando metodi di tipizzazione molecolare. Nel pesce affumicato, la maggior parte dei ceppi isolati nei prodotti finiti pronti al consumo sono stati più volte isolati ceppi provenienti dagli impianti di lavorazione (Lappi et al., 2004; Nakamura et al., 2004; Thimothe et al., 2004). La prevalenza di *L. monocytogenes* è più alta nel prodotto lavorato che non nel pesce crudo (Medrala et al., 2003) ciò indica la presenza del batterio negli impianti di lavorazione con conseguente contaminazione. Allo stesso modo, nel corso di un riesame su *L. monocytogenes* in prodotti a base di carne di maiale crudi, Thevenot et al. (2006) giungono alla stessa conclusione, la contaminazione solitamente aumenta durante la lavorazione. La presenza di *L. monocytogenes* sulla superficie di salsicce tipo wurstel confezionate (Luchansky et al., 2002) è probabilmente il risultato di una post contaminazione in lavorazione. Sono state segnalate prove della contaminazione con *L. monocytogenes* negli ambienti di lavorazione di latte crudo nei prodotti lattiero-caseari e di formaggi durante la stagionatura (Waak et al. 2002; Kabuki et al., 2004).

Al fine migliorare il controllo di *L. monocytogenes* negli ambienti di lavorazione degli alimenti sono state proposte delle guide per il campionamento ambientale (Tompkin, 2002).

#### 4.3. Catena del freddo (temperature dei frigoriferi)

La temperatura è uno dei più importanti fattori che influenzano la crescita di *L. monocytogenes* nei prodotti alimentari e le informazioni dettagliate sulle temperature nella catena alimentare sono una condizione indispensabile per un'efficace valutazione del rischio di *L. monocytogenes* negli alimenti pronti al consumo.

Il parere SCVPH non comprende tutte le informazioni in merito alle temperature cui sono sottoposti i prodotti alimentari lungo la catena del freddo, probabilmente a causa della scarsità di questi dati nel 1999. Adesso è noto che le prime fasi della catena del freddo (ad esempio, trasformazione e distribuzione) sono nella maggior parte dei casi controllate in modo soddisfacente (Afchain et al., 2005) e che alcuni banchi vendita al dettaglio e soprattutto i frigoriferi domestici sono meno sotto controllo. La gestione della temperatura durante il trasporto, lo

stoccaggio e la vendita al dettaglio è di solito responsabilità del venditore e non del produttore, mentre il controllo della temperatura nei frigoriferi domestici dipende dalla diligenza del consumatore. Gli alimenti pronti al consumo possono passare una parte considerevole della loro vita commerciale in un frigorifero domestico, piuttosto che in una vendita al dettaglio o nei frigoriferi industriali. Le temperature dei frigoriferi domestici possono quindi avere un effetto significativo sulla sicurezza degli alimenti refrigerati. I dati disponibili sulle temperature dei frigoriferi alla vendita al dettaglio in Europa sono pochi. La tabella 2 riassume i risultati dei sondaggi sulle temperature al dettaglio in Francia, in Slovenia e in Grecia. La temperatura media nelle indagini varia da 3,7 a 5,6 °C.

Tabella 2. **Dati relativi alle temperatura dei frigoriferi al dettaglio in Europa.**

Anno	Paese	n	T <sub>min</sub> °C	T <sub>mean</sub> °C	T <sub>max</sub> °C	Bibliografia
1996	Francia			4.0		(Pierre, 1996)
2001-2003	Francia	314		3.7		(Derens <i>et al.</i> , 2006)
2003	Francia	67	1.4	5.6	9.8	(Afchain <i>et al.</i> , 2005)
2006	Slovenia	1286	-2.2	4.6 (ponderata)	12.2	(Likar and Jevsnik, 2006)
2006	Grecia	30	-0.1	4.4	10.6	(Koutsoumanis and Angelidis,

Il sondaggio in Grecia è stato condotto dal 2004 al 2006, in 9 grandi negozi al dettaglio e la temperatura è stata rilevata con mini dataloggers (ogni 20 minuti per un periodo di una settimana). La temperatura variava da -0,1 a 10,6 °C, con una media di 4,4 °C e una deviazione standard di 2,6 °C. Nel 66,7% dei frigoriferi testati la temperatura era superiore a 4 °C, mentre nel 3,6% dei frigoriferi la temperatura era superiore ai 10 °C.

Nell'Appendice II sono riportati i dati di diciassette indagini provenienti da 7 Stati membri sulle temperature dei frigoriferi domestici. I dati sono disposti in modo da facilitare il confronto tra le indagini, anche se ciò non è sempre possibile a causa dell'uso di parametri e range di temperatura diversi nella raccolta dei dati. Dagli 11 studi (1924 campioni) nei quali si riporta la temperatura media, questa varia da 5° a 7,2 °C. La media ponderata delle medie è di 6,5 °C. Da questi dati non si evidenziano tendenze regionali o temporali in Europa. Le temperature dei frigoriferi nell'UE sono più alte di quelle degli Stati Uniti d'America, come illustrato dalla Figura 3 che presenta la distribuzione cumulativa di 16 studi recenti (negli anni 2000): 14 europei e 2 statunitensi.

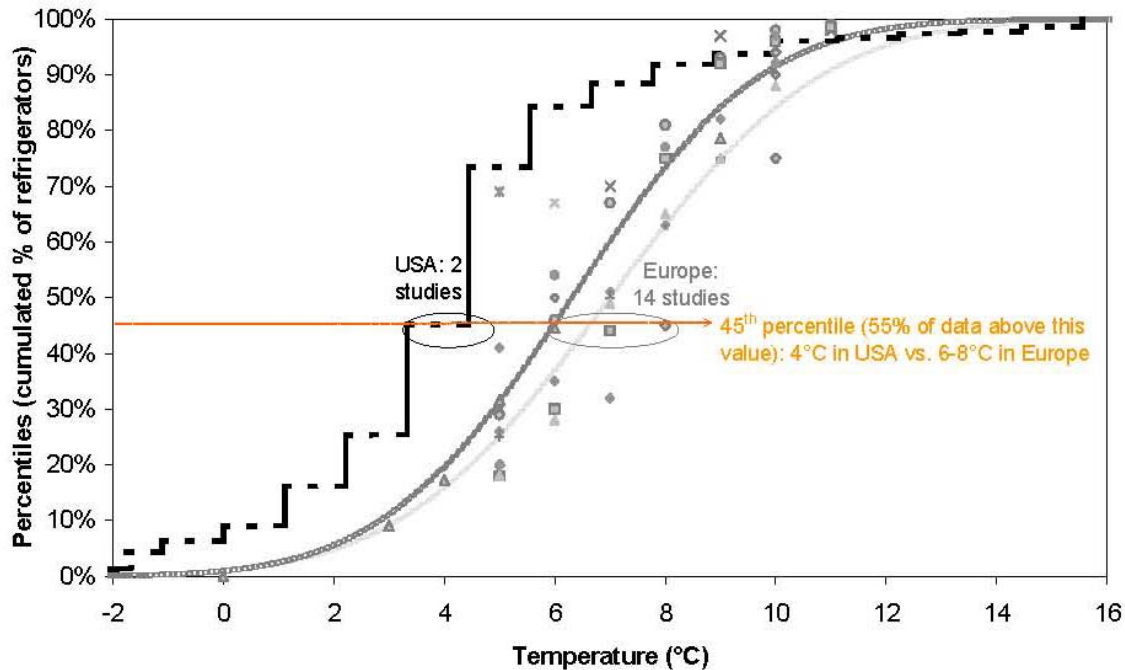


Figura 3. **Distribuzione della temperatura nei frigoriferi domestici nel 2000 in Europa e negli Stati Uniti.** [punti grigi (distribuzione reale) o curva a S (distribuzione teorica) rappresentano i 14 studi in Europa: (AFF, 2000; Guingois, 2000; Volatier, 2000; Laguerre et al., 2002; Bakalis et al., 2003; Ghebrehewet e Stevenson, 2003; Afchain et al., 2005; Azevedo et al., 2005; Kennedy et al., 2005; Taoukis et al., 2005; Terpstra et al., 2005; Breen et al., 2006; ISSP, 2006; Xanthiakos, 2006b) la linea nera (distribuzione reale) rappresentano i 2 studi negli Stati Uniti: (audit - Internazionale., 2000; Kosa et al., 2007)].

In uno di questi sondaggi (Xanthiakos, 2006b), la variabilità della temperatura è stata registrata nelle diverse posizioni del frigorifero (Figura 4). Una temperatura media significativamente più elevata è stata osservata nella porta del frigorifero (8,4 °C) rispetto al ripiano superiore (7,6 °C), al ripiano medio (6,3 °C) e al ripiano inferiore (6,7 °C). Quest'ultima osservazione è importante, dato che alcuni alimenti pronti al consumo come ad esempio il latte pastorizzato, di solito sono conservati nella porta del frigorifero domestico (Xanthiakos, 2006b).

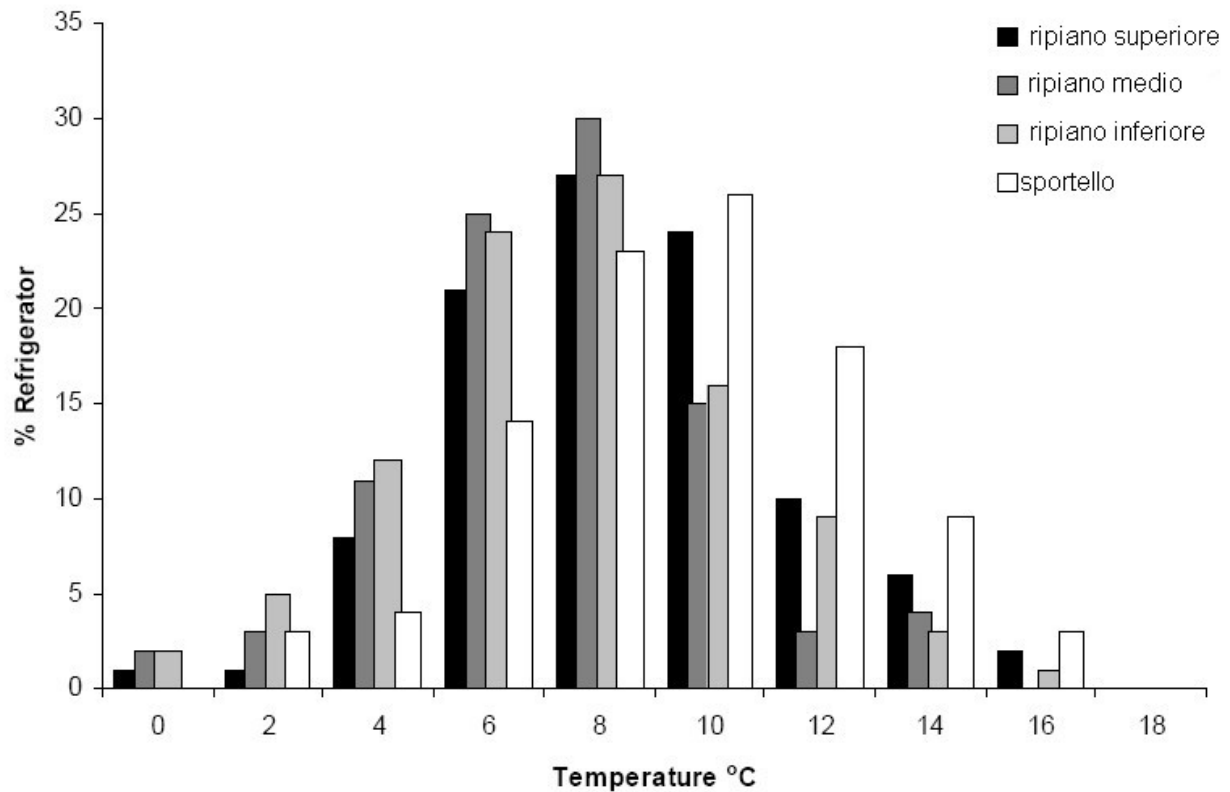


Figura 4. Esempi di temperature rilevate nelle diverse posizioni dei frigoriferi domestici (Xanthiakos, 2006b).

I dati riportati sopra mostrano chiaramente che la temperatura di stoccaggio, sia al dettaglio che a livello domestico può variare notevolmente tra i frigoriferi. A causa di questa variabilità, è molto difficile definire le "condizioni ragionevolmente prevedibili" per la catena del freddo, come indicato nel regolamento (CE) n. 2073/2005. La variabilità della temperatura nella catena del freddo dovrebbe essere presa in considerazione sia nel challenge tests sia nell'uso dei modelli predittivi per stabilire la vita commerciale nei prodotti alimentari.

L'utilizzo di modelli stocastici che tengano conto della variabilità dei fattori che influiscono sulla crescita dei patogeni può essere più efficace nel valutare la conformità con i criteri di sicurezza del regolamento (CE) n. 2073/2005 (Koutsoumanis e Angelidis, 2007).

Le valutazioni del rischio per *L. monocytogenes* in alimenti pronti (FDA/USDA/CDC, 2003; FAO/OMS, 2004) indica che una refrigerazione inadeguata può essere uno dei fattori chiave che contribuire fortemente al rischio di listeriosi. Va notato che questa valutazione del rischio è basata su dati di refrigerazione domestica provenienti dagli Stati Uniti d'America. Sulla base dei dati disponibili, la temperatura del frigorifero domestico europeo è più alta rispetto a quello negli Stati Uniti (Figura 3). Questa differenza potrebbe essere tradotta in un aumento della crescita di *L. monocytogenes* in alimenti pronti al consumo conservati nei frigoriferi domestici in Europa rispetto agli Stati Uniti d'America (per i dettagli vedi Appendice III).

#### 4.4. Curve e modelli di crescita

Il parere SCVPH riporta alcuni esempi dei tassi di crescita di *L. monocytogenes* in alcuni alimenti pronti al consumo. Queste informazioni sono ancora valide e dimostrano la capacità di *L. monocytogenes* di crescere in una vasta gamma di prodotti alimentari. Tuttavia, recenti sviluppi, in particolare nel campo della microbiologia predittiva, che è - come già dichiarato nel parere SCVPH - uno strumento efficace per stimare la crescita di *L. monocytogenes* in diversi gruppi di prodotti alimentari, hanno fornito ulteriori dati e strumenti.

Dal 1999, i principali progressi in materia di crescita batterica hanno riguardato:

- la ricerca di numerose curve di crescita, sia in brodo sia negli alimenti, e la creazione di banche dati che consentano l'accesso a tutti i ricercatori (vedi revisione degli strumenti in Appendice IV),
- lo sviluppo di strumenti idonei per definire curve di crescita con modelli primari, che descrivono il destino della popolazione nel corso del tempo, che consentono di stimare in modo semplice parametri come i tassi di crescita e i tempi di latenza (vedi revisione degli strumenti in Appendice IV),
- la pubblicazione di nuovi modelli secondari, mirati a prevedere il tasso di crescita e, in misura minore, il tempo di latenza di *L. monocytogenes* negli alimenti in funzione dell'ambiente (vedi revisione dei modelli secondari in Appendice V),
- l'integrazione di modelli di microbiologia predittiva nei software di facile utilizzo (vedi revisione degli strumenti in Appendice IV), che permette agli utenti di ottenere diverse informazioni dai modelli in modo rapido e conveniente (McMeekin et al., 2006).

Nonostante l'aumento del numero di dati e modelli per il tasso di crescita e il tempo di latenza di *L. monocytogenes*, i dati quantitativi sugli effetti dell'alimento sulla densità massima della popolazione del patogeno sono limitati.

In alcuni alimenti, la crescita di *L. monocytogenes* potrebbe essere inizialmente rapida per cessare dopo un breve periodo a causa della diminuzione di alcune sostanze nutritive e/o della competizione con la microflora esistente (Dalgaard e Jorgensen, 1998), questo è stato definito l'effetto Jameson (Jameson, 1962; Ross et al., 2000). Ulteriori approfondimenti per valutare ed esprimere in termini quantitativi l'effetto Jameson (ad esempio, modelli matematici) possono aumentare in modo significativo l'accuratezza della valutazione del rischio (Coleman et al., 2003; Pouillot et al. 2007).

Un altro aspetto importante riguardo l'uso di modelli predittivi è la variabilità naturale tra i ceppi di *L. monocytogenes*. La maggior parte dei modelli disponibili per *L. monocytogenes* si basano su dati di crescita di un singolo ceppo. Diversi studi hanno riportato che la cinetica di crescita di *L. monocytogenes* può variare notevolmente tra i diversi ceppi (Begot et al., 1997; Lianou e Sofos, 2007). La variabilità dei ceppi deve essere presa in considerazione al momento dell'esecuzione dei challenge tests per la validazione di modelli utilizzando inoculi costituiti da miscele di ceppi.

Sebbene la microbiologia predittiva resti un valido strumento per valutare la crescita di *L. monocytogenes* negli alimenti, è importante capire le limitazioni dei modelli predittivi. La maggior parte dei modelli disponibili sono sviluppati in laboratorio, incluso l'effetto di alcuni fattori ambientali sulla crescita microbica, e sono stati validati con esperimenti su prodotti alimentari. Negli alimenti, tuttavia, la crescita microbica può essere influenzata da altri fattori che non sono inclusi nei modelli, quali lo stato fisiologico delle cellule, la struttura dell'alimento, la competizione microbica o la presenza di composti antimicrobici. In generale, si è osservato che la crescita negli alimenti è più lenta di quanto previsto dalla crescita nei modelli sviluppati in brodo. È stato anche osservato che *L. monocytogenes* in alimenti contaminati naturalmente cresce più lentamente che in alimenti contaminati artificialmente (Dalgaard e Jorgensen, 1998).

Le osservazioni fatte sopra comunque non sono assolute, poiché esiste una grande variabilità delle previsioni soprattutto nelle condizioni vicino al limite di crescita (Giffel te e Zwietering, 1999). Pertanto l'uso di modelli predittivi dovrebbe sempre essere combinato con studi di validazione basati su dati di crescita ottenuti in alimenti contaminati artificialmente (con il challenge test) o, meglio ancora, alimenti contaminati naturalmente (con le prove di stoccaggio, o gli studi di conservabilità).

#### 4.5. Modelli di crescita/non crescita

La modellizzazione nel comportamento dei microrganismi in crescita/non crescita è ora riconosciuta come una componente importante della "moderna" microbiologia predittiva (McMeekin et al. 1997; te Giffel e Zwietering, 1999; McMeekin et al., 2000; McMeekin et al., 2002). Questo aspetto era ancora poco conosciuto alla fine degli anni 1990, il che spiega il motivo per cui non è stato pienamente affrontato nel parere SCVPH.

Modelli microbici di crescita/non crescita quantificano l'effetto combinato di vari ostacoli sulla probabilità di crescita e definisce le combinazioni di condizioni ambientali in cui la crescita cessa. Questi modelli sono preziosi strumenti per valutare il rischio di crescita di *L. monocytogenes* nei prodotti alimentari poiché tengono conto dell'influenza della ricetta (formulazione), delle condizioni di lavorazione e stoccaggio. Sono stati descritti diversi modelli di crescita/non crescita per *L. monocytogenes* (Tienungoon et al., 2000; Koutsoumanis et al., 2004; Augustin et al., 2005; Le Marc et al. 2005; Valero et al., 2007; Vermeulen et al., 2007). In figura 5 è presentata la crescita/non crescita di *L. monocytogenes* tra 4° e 10°C rispetto ai valori di pH e  $a_w$  previsti da quattro diversi modelli con un livello di probabilità di 0,1. Essa mostra che i limiti di crescita sono significativamente influenzati dai ceppi utilizzati per lo sviluppo dei modelli.

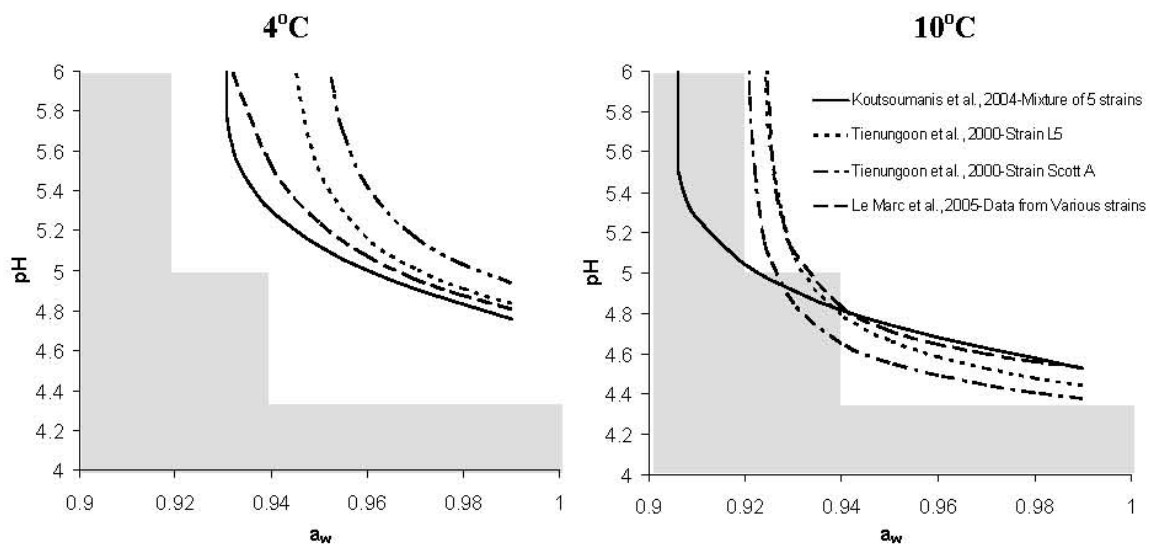


Figura 5. **Crescita / non crescita di *L. monocytogenes* a 4 °C (a sinistra) e 10 °C (a destra) rispetto ai valori di pH e  $a_w$  previsti da quattro diversi modelli disponibili con un livello di probabilità di 0,1.** Nota: l'area ombreggiata indica la combinazione di pH e  $a_w$  stabilita nel regolamento (CE) n. 2073/2005 come la condizione che non consente la crescita di *L. monocytogenes* ( $pH \leq 4,4$  o  $a_w \leq 0,92$ , o  $pH \leq 5,0$  e  $a_w \leq 0,94$ )

Nella Figura 5 si confrontano i limiti di crescita predetti dai modelli disponibili con le combinazioni di pH e  $a_w$  stabiliti nel regolamento (CE) n. 2073/2005, come condizioni che non consentono la crescita di *L. monocytogenes* ( $\text{pH} \leq 4,4$  o  $a_w \leq 0,92$ , o  $\text{pH} \leq 5,0$  e  $a_w \leq 0,94$ ). A 4 °C i limiti di pH e  $a_w$  previsti per la crescita da parte di tutti i modelli sono notevolmente superiori ai limiti di crescita definiti nel regolamento (CE) n. 2073/2005.

A 10 °C alcuni modelli predicono la crescita con le combinazioni di pH e  $a_w$  definite nel regolamento come condizioni che non consentono la crescita. Pertanto la capacità di un alimento di favorire la crescita di *L. monocytogenes* dipende dalla temperatura di stoccaggio.

Tuttavia questi modelli sono stati sviluppati utilizzando i dati ottenuti da terreni microbiologici liquidi (brodi). Questi modelli non prendono in considerazione fattori come la struttura dell'alimento o il fenomeno della competizione microbica che possono bloccare la crescita dei patogeni (Brocklehurst et al., 1997; e Dalgaard Jorgensen, 1998; Pin et al., 1999; Nguyen-the e Carlin, 2000; Wilson et al., 2002; Koutsoumanis et al., 2004). Infatti è riportato che la probabilità di crescita di *L. monocytogenes* in terreni solidi (agar) è significativamente più bassa rispetto a quella in terreni liquidi (brodi). In quest'ultimo studio i valori minimi di pH che permettono la crescita a 25 °C in brodo e agar sono stati rispettivamente 4,45 e 5,10, mentre i rispettivi limiti di  $a_w$  sono stati 0,900 e 0,942. Inoltre la maggioranza dei modelli disponibili di crescita/non crescita si basa su un inoculo di dimensioni elevate. Diversi studi hanno dimostrato che con l'aumentare della dimensione dell'inoculo aumenta anche la probabilità di crescita (Razavilar e Genigeorgis, 1998; Masana e Baranyi, 2000; Pascual et al. 2001; Robinson et al., 2001; Koutsoumanis e Sofos, 2005). Considerando che la contaminazione degli alimenti è spesso a livelli molto bassi, si prevede che la probabilità di crescita di *L. monocytogenes* negli alimenti sia molto inferiore rispetto a quanto previsto dai modelli.

## 5. Caratterizzazione del rischio (aggiornamento del § 4.4. del parere del 1999)

### 5.1. Nuove informazioni da recenti studi di valutazione del rischio

Al parere SCVPH ha fatto seguito il nuovo approccio dell'Analisi dei Rischi Microbiologici (CAC, 1999). La filosofia del risk assessment (valutazione del rischio) come base scientifica per l'implementazione delle misure di risk management (gestione del rischio) è accettata in tutto il mondo. Nuovi studi di risk assessment sono stati elaborati per la presenza di *L. monocytogenes* negli alimenti.

Diverse valutazioni quantitative del rischio sono state intraprese per affrontare i temi connessi ai relativi rischi di listeriosi tra i diversi alimenti pronti al consumo e i fattori che contribuiscono a tali rischi.

Le valutazioni del rischio governative attualmente disponibili includono una valutazione del rischio comparativa di 23 categorie di alimenti pronti al consumo (FDA/USDA/CDC, 2003), una valutazione del rischio comparativa di quattro alimenti pronti al consumo (FAO/WHO, 2004) e un'analisi di percorso di un prodotto/processo (FSIS, 2003). Inoltre, sono state pubblicate diverse valutazioni del rischio che mettono a fuoco singoli prodotti pronti al consumo, per esempio: formaggi a latte crudo (Sanaa ed altri., 2004), salmone affumicato o marinato, trota arcobaleno (Lindqvist e Westöö, 2000), prosciutto di Parma (Giovannini et al., 2007) e salumi incentrati sulle pratiche di manipolazione degli alimenti in ambiente domestico (Yang ed altri., 2006) e salmone affumicato a freddo (Pouillot ed altri., 2007).

Le valutazioni del rischio governative, articolano concetti che i paesi possono utilizzare per identificare e categorizzare i prodotti pronti al consumo che rappresentano un rischio significativo di malattie alimentari come la listeriosi, così come i più recenti studi sulle caratteristiche specifiche degli alimenti pronti al consumo hanno evidenziato che gli alimenti possono essere classificati in base alla probabilità che *L. monocytogenes* sia presente e in base alla loro capacità di favorirne la crescita.

## 5.2. Focus della FAO/OMS sulle conclusioni del risk assessment

Il comitato misto di esperti FAO / OMS di consultazione per la valutazione del rischio dei pericoli microbiologici in prodotti alimentari (JEMRA) ha concluso che le questioni relative ai problemi sulla sicurezza alimentare possono essere affrontate per ampliare e/o adeguare gli elementi della valutazione del rischio effettuata a livello nazionale. Essi hanno anche dimostrato che i modelli preesistenti e l'insieme dei dati può servire come base per quantificare gli sforzi per la valutazione del rischio. Il gruppo ha inoltre identificato un certo numero di settori in cui ci sono lacune nei dati e ha indicato la necessità di migliorare l'acquisizione dei dati di prevalenza e di crescita di *L. monocytogenes* negli alimenti e l'incidenza della listeriosi come malattia alimentare.

Una parte importante dello studio relativo alla caratterizzazione del pericolo (dose-risposta) è dettagliata nel § 3.2 di questo parere.

### 5.2.1. Limiti microbiologici

Le prime conclusioni per quanto riguarda la caratterizzazione del rischio si basavano su calcoli teorici (generici per tutti prodotti alimentari pronti al consumo). Nella stima del rischio da *L. monocytogenes* negli alimenti è stato sviluppato un esempio in cui il numero di microrganismi varia dall'assenza in 25 g a un numero non ben definito al momento del consumo (ad esempio, 1000 ufc/g). Sono state formulate un certo numero di ipotesi e per calcolare la dose ingerita è necessario conoscere le dimensioni della porzione. La porzione corrispondente a 31,6 g è stata scelta per comodità al fine di semplificare i calcoli. Per calcolare la concentrazione in altre porzioni, il livello della dose dovrebbe essere separato dalle dimensioni della porzione (cfr. FAO/OMS, 2004).

Le curve dose-risposta sono state sviluppate per la popolazione sana e per la popolazione sensibile e comprendono l'intero range di dosi ingerite (cioè non limitata a 1000 ufc/g di alimento). Ai fini dell'esempio è stata utilizzata solo la curva dose-risposta per la popolazione sensibile, ed è stato presunto che tutti i casi di listeriosi siano limitati a questa popolazione. La curva dose/risposta specifica selezionata è quella comprendente il livello massimo di *L. monocytogenes* che potrebbe crescere in un prodotto alimentare, pari a  $10^{7.5}$  ufc/porzione. Per i calcoli, è stato utilizzato il modello dose-risposta più "tradizionale", vale a dire è stata assunta la massima virulenza di *L. monocytogenes*.

L'impatto globale sul numero di casi di listeriosi è stato stimato moltiplicando il rischio di listeriosi per porzione per il numero totale di porzioni. Per questo calcolo, il numero totale di porzioni di alimenti pronti al consumo è stato assunto in  $6.41 \times 10^{10}$  porzioni, vale a dire la stima del numero totale annuo di porzioni negli Stati Uniti d'America per le 20 classi di alimenti pronti al consumo considerati da FDA / FSIS nel progetto di valutazione del rischio (FDA/FSIS, 2001). Il numero di casi di listeriosi per la popolazione sensibile è stato previsto pari a 2.130 (FDA/FSIS, 2001).

Un approccio più realistico è stato impiegato quando si è considerata la distribuzione dei livelli di *L. monocytogenes* negli alimenti al momento del consumo. È stata utilizzata la distribuzione dei livelli di *L. monocytogenes* in 20 classi di alimenti pronti al consumo della valutazione del rischio FDA/FSIS (FDA/FSIS, 2001). Questa distribuzione è stata poi utilizzata per calcolare la probabilità di listeriosi e il numero di casi di listeriosi prevedibili. Ad ogni livello massimo di *L. monocytogenes* considerato, il numero di porzioni distribuite al di sopra del valore stabilito è stato sommato a quello stesso livello massimo.

Ad esempio, per un limite massimo di 1000 ufc/g, il numero di porzioni è  $6,23 \times 10^7$  (porzioni originariamente previste con 1'000 ufc/g) +  $2,94 \times 10^7$  (porzioni originariamente previste con 10'000 ufc/g) +  $1,39 \times 10^7$  (porzioni originariamente previste con  $10^5$  ufc/g) +  $3,88 \times 10^6$  (porzioni originariamente previste con  $10^{5.5}$  ufc/g) + 8,55

$\times 10^6$  (porzioni originariamente previste  $> 10^6$  ufc / g) =  $1,18 \times 10^8$  porzioni. Il numero annuale previsto di casi di listeriosi è stato quindi calcolato e sommato per ciascun livello di contaminazione. Il numero previsto di casi di listeriosi per ogni livello massimo è mostrato in tabella 3.

Tabella 3. Numero annuo di casi di listeriosi previsti nella popolazione sensibile negli Stati Uniti, quando si è stabilito che il livello di *L. monocytogenes* non supera uno specificato valore massimo e il livello di *L. monocytogenes* negli alimenti è distribuito come indicato dalla FAO/OMS (2004)

Livello (ufc/g)	Dose massima (ufc/porzione) <sup>a</sup>	% cumulative di porzioni con livelli massimi <sup>b</sup>	Stima del numero di casi di listeriosi per anno <sup>c</sup>
0.04 (assente in 25g)	1	100	0.5
0.1	3	3.6	0.5
1	32	1.7	0.7
10	316	0.8	1.6
100	3,160	0.4	5.7
1,000	31,600	0.2	25.4

(a) porzione di 31,6 g.

(b) Numero di porzioni consumate con il più alto livello di *L. monocytogenes*, diviso per  $6,41 \times 10^{10}$  moltiplicato 100

(c) Livelli di *L. monocytogenes* per porzione utilizzati per calcolare il numero di casi previsti basati sulla distribuzione della valutazione del rischio FDA / FSIS (2001). Un totale di  $6,41 \times 10^{10}$  porzioni per anno è stata consumata dalla popolazione negli Stati Uniti.

### 5.2.2. Deviazioni dai limiti

Un semplice scenario "what-if" (che cosa succede se) è stato sviluppato descrivendo l'impatto del livello di conformità ai limiti microbiologici sulla salute pubblica. Due limiti spesso discussi: 0,04 ufc/g (assenza in 25 g) e 100 ufc/g, sono stati esaminati congiuntamente con "tassi di difettosità" diversi (un "tasso di difettosità" è la percentuale di porzioni che superano questo limite). Per semplificare il modello è stato stabilito un unico livello di contaminazione da *L. monocytogenes* per tutte le porzioni "difettose", pari a  $10^6$  ufc/g. Questa ipotesi focalizza lo scenario sul gruppo di porzioni difettose responsabili della maggioranza dei casi di listeriosi. I dati in tabella 3 dimostrano che rispetto al 100% di conformità, il numero di casi previsti da 0 ufc in 25g e 100 ufc/g è basso, con una differenza approssimativa di circa 10 volte che va da 0,5 casi a 5,7 casi.

Come previsto, il numero di casi aumenta con l'aumentare della frequenza delle porzioni difettose (vale a dire porzioni con un numero di *L. monocytogenes* intorno ai limiti) (tabella 4). A un tasso di difettosità  $> 0,0001\%$ , il limite microbiologico (vale a dire 0,04 ufc/g rispetto a 100 ufc / g) incide solo marginalmente sul numero di casi previsti e un aumento di 10 volte dei pezzi difettosi si traduce approssimativamente in un aumento di 10 volte del numero di casi previsti, indipendentemente da questo limite. Se il limite è 1.000 ufc/g si giunge alle stesse conclusioni (vale a dire l'impatto marginale del limite stesso) per tassi di difettosità superiori a 0,001% (tabelle 3 e 4). Sulla base delle condizioni di questo semplice scenario "che cosa succede se", il tasso di difettosità che ha dato un valore circa equivalente al valore di base di 2130 casi, come nel progetto sulla valutazione del rischio FDA / FSIS (2001) è stato di 0,018%. Ciò è coerente con il tasso di difettosità (0,013%) stimato per questo livello di contaminazione dalla FDA/FSIS (2001) e con l'osservazione che la relazione dose-risposta prevede che questo gruppo di porzioni difettose siano responsabili della maggior parte dei casi di listeriosi alimentare.

Tabella 4. Scenario ipotetico "che cosa succede se" dimostrazione dell'effetto che la quota di porzioni "difettose" ha sul numero di casi previsti di listeriosi alimentare

Percentuale presunta di porzioni difettose <sup>(a)</sup>	Numero di casi di listeriosi presunti <sup>(b)</sup>	
	Standard iniziale di 0.04 ufc/g (assente in 25g)	Standard iniziale di 100 ufc/g
0 (vedi tabella3)	0.5	5.7
0.00001	1.7	6.9
0.0001	12.3	17.4
0.001	119	124
0.01	1.185	1.191
0.018	2.133	2.133
0.1	11.837	11.848
1	117.300	117.363

(a) Ai fini di questo scenario, tutte le porzioni difettose per assunto contengono  $10^6$  ufc / g.

(b) Ai fini di questo scenario, è stato considerato un valore r (vedere paragrafo 3) di  $5,85 \cdot 10^{-12}$  e una porzione standard di 31,6 g. Nel caso si calcoli 100 ufc/g, le porzioni difettose si presume siano proporzionalmente distribuite in base al numero di porzioni all'interno di ogni classe di concentrazione.

### 5.2.3. Categorie di alimenti

La caratterizzazione del rischio nella valutazione del rischio della FAO/OMS si basa sulla valutazione dell'esposizione per sei alimenti pronti al consumo a partire dalla prevalenza e dal livello di concentrazione iniziali al dettaglio fino alla concentrazione finale nelle porzioni contaminate. Nel tentativo di stimare i casi di listeriosi per porzione per ciascuno dei sei prodotti alimentari sono stati utilizzati la caratterizzazione del rischio basata sul grado di esposizione a *L. monocytogenes* al momento del consumo e i modelli dose-risposta. Il gruppo di esperti OMS/FAO per la valutazione del rischio ritiene che i dati quantitativi sui livelli di contaminazione da *L. monocytogenes* e la prevalenza dei casi di listeriosi dovrebbero essere ottenute da varie regioni del mondo.

Queste informazioni dovrebbero essere sviluppate per determinare se esistono la stagionalità e/o le differenze regionali e l'influenza del clima e delle stagioni nelle diverse regioni del mondo. Pertanto non ci sono indicazioni per considerazioni di livello regionale.

Gli studi di valutazione del rischio stimano il rischio da *L. monocytogenes* in alimenti che ne favoriscono la crescita e in alimenti che non ne favoriscono la crescita in specifiche condizioni di stoccaggio e di vita commerciale. Per gli alimenti che favoriscono la crescita, è prevedibile un aumento del numero di cellule di *L. monocytogenes* fra il dettaglio e il consumo e c'è un rischio significativo del superamento dell'ipotetico criterio stabilito. Tuttavia, questo non dovrebbe essere il caso per gli alimenti che non ne favoriscono la crescita. Così per i prodotti alimentari che non favoriscono la crescita di *L. monocytogenes*, il numero previsto di casi in relazione alla dose massima nel commercio al dettaglio dovrebbero essere gli stessi di quelli definiti per le dosi al momento del consumo.

Sono stati utilizzati tre approcci diversi per dimostrare l'effetto della crescita di *L. monocytogenes* sul rischio di listeriosi associata agli alimenti pronti al consumo. È evidente che il potenziale di crescita influenza fortemente il rischio anche se l'entità di tale aumento è in relazione alle caratteristiche dell'alimento, alle condizioni e alla durata dello stoccaggio in frigorifero. Comunque utilizzando gli esempi forniti nella valutazione del rischio, la capacità di questi alimenti pronti al consumo di favorire la crescita di *L. monocytogenes* sembra aumentare il rischio di listeriosi per ogni porzione da 100 a 1000 volte più di quello che sarebbe stato se gli alimenti non ne favorissero la crescita. Mentre non è possibile presentare un unico valore per l'aumento del rischio di tutti gli alimenti pronti al consumo, a causa delle diverse caratteristiche dei prodotti alimentari, la gamma di valori aiuta

a capire le dimensioni dell'aumento del rischio che può derivare dalla capacità di un alimento di favorire la crescita di *L. monocytogenes*.

Per classificare gli alimenti a seconda del rischio relativo di listeriosi è importante distinguere il rischio per porzione e il rischio per anno (FDA/USDA/CDC, 2003).

- Il rischio per porzione è in funzione del tasso di contaminazione dell'alimento, della sua capacità di favorire la crescita di *L. monocytogenes*, della vita commerciale, della temperatura e della durata degli alimenti e della dimensione della porzione. Questo è il rischio per il singolo consumatore. Questa stima del rischio fornisce la base per le decisioni ai fini della gestione del rischio relativo ad ogni categoria di alimento
- Il rischio per anno tiene anche conto del numero di porzioni della categoria di alimenti consumati ogni anno. È relativo al contributo della categoria di alimenti per il numero totale di casi di listeriosi nella popolazione, vale a dire l'"impatto sulla salute" dell'alimento.

Ad esempio, negli Stati Uniti (FDA/USDA/CDC, 2003) gli hot-dog (non riscaldati) sono stati classificati come "ad alto rischio per porzione" e "ad alto rischio per anno" perché sono consumati in grandi quantità. Il latte pastorizzato è stato classificato come "a basso rischio per porzione" ma "ad alto rischio per anno" perché è consumato in grandi quantità. Al contrario il latte non pastorizzato è stato classificato come "ad alto rischio per porzione" ma come "rischio moderato per anno" a causa della scarsa quantità consumata.

### 5.3. Osservazioni conclusive sulla Valutazione Quantitativa del Rischio Microbiologico (QMRA)

I modelli sviluppati prevedono che quasi tutti i casi di listeriosi derivino dal consumo di elevati numeri di patogeno. Viceversa i modelli predittivi prevedono che il consumo di un basso numero di *L. monocytogenes* ha una bassa probabilità di provocare la malattia ed è responsabile della minoranza dei casi. La vecchiaia e la gravidanza aumentano la sensibilità e quindi il rischio di contrarre listeriosi con l'esposizione. Allo stesso modo, le malattie e gli interventi chirurgici che compromettono gravemente il sistema immunitario incrementano notevolmente i rischi.

Le misure di controllo che riducono la frequenza di contaminazione implicano una proporzionale riduzione dei tassi di malattia a condizione che le porzioni di contaminazioni siano ridotte allo stesso modo.

Le misure di controllo che prevencono il raggiungimento di elevati livelli di contaminazione al momento del consumo farebbero pensare a un maggiore impatto sulla riduzione dei tassi di listeriosi. La contaminazione con un numero elevato di *L. monocytogenes* in produzione e alla vendita al dettaglio è rara, alimenti come gelati e alcuni prodotti a base di carne fermentata che non consentono la crescita nel corso dello stoccaggio hanno un rischio relativamente basso per porzione e un basso rischio annuale per la popolazione. Negli alimenti che favoriscono la crescita durante la conservazione, in particolare se conservati a temperature più alte o per tempi più lunghi, il basso numero di *L. monocytogenes* in produzione e alla vendita al dettaglio può aumentare durante lo stoccaggio a livelli che rappresentano un elevato rischio di provocare la listeriosi.

Sebbene elevati livelli di contaminazione al dettaglio siano relativamente rari, il miglioramento della salute pubblica potrebbe essere conseguito mediante la riduzione della contaminazione durante la produzione e la vendita al dettaglio degli alimenti pronti al consumo. Negli alimenti pronti al consumo che favoriscono la crescita le misure di controllo, come ad esempio un migliore controllo della temperatura o una durata più limitata del periodo di conservazione, ridurrebbero il rischio dovuto alla crescita di *L. monocytogenes*.

Per ridurre il verificarsi di alti livelli di contaminazione sarebbe auspicabile anche la riformulazione degli alimenti in modo da non favorire la crescita e quindi ridurre il rischio di listeriosi. La stragrande maggioranza dei casi di listeriosi è associata al consumo di alimenti che non soddisfano gli standard attuali per *L. monocytogenes* negli alimenti, sia con lo standard "tolleranza zero" sia con 100 ufc/g.

La categorizzazione degli alimenti pronti al consumo in relazione al rischio di listeriosi dipende sia dalla frequenza di consumo sia dalla prevalenza e dal numero di *L. monocytogenes* nell'alimento al momento del consumo. I numeri di questi batteri negli alimenti nei punti di consumo dipende dalla capacità degli alimenti di favorire la crescita di *L. monocytogenes*, dalla temperatura di refrigerazione e dalla durata dello stoccaggio (FAO / OMS, 2004).

L'esito della valutazione del rischio è la seguente:

- Il più grande rischio associato ad alimenti pronti al consumo è la piccola percentuale di prodotti con un elevato livello di contaminazione da *L. monocytogenes*.
- Tutte le valutazioni del rischio concordano che di alimenti che favoriscono la crescita di *L. monocytogenes* ad alti livelli dovrebbero essere l'obiettivo delle misure di gestione del rischio.

La componente chiave di un buon programma di gestione del rischio è la garanzia che le misure di controllo (ad esempio, impedire la contaminazione e la crescita dei patogeni) siano costantemente raggiunte. Tutte le valutazioni del rischio hanno individuato i sottogruppi della popolazione con aumentata sensibilità e quindi un maggiore rischio di contrarre listeriosi: persone anziane, donne incinte e persone immuno-depresse. Nella valutazione del rischio, a livello del consumatore, c'è il contributo più significativo all'aumento del rischio attraverso abusi della temperatura e in particolare l'elevata temperatura di refrigerazione.

## 6. Criteri microbiologici e categorie di alimenti pronti al consumo

Nel discutere possibili misure di prevenzione, SCVPH (1999) ha affermato che *"il punto critico si riferisce principalmente al potenziale di crescita di L. monocytogenes negli alimenti"*, e ha proposto che per *"L. monocytogenes le condizioni di sopravvivenza e di moltiplicazione possono essere utilizzate per suggerire raggruppamenti di prodotti commercializzati e regimi di produzione"*.

Le informazioni ottenute dal parere SCVPH sostengono ancora l'importanza di concentrarsi su alimenti che favoriscono la crescita di *L. monocytogenes* (vedi sezione 5). Il parere SCVPH ha proposto una classificazione in base alla capacità di *L. monocytogenes* di crescere in alimenti pronti al consumo e criteri per le varie categorie. Nel 2005, il regolamento (CE) n. 2073/2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari definisce una classificazione molto semplice: alimenti che favoriscono o non favoriscono la crescita e alimenti pronti per lattanti e a fini medici speciali. Questo regolamento definisce diversi "criteri di sicurezza alimentare" per ciascuna delle categorie di alimenti pronti al consumo: assenza in 25 g per tutta la vita commerciale per i prodotti alimentari destinati a consumatori a 'rischio', (alimenti per lattanti e a fini medici speciali); al di sotto di 100 ufc/g per gli alimenti pronti incapaci di favorire la crescita di *L. monocytogenes* durante la loro vita commerciale e tutti i prodotti con una vita commerciale inferiore a 5 giorni; assenza in 25 g alla produzione e al di sotto di 100 ufc/g durante la vita commerciale per alimenti pronti al consumo in grado di favorire la crescita di *L. monocytogenes*. I criteri al di sotto di 100 ufc/g durante la vita commerciale probabilmente saranno applicati durante la vendita al dettaglio. Per alimenti che favoriscono la crescita di *L. monocytogenes*, a seconda delle condizioni fra il dettaglio e il consumo, il limite di 100 ufc/g può essere superato al momento del consumo.

Lo scopo dei criteri di sicurezza alimentare è di prevenire l'esposizione dei consumatori di alimenti pronti al consumo a un elevato numero di *L. monocytogenes*.

I criteri di sicurezza alimentare hanno introdotto standard armonizzati nella UE con un impatto sull'intera filiera alimentare, poiché il rischio di richiamo dei prodotti e le conseguenti perdite economiche per gli OSA sono una forte motivazione a soddisfare questi criteri (EFSA, 2007b). Tuttavia l'applicazione dei criteri microbiologici è solo una delle varie attività di gestione per garantire che gli alimenti pronti al consumo siano a basso rischio per la salute umana. Le analisi microbiologiche effettuate solo per verificare la conformità con i criteri possono

trasmettere falsi sensi di sicurezza a causa delle limitazioni statistiche dei piani di campionamento (EFSA, 2007b). I criteri di sicurezza alimentare non dovrebbero essere considerati senza l'implementazione di efficaci programmi di controllo basati sui principi HACCP.

In aggiunta ai criteri, il regolamento (CE) n. 2073/2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari, ha introdotto anche l'obbligo per gli operatori del settore alimentare "di condurre studi per esaminare la conformità con i criteri lungo la vita commerciale", per gli alimenti pronti al consumo in grado di favorire la crescita di *L. monocytogenes*. Queste indagini devono tener conto delle "condizioni di conservazione ragionevolmente prevedibili" (in particolare la temperatura e la vita commerciale) e dovrebbero considerare il grado di variabilità delle temperature di refrigerazione osservate in Europa, in particolare nei frigoriferi domestici (vedere paragrafo 4.3).

Nel 2007 la Commissione del Codex Alimentarius (CAC, 2007) ha proposto un nuovo documento per i criteri microbiologici per *L. monocytogenes* in alimenti pronti al consumo (fase 3). Al pari del Regolamento (CE) n. 2073/2005 in cui il criterio per gli alimenti pronti al consumo che non favoriscono la crescita di *L. monocytogenes* è inferiore a 100 ufc/g durante la vita commerciale. Tuttavia il documento del Codex propone un criterio più rigoroso per gli alimenti pronti che favoriscono la crescita di *L. monocytogenes* rispetto al regolamento (CE) n. 2073/2005, e cioè l'assenza in 25 g durante la vita commerciale. Questo criterio potrebbe portare all'eliminazione di tutti gli alimenti che non avrebbero superato il limite di 100 ufc/g al momento del consumo.

Nel documento Codex è proposto il limite di 100 ufc/g per tutta la vita commerciale per gli alimenti che favoriscono la crescita a condizione che il fabbricante possa dimostrare che un prodotto non supererà le 100 ufc/g per tutta la vita commerciale. Tuttavia tale dimostrazione sarà difficilmente raggiungibile con un elevato grado di certezza, in particolare a causa delle variazioni nelle condizioni di stoccaggio domestico (inclusi temperatura e durata) e della variabilità nella composizione degli alimenti.

## CONCLUSIONI E RACCOMANDAZIONI

### CONCLUSIONI

ToR1: Aggiornamento della letteratura scientifica a partire dal precedente parere SCVPH sul rischio connesso a *Listeria monocytogenes* negli alimenti pronti al consumo

- Un aumento del numero di casi di listeriosi, malattia prevalentemente a carattere alimentare, è stato osservato in diversi paesi dell'Unione europea dal 2000.
- Questo aumento riguarda persone con più di 60 anni, in particolare quelli con sistema immunitario compromesso.
- Il numero dei grandi focolai di listeriosi (più di 50 casi) è diminuito dal 1999 e la grande maggioranza sono casi sporadici di listeriosi.
- I meccanismi molecolari della virulenza di *L. monocytogenes* oggi sono compresi meglio così come la pertinenza dei vari modelli animali e *in vitro*. La bassa virulenza di alcuni ceppi di *L. monocytogenes* è stata dimostrata *in vitro* ed *in vivo*, anche se non si è andati oltre la via orale di infezione relativa ai modelli animali. Allo stato attuale, i metodi di routine non consentono la differenziazione tra ceppi virulenti e non virulenti di *L. monocytogenes*.
- Gli Stati membri hanno stato effettuato un notevole sforzo nelle indagini per accertare la presenza di *L. monocytogenes* nei prodotti alimentari. Le informazioni sulla capacità dei prodotti alimentari di favorire la crescita di *L. monocytogenes* e le informazioni relative al momento del campionamento (vale a dire all'inizio della vita commerciale o al momento del consumo) non sono generalmente fornite. Pertanto, per la maggior parte delle indagini, non è possibile valutare l'impatto dei campioni contaminati sul rischio per la salute dei consumatori.
- Un confronto tra la maggior parte delle indagini non è possibile a causa delle diversità nelle modalità di campionamento, nel sito di prelievo e nella randomizzazione durante il campionamento. In alcuni casi i campioni sono stati raccolti sulla base di un sospetto, in altri casi sono stati eseguiti campioni randomizzati. Pertanto è difficile capire le variazioni dell'esposizione del consumatore europeo da un anno all'altro.
- Le indagini sugli alimenti non sono solo una raccolta dei dati sulla prevalenza e il grado di contaminazione da *L. monocytogenes* in diversi tipi di prodotti alimentari, ma sono anche relative all'associazione con altri parametri tra cui: tipo di confezionamento alimentare, modalità di preparazione (ad esempio l'uso dell'affettatrice per prodotti a base di carne), le temperature di stoccaggio, la fase di campionamento per quanto riguarda la vita commerciale, la mancanza di un efficace sistema HACCP e la mancata istruzione e formazione del personale.
- La valutazione del rischio pubblicata nel parere SCVPH conclude che la conformità degli alimenti pronti al consumo ai limiti "inferiore a 100 ufc / g" o "assente in 25 g" al momento del consumo porterebbe a una diminuzione dei casi di listeriosi. Si è concluso che la maggior parte dei casi sono dovuti al consumo di alimenti pronti al consumo in grado di favorirne la crescita e contenenti livelli marcatamente di sopra dei limiti.
- La crescita di *L. monocytogenes* è in funzione del tipo di alimento, del tempo e della temperatura di stoccaggio. La temperatura di stoccaggio al dettaglio e nei frigoriferi domestici può variare in modo significativo, soprattutto per i frigoriferi domestici. Ad esempio, la temperatura del 20- 35% dei frigoriferi domestici in Europa è superiore a 8°C.
- Nuovi strumenti per prevedere la crescita sono stati sviluppati dal 1999 e possono essere utilizzati per determinare se il prodotto favorirà o non favorirà la crescita di *L. monocytogenes* e per stimare l'entità della crescita durante la vita commerciale. Tuttavia, l'utilizzo di modelli predittivi dovrebbe essere combinato con studi di validazione, in particolare per i prodotti alimentari prossimi al confine tra crescita e non crescita.

**ToR2: Fornire pareri scientifici sui vari livelli di *Listeria monocytogenes* negli alimenti pronti al consumo (assenza in 25 g, 100 ufc/g, e livelli più alti) e il relativo rischio di malattia.**

- L'applicazione dei criteri microbiologici è solo una delle varie attività di gestione per garantire che gli alimenti pronti al consumo siano a basso rischio per l'uomo.
- I criteri microbiologici aiutano nel controllo dei livelli di *L. monocytogenes* per esempio, assenza in 25 g o  $\leq 100$  ufc/g al momento del consumo.
- La maggior parte dei casi di listeriosi sono dovuti ad alimenti pronti al consumo in grado di favorire la crescita di *L. monocytogenes* e contenenti livelli nettamente superiori a 100 ufc/g.
- Il più recente documento del CODEX sui criteri microbiologici per *L. monocytogenes* in alimenti pronti al consumo suggerisce la tolleranza zero per tutta la vita commerciale degli alimenti pronti al consumo che favoriscono la crescita di questo microorganismo. Applicando questo criterio per tutta la vita commerciale si può prevenire il consumo di cibi pronti che presentano un elevato rischio. Tuttavia l'applicazione di questi criteri vicino al termine della vita commerciale potrebbe portare a classificare non soddisfacenti anche quei prodotti a basso rischio.
- Un'ulteriore proposta nel documento CODEX è pertanto la tolleranza di 100 ufc/g per tutta la vita commerciale a condizione che il fabbricante sia in grado di dimostrare che il prodotto non supererà questo limite per tutto il periodo della vita commerciale. Per alimenti pronti al consumo che favoriscono la crescita di *L. monocytogenes* è impossibile prevedere con un elevato grado di certezza se il livello supererà o meno le 100 ufc/g durante la vita commerciale. Pertanto accettando questa opzione si accetterà la probabilità che saranno consumati prodotti alimentari con più di 100 ufc/g. L'impatto sulla salute pubblica dipenderebbe dal raggiungimento di livelli nettamente superiori a 100 ufc/g.

**RACCOMANDAZIONI**

- Indagini più approfondite nei casi sporadici e nei focolai di listeriosi migliorerebbe la nostra conoscenza degli alimenti responsabili di listeriosi.
- Dati sul consumo di alimenti pronti al consumo che favoriscono la crescita di *L. monocytogenes* sono necessari per una migliore valutazione del rischio.
- Confronti tra gli studi (ad esempio indagini) dovrebbero essere fatti soltanto quando sono applicate strategie simili di campionamento e gli studi dovrebbero concentrarsi sugli alimenti pronti al consumo che favoriscono la crescita di *L. monocytogenes*. La fase di campionamento (ad esempio, alla fine della produzione o al momento del consumo) è importante e dovrebbe consentire un migliore confronto tra gli studi.
- Così come l'applicazione dei criteri microbiologici è solo una delle diverse attività di gestione per garantire che gli alimenti pronti al consumo siano a basso rischio per l'uomo, le GHP e il sistema HACCP dovrebbero essere applicati in modo coerente per ridurre al minimo la contaminazione iniziale a livello di produzione, e/o ridurre il potenziale per crescere. Quest'ultimo punto implica la determinazione di una vita commerciale in relazione alla reale temperatura di stoccaggio e al potenziale di crescita di *L. monocytogenes*. Inoltre dovrebbero essere prese in considerazione la variabilità delle temperature durante la vendita al dettaglio e la conservazione domestica degli alimenti.
- Per ridurre il rischio di listeriosi dovrebbero essere migliorate la catena del freddo, soprattutto a livello domestico, unitamente alle istruzioni dietetiche e di conservazione (in particolare per gli anziani).

## BIBLIOGRAFIA

- Afchain, A. L., Derens, E., Guilpart, J. and Cornu, M. 2005. Statistical modelling of cold-smoked salmon temperature profiles for risk assessment of *Listeria monocytogenes*. *Acta Horticulturae* (674): 383-388.
- AFF 2000. Recommandations de l'Association Française du Froid concernant la conservation des denrées réfrigérées au niveau des ménages. Cited by Nauta (2001), RIVM report 149106007.
- AFSSA 2006. Research report. "Construction d'une démarche interdisciplinaire de description du processus sanitaire modulant l'exposition au danger *L. monocytogenes* dans les produits réfrigérés." ISBN 2-11-095844-8. Appendice 7 "Suivi thermique des produits alimentaires réfrigérés au cours de la chaîne du froid", available on: <http://www.afssa.fr/Documents/MICRa-ListeriaAnnexe7.pdf>
- Audits-International. 2000. 1999 U.S. Food Temperature Evaluation. Audits International and U.S. Food and Drug Administration. Retrieved 12 December, 2006, from the World WideWeb: [http://www.foodrisk.org/audits\\_international.htm](http://www.foodrisk.org/audits_international.htm).
- Augustin, J. C. and Carlier, V. 2000a. Mathematical modelling of the growth rate and lag time for *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.* 56 (1): 29-51.
- Augustin, J. C. and Carlier, V. 2000b. Modelling the growth rate of *Listeria monocytogenes* with a multiplicative type model including interactions between environmental factors. *Int. J. Food Microbiol.* 56 (1): 53-70.
- Augustin, J. C., Zuliani, V., Cornu, M. and Guillier, L. 2005. Growth rate and growth probability of *Listeria monocytogenes* in dairy, meat and seafood products in suboptimal conditions. *J. Appl. Microbiol.* 99 (5): 1019-42.
- Azevedo, I., Regalo, M., Mena, C., Almeida, G., Carneiro, L., Teixeira, P., Hogg, T. and Gibbs, P. A. 2005. Incidence of *Listeria* spp. in domestic refrigerators in Portugal. *Food Control* 16 (2): 121-124.
- Bakalis, S., Giannakourou, M. C. and Taoukis, P. S. 2003. Effect of domestic storage and cooking conditions on the risk distribution in ready to cook meat products. *9th international congress on engineering and food (ICEF9)*, Montpellier, 7-11 March, 2003.,
- Begot, C., Lebert, I. and Lebert, A. 1997. Variability of the response of 66 *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* strains to different growth conditions. *Food Microbiol.* 14 (5): 403-412.
- Bille, J., Blanc, D. S., Schmid, H., Boubaker, K., Baumgartner, A., Siegrist, H. H., Tritten, M. L., Lienhard, R., Berner, D., Anderau, R., Treboux, M., Ducommun, J. M., Malinverni, R., Genne, D., Erard, P. H. and Waespi, U. 2006. Outbreak of human listeriosis associated with tomme cheese in northwest Switzerland, 2005. *Euro Surveill.* 11 (6): 91-93.
- Breen, A., Brock, S., Crawford, K., Docherty, M., Drummond, G., Gill, L., Lawton, S., Mankarious, V., Oustayiannis, A., Rushworth, G. and Kerr, K. G. 2006. The refrigerator safari - An educational tool for undergraduate students learning about the microbiological safety of food. *British Food Journal* 108 (6): 487-494.
- Brocklehurst, T. F., Mitchell, G. A. and Smith, A. C. 1997. A model experimental gel surface for the growth of bacteria on foods. *Food Microbiol.* 14 (4): 303-311.

- Buchanan, R. L. and Phillips, J. G. 2000. Updated models for the effects of temperature, initial pH, NaCl, and NaNO<sub>2</sub> on aerobic and anaerobic growth of *Listeria monocytogenes*. *Quant. Microbiol.* 2: 103-128.
- CAC 1999. Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment. CAC/GL-30. Available at: [http://www.codexalimentarius.net/download/standards/357/CXG\\_030e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/standards/357/CXG_030e.pdf).
- CAC 2007. Report of the 38th session of the Codex Committee on Food Hygiene. Houston, United States of America, 4 - 9 December 2006: Microbiological criteria for *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods Available at: [http://www.codexalimentarius.net/download/report/671/al30\\_13e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/report/671/al30_13e.pdf).
- Carrique-Mas, J. J., Hokeberg, I., Andersson, Y., Arneborn, M., Tham, W., Danielsson-Tham, M. L., Osterman, B., Leffler, M., Steen, M., Eriksson, E., Hedin, G. and Giesecke, J. 2003. Febrile gastroenteritis after eating on-farm manufactured fresh cheese--an outbreak of listeriosis? *Epidemiol. Infect.* 130 (1): 79-86.
- Chen, Y., Ross, W. H., Scott, V. N. and Gombas, D. E. 2003. *Listeria monocytogenes*: low levels equal low risk. *J. Food Prot.* 66 (4): 570-7.
- Chen, Y., Ross, W. H., Gray, M. J., Wiedmann, M., Whiting, R. C. and Scott, V. N. 2006. Attributing risk to *Listeria monocytogenes* subgroups: dose response in relation to genetic lineages. *J. Food Prot.* 69 (2): 335-44.
- Coleman, M. E., Sandberg, S. and Anderson, S. A. 2003. Impact of microbial ecology of meat and poultry products on predictions from exposure assessment scenarios for refrigerated storage. *Risk. Anal.* 23 (1): 215-228.
- Dalgaard, P. and Jorgensen, L. V. 1998. Predicted and observed growth of *Listeria monocytogenes* in seafood challenge tests and in naturally contaminated cold-smoked salmon. *Int. J. Food Microbiol.* 40 (1-2): 105-115.
- Dalgaard, P., Cowan, B. J., Heilmann, J. and Silberg, S. 2003. The Seafood Spoilage and Safety Predictor (SSSP). *Proceedings from 4th International Conference on Predictive modelling in Foods.*, Quimper, France. Pp. 256-258,
- de Valk, H., Vaillant, V., Jacquet, C., Rocourt, J., Le Querrec, F., Stainer, F., Quelquejeu, N., Pierre, O., Pierre, V., Desenclos, J. C. and Goulet, V. 2001. Two consecutive nationwide outbreaks of Listeriosis in France, October 1999-February 2000. *Am J Epidemiol* 154 (10): 944- 50.
- de Valk, H., Jacquet, C., Goulet, V., Vaillant, V., Perra, A., Simon, F., Desenclos, J. C. and Martin, P. 2005. Surveillance of listeria infections in Europe. *Euro Surveill* 10 (10): 251-5.
- Delignette-Muller, M. L., Cornu, M., Pouillot, R. and Denis, J. B. 2006. Use of Bayesian modelling in risk assessment: Application to growth of *Listeria monocytogenes* and food flora in cold-smoked salmon. *Int. J. Food Microbiol.* 106 (2): 195-208.
- Derens, E., Palagos, B. and Guilpart, J. 2006. The cold chain of chilled products under supervision in France. *IUFOST, 13th world congress of food science & technology "Food is life"*, Nantes, 17-21 Septembre 2006.
- Devlieghere, F., Geeraerd, A. H., Versyck, K. J., Vandewaetere, B., Van Impe, J. and Debevere, J. 2001. Growth of *Listeria monocytogenes* in modified atmosphere packed cooked meat products: a predictive model. *Food Microbiol.* 18 (1): 53-66.

- Dominguez, C., Gomez, I. and Zumalacarregui, J. 2001. Prevalence and contamination levels of *Listeria monocytogenes* in smoked fish and pate sold in Spain. *J. Food Prot.* 64 (12): 2075- 2057.
- EFSA 2005. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2004. *The EFSA Journal* 310: 1-97.
- EFSA 2006. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2005. *The EFSA Journal* 94: 1-236.
- EFSA 2007a. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2006. *The EFSA Journal* 130: 1-310.
- EFSA 2007b. Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on microbiological criteria and targets based on risk analysis. *The EFSA Journal* 462: 1-29.
- Evans, J. A., Stanton, J.I., Russell, S. L. and James, S. J. 1991. Consumer handling of chilled foods: A survey of time and temperature conditions. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Bristol, UK. Cited by Nauta (2001), RIVM report 149106 007.
- FAO/WHO 2004. Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: technical report. Microbiological risk assessment series; no. 5. pp. 1-98.
- FDA/FSIS 2001. Draft assessment of the relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods. Available at: <http://www.foodsafety.gov/~dms/lmrisk.html>.
- FDA/USDA/CDC 2003. Quantitative assessment of the relative risk to public health from foodborne *Listeria monocytogenes* among selected categories of ready-to-eat foods. Available at <http://www.foodsafety.gov/~dms/lmr2-toc.html>.
- Fernandez, P. S., George, S. M., Sills, C. C. and Peck, M. W. 1997. Predictive model of the effect of CO<sub>2</sub>, pH, temperature and NaCl on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.* 37 (1): 37-45.
- Flynn, O. M. J., Blair, I. and McDowell, D. 1992. The efficiency and consumer operation of domestic refrigerators. *Int. J. of Refrig.* 15 (5): 307-312.
- Francis, G. A. and O'Beirne, D. 2006. Isolation and pulsed-field gel electrophoresis typing of *Listeria monocytogenes* from modified atmosphere packaged fresh-cut vegetables collected in Ireland. *J. Food Prot.* 69 (10): 2524-2528.
- Frye, D. M., Zweig, R., Sturgeon, J., Tormey, M., LeCavalier, M., Lee, I., Lawani, L. and Mascola, L. 2002. An outbreak of febrile gastroenteritis associated with delicatessen meat contaminated with *Listeria monocytogenes*. *Clin. Infect. Dis.* 35 (8): 943-9.
- FSIS 2003. FSIS rule designed to reduce *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat & poultry. Available at [http://www.fsis.usda.gov/factsheets/fsis\\_rule\\_designed\\_to\\_reduce\\_listeria/index.asp](http://www.fsis.usda.gov/factsheets/fsis_rule_designed_to_reduce_listeria/index.asp).
- Gaulin, C., Ramsay, D., Ringuette, L. and Ismail, J. 2003. First documented outbreak of *Listeria monocytogenes* in Quebec, 2002. *Can. Commun. Dis. Rep.* 29 (21): 181-186.
- Ghebrehewet, S. and Stevenson, L. 2003. Effectiveness of home-based food storage training: a community development approach. *Int. J. Environ. Health Res.* 13 Suppl 1: S169-174.

- Gillespie, I. A., McLauchlin, J., Grant, K. A., Little, C. L., Mithani, V., Penman, C., Lane, C. and Regan, M. 2006. Changing pattern of human listeriosis, England and Wales, 2001-2004. *Emerg. Infect. Dis.* 12 (9): 1361-1366.
- Gimenez, B. and Dalgaard, P. 2004. Modelling and predicting the simultaneous growth of *Listeria monocytogenes* and spoilage micro-organisms in cold-smoked salmon. *J. Appl. Microbiol.* 96 (1): 96-109.
- Giovannini, A., Migliorati, G., Principe, V., Calderone, D., Zoccolo, C. and Cozzolino, P. 2007. Risk assessment for listeriosis in consumers of Parma and San Daniele hams. *Food Control* 18: 789-799.
- Gottlieb, S. L., Newbern, E. C., Griffin, P. M., Graves, L. M., Hoekstra, R. M., Baker, N. L., Hunter, S. B., Holt, K. G., Ramsey, F., Head, M., Levine, P., Johnson, G., Schoonmaker-Bopp, D., Reddy, V., Kornstein, L., Gerwel, M., Nsubuga, J., Edwards, L., Stonecipher, S., Hurd, S., Austin, D., Jefferson, M. A., Young, S. D., Hise, K., Chernak, E. D. and Sobel, J. 2006. Multistate outbreak of Listeriosis linked to turkey deli meat and subsequent changes in US regulatory policy. *Clin Infect Dis* 42 (1): 29-36.
- Goulet, V., de Valk, H., Pierre, O., Stainer, F., Rocourt, J., Vaillant, V., Jacquet, C. and Desenclos, J. C. 2001. Effect of prevention measures on incidence of human listeriosis, France, 1987-1997. *Emerg. Infect. Dis.* 7 (6): 983-989.
- Guingois, S. 2000. Industriels et distributeurs face au défi du froid. Cited by Nauta (2001), RIVM report 149106 007. LSA. 1666: 34-35.
- Hechelmann, H., Albert, T. and Gareis, M. 2002. *Listeria monocytogenes* in spreadable raw sausage and raw sausage batter - Occurrence and quantitative detection. *Fleischwirtschaft* 82 (8): 92-94.
- Hong, E., Doumith, M., Duperrier, S., Giovannacci, I., Morvan, A., Glaser, P., Buchrieser, C., Jacquet, C. and Martin, P. 2007. Genetic diversity of *Listeria monocytogenes* recovered from infected persons and pork, seafood and dairy products on retail sale in France during 2000 and 2001. *Int. J. Food Microbiol.* 114 (2): 187-94.
- ISSP 2006. Institut Scientifique de Santé Publique. Enquête de consommation alimentaire Belge 1 - 2004. Service d'Epidémiologie, 2006; Bruxelles. N° de Dépôt: D/2006/2505/16, IPH/EPI REPORTS N° 2006 - 014. Equipe de recherche: *Stephanie Devriese, Inge Huybrechts, Michel Moreau, Herman Van Oyen.*
- Jacquet, C., Doumith, M., Gordon, J. I., Martin, P. M., Cossart, P. and Lecuit, M. 2004. A molecular marker for evaluating the pathogenic potential of foodborne *Listeria monocytogenes*. *J. Infect. Dis.* 189 (11): 2094-2100.
- James, S. J., Evans, J. and James, C. 2007. A review of the performance of domestic refrigerators. *J. of Food Engineering*: in press.
- Jameson, J. E. 1962. A discussion of the dynamics of *Salmonella* enrichment. *J. Hyg.* 60: 193- 207.
- Jemmi, T., Pak, S. I. and Salman, M. D. 2002. Prevalence and risk factors for contamination with *Listeria monocytogenes* of imported and exported meat and fish products in Switzerland, 1992-2000. *Prev. Vet. Med.* 54 (1): 25-36.
- Johnson, A. E., Donkin, A. J. M., Morgan, K., Lilley, J. M., Neale, R. J., Page, R. M. and Silburn, R. 1998. Food safety knowledge and practice among elderly people living at home. *J. Epidemiol. & Comm. Health* 52 (11): 745-748.

- Kabuki, D. Y., Kuaye, A. Y., Wiedmann, M. and Boor, K. J. 2004. Molecular Subtyping and Tracking of *Listeria monocytogenes* in Latin-Style Fresh-Cheese Processing Plants. *J. Dairy Sci.* 87 (9): 2803-2812.
- Kennedy, J., Jackson, V., Blair, I. S., McDowell, D. A., Cowan, C. and Bolton, D. J. 2005. Food safety knowledge of consumers and the microbiological and temperature status of their refrigerators. *J. Food Prot.* 68 (7): 1421-1430.
- Koch, J. and Stark, K. 2006. Significant increase of listeriosis in Germany-epidemiological patterns 2001-2005. *Euro Surveill.* 11 (6): 85-88.
- Kosa, K. M., Cates, S. C., Karns, S., Godwin, S. L. and Chambers, D. 2007. Consumer home refrigeration practices: results of a web-based survey. *J. Food Prot.* 70 (7): 1640-1649.
- Koutsoumanis, K. P., Kendall, P. A. and Sofos, J. N. 2004. A comparative study on growth limits of *Listeria monocytogenes* as affected by temperature, pH and a(w) when grown in suspension or on a solid surface. *Food Microbiol.* 21 (4): 415-422.
- Koutsoumanis, K. P. and Sofos, J. N. 2005. Effect of inoculum size on the combined temperature, pH and aw limits for growth of *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.* 104 (1): 83-91.
- Koutsoumanis, K. and Angelidis, A. S. 2007. Probabilistic modeling approach for evaluating the compliance of ready-to-eat foods with new European Union safety criteria for *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* 73 (15): 4996-5004.
- Laguerre, O., Derens, E. and Palagos, B. 2002. Study of domestic refrigerator temperature and analysis of factors affecting temperature: A French survey. *Int. J. Refrig.* 25: 653-659.
- Lappi, V. R., Thimothe, J., Nightingale, K. K., Gall, K., Scott, V. N. and Wiedmann, M. 2004. Longitudinal studies on *Listeria* in smoked fish plants: impact of intervention strategies on contamination patterns. *J. Food Prot.* 67 (11): 2500-2514.
- Larsen, C. N., Norrung, B., Sommer, H. M. and Jakobsen, M. 2002. In vitro and in vivo invasiveness of different pulsed-field gel electrophoresis types of *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68 (11): 5698-5703.
- Le Marc, Y., Huchet, V., Bourgeois, C. M., Guyonnet, J. P., Mafart, P. and Thuault, D. 2002. Modelling the growth kinetics of *Listeria* as a function of temperature, pH and organic acid concentration. *Int. J. Food Microbiol.* 73 (2-3): 219-237.
- Le Marc, Y., Pin, C. and Baranyi, J. 2005. Methods to determine the growth domain in a multidimensional environmental space. *Int. J. Food Microbiol.* 100 (1-3): 3-12.
- Lebert, I., Begot, C. and Lebert, A. 1998. Development of two *Listeria monocytogenes* growth models in a meat broth and their application to beef meal. *Food Microbiol.* 15 (5): 499-509.
- Lecuit, M., Dramsi, S., Gottardi, C., Fedor-Chaiken, M., Gumbiner, B. and Cossart, P. 1999. A single amino acid in E-cadherin responsible for host specificity towards the human pathogen *Listeria monocytogenes*. *Embo J.* 18 (14): 3956-3663.
- Lecuit, M., Vandormael-Pournin, S., Lefort, J., Huerre, M., Gounon, P., Dupuy, C., Babinet, C. and Cossart, P. 2001. A transgenic model for listeriosis: role of internalin in crossing the intestinal barrier. *Science* 292 (5522): 1722-1725.
- Leite, P., Rodrigues, R., Ferreira, M., Ribeiro, G., Jacquet, C., Martin, P. and Brito, L. 2006. Comparative characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from Portuguese farmhouse ewe's cheese and from humans. *Int. J. Food Microbiol.* 106 (2): 111-121.

- Lewis, H. C., Little, C. L., Elson, R., Greenwood, M., Grant, K. A. and McLauchlin, J. 2006. Prevalence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in butter from United Kingdom production, retail, and catering premises. *J. Food Prot.* 69 (7): 1518-1526.
- Lezenne Coulander de, P. A. 1994. Koelkast temperature thuis. Report of the Regional Inspectorate for Health Protection. Leeuwarden, The Netherlands.
- Lianou, A. and Sofos, J. N. 2007. A review of the incidence and transmission of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products in retail and food service environments. *J. Food Prot.* 70 (9): 2172-2198.
- Likar, K. and Jevnik, M. 2006. Cold chain maintaining in food trade. *Food Control* 17 (2): 108-113.
- Lindqvist, R. and Westöö, A. 2000. Quantitative risk assessment for *Listeria monocytogenes* in smoked or gravad salmon/rainbow trout in Sweden. *Int. J. Food Microbiol.* 58: 181-196.
- Little, C., Barrett, N., Grant, K. and McLauchlin, J. 2007. Microbiological examination of sandwiches from hospitals and residential/care homes with a focus on *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. *J. Food Protect.*: in press.
- Liu, D. Y., Lawrence, M. L., Ainsworth, A. J. and Austin, F. W. 2007. Toward an improved laboratory definition of *Listeria monocytogenes* virulence. *Int. J. Food Microbiol.* 118 (2): 101- 115.
- Luchansky, J. B., Porto, A. C., Wallace, F. M. and Call, J. E. 2002. Recovery of *Listeria monocytogenes* from vacuum-sealed packages of frankfurters: comparison of the U.S. Department of Agriculture (USDA) food safety and inspection service product composite enrichment method, the USDA Agricultural Research Service (ARS) product composite rinse method, and the USDA-ARS package rinse method. *J. Food Prot.* 65 (3): 567-70.
- MacDonald, P. D., Whitwam, R. E., Boggs, J. D., MacCormack, J. N., Anderson, K. L., Reardon, J. W., Saah, J. R., Graves, L. M., Hunter, S. B. and Sobel, J. 2005. Outbreak of listeriosis among Mexican immigrants as a result of consumption of illicitly produced Mexicanstyle cheese. *Clin. Infect. Dis.* 40 (5): 677-682.
- Makino, S. I., Kawamoto, K., Takeshi, K., Okada, Y., Yamasaki, M., Yamamoto, S. and Igimi, S. 2005. An outbreak of food-borne listeriosis due to cheese in Japan, during 2001. *Int. J. Food Microbiol.* 104 (2): 189-196.
- Malak, M., Vivier, A., Andre, P., Decallonne, J. and Gilot, P. 2001. RAPD analysis, serotyping, and esterase typing indicate that the population of *Listeria monocytogenes* strains recovered from cheese and from patients with listeriosis in Belgium are different. *Can. J. Microbiol.* 47 (9): 883-887.
- Masana, M. O. and Baranyi, J. 2000. Growth/no growth interface of *Brochothrix thermosphacta* as a function of pH and water activity. *Food Microbiol.* 17 (5): 485-493.
- McClure, P. J., Beaumont, A. L., Sutherland, J. P. and Roberts, T. A. 1997. Predictive modelling of growth of *Listeria monocytogenes*. The effects on growth of NaCl, pH, storage temperature and NaNO<sub>2</sub>. *Int. J. Food Microbiol.* 34 (3): 221-232.
- McLauchlin, J. 1996. The relationship between *Listeria* and listeriosis. *Food Control* 7 (4/5): 187-193.
- McLauchlin, J., Mitchell, R. T., Smerdon, W. J. and Jewell, K. 2004. *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. *Int. J. Food Microbiol.* 92 (1): 15-33.

- McLauchlin, J. 2006. *Listeria*. *Emerging foodborne pathogens*.
- McMeekin, T. A., Brown, J., Krist, K., Miles, D., Neumeyer, K., Nichols, D. S., Olley, J., Presser, K., Ratkowsky, D. A., Ross, T., Salter, M. and Soontranon, S. 1997. Quantitative microbiology: a basis for food safety. *Emerg. Infect. Dis.* 3 (4): 541-549.
- McMeekin, T. A., Presser, K., Ratkowsky, D., Ross, T., Salter, M. and Tienungoon, S. 2000. Quantifying the hurdle concept by modelling the bacterial growth/no growth interface. *Int. J. Food Microbiol.* 55 (1-3): 93-98.
- McMeekin, T. A., Olley, J., Ratkowsky, D. A. and Ross, T. 2002. Predictive microbiology: towards the interface and beyond. *Int. J. Food. Microbiol.* 73 (2-3): 395-407.
- McMeekin, T. A., Baranyi, J., Bowman, J., Dalgaard, P., Kirk, M., Ross, T., Schmid, S. and Zwietering, M. H. 2006. Information systems in food safety management. *Int. J. Food Microbiol.* 112 (3): 181-194.
- Mead, P. S., Dunne, E. F., Graves, L., Wiedmann, M., Patrick, M., Hunter, S., Salehi, E., Mostashari, F., Craig, A., Mshar, P., Bannerman, T., Sauders, B. D., Hayes, P., Dewitt, W., Sparling, P., Griffin, P., Morse, D., Slutsker, L. and Swaminathan, B. 2006. Nationwide outbreak of listeriosis due to contaminated meat. *Epidemiol. Infect.* 134 (4): 744-751.
- Medrala, D., Dabrowski, W., Czekajlo-Kolodziej, U., Daczowska-Kozon, E., Koronkiewicz, A., Augustynowicz, E. and Manzano, M. 2003. Persistence of *Listeria monocytogenes* strains isolated from products in a Polish fish-processing plant over a 1-year period. *Food Microbiology* 20 (6): 715-724.
- Nakamura, H., Hatanaka, M., Ochi, K., Nagao, M., Ogasawara, J., Hase, A., Kitase, T., Haruki, K. and Nishikawa, Y. 2004. *Listeria monocytogenes* isolated from cold-smoked fish products in Osaka City, Japan. *Int. J. Food Microbiol.* 94 (3): 323-8.
- Nerbrink, E., Borch, E., Blom, H. and Nesbakken, T. 1999. A model based on absorbance data on the growth rate of *Listeria monocytogenes* and including the effects of pH, NaCl, Na-lactate and Na-acetate. *Int. J. Food Microbiol.* 47 (1-2): 99-109.
- Neumeyer, K., Ross, T. and McMeekin, T. A. 1997. Development of a predictive model to describe the effects of temperature and water activity on the growth of spoilage pseudomonads. *Int. J. Food Microbiol.* 38 (1): 45-54.
- Nguyen-the, C. and Carlin, F. 2000. Fresh and Processed vegetables. In: *The microbiological safety of foods.*, Aspen Publisher Inc., Gaithersburg MD. pp. 620-684.
- O'Driscoll, B., Gahan, C. G. and Hill, C. 1996. Adaptive acid tolerance response in *Listeria monocytogenes*: isolation of an acid-tolerant mutant which demonstrates increased virulence. *Appl. Environ. Microbiol.* 62 (5): 1693-1698.
- Olsen, S. J., Patrick, M., Hunter, S. B., Reddy, V., Kornstein, L., MacKenzie, W. R., Lane, K., Bidol, S., Stoltman, G. A., Frye, D. M., Lee, I., Hurd, S., Jones, T. F., LaPorte, T. N., Dewitt, W., Graves, L., Wiedmann, M., Schoonmaker-Bopp, D. J., Huang, A. J., Vincent, C., Bugenhagen, A., Corby, J., Carloni, E. R., Holcomb, M. E., Woron, R. F., Zansky, S. M., Dowdle, G., Smith, F., Ahrabi-Fard, S., Ong, A. R., Tucker, N., Hynes, N. A. and Mead, P. 2005. Multistate outbreak of *Listeria monocytogenes* infection linked to delicatessen turkey meat. *Clin. Infect. Dis.* 40 (7): 962-967.

- Pascual, C., Robinson, T. P., Ocio, M. J., Aboaba, O. O. and Mackey, B. M. 2001. The effect of inoculum size and sublethal injury on the ability of *Listeria monocytogenes* to initiate growth under suboptimal conditions. *Lett. Appl. Microbiol.* 33 (5): 357-361.
- Pierre, O. 1996. Temperature de conservation de certaines denrees alimentaires tres perrissables dans les rayons libre service des grandes et moyenne surfaces. *Option Qualite* 138: 12-18.
- Pin, C., Sutherland, J. P. and Baranyi, J. 1999. Validating predictive models of food spoilage organisms. *J. Appl. Microbiol.* 87 (4): 491-499.
- Pouillot, R., Albert, I., Cornu, M. and Denis, J. B. 2003. Estimation of uncertainty and variability in bacterial growth using Bayesian inference. Application to *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.* 81 (2): 87-104.
- Pouillot, R., Miconnet, N., Afchain, A. L., Delignette-Muller, M. L., Beaufort, A., Rosso, L., Denis, J. B. and Cornu, M. 2007. Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in French cold-smoked salmon: I. Quantitative exposure assessment. *Risk. Anal.* 27 (3): 683-700.
- Razavilar, V. and Genigeorgis, C. 1998. Prediction of *Listeria* spp. growth as affected by various levels of chemicals, pH, temperature and storage time in a model broth. *Int. J. Food Microbiol.* 40 (3): 149-157.
- Robinson, T. P., Aboaba, O. O., Kaloti, A., Ocio, M. J., Baranyi, J. and Mackey, B. M. 2001. The effect of inoculum size on the lag phase of *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.* 70 (1-2): 163-173.
- Rodriguez, A. M. C., Alcalá, E. B., Gimeno, R. M. G. and Cosano, G. Z. 2000. Growth modelling of *Listeria monocytogenes* in packaged fresh green asparagus. *Food Microbiol.* 17 (4): 421-427.
- Rose, S. A., Steadman, S. and Brunskill, R. 1990. A temperature survey of domestic refrigerators. CCFRA Technical Memorandum No. 577.:
- Ross, T., Dalgaard, P. and Tienungoon, S. 2000. Predictive modelling of the growth and survival of *Listeria* in fishery products. *Int. J. Food Microbiol.* 62 (3): 231-245.
- Sagoo, S. K., Little, C. L. and Mitchell, R. T. 2001. The microbiological examination of ready to- eat organic vegetables from retail establishments in the United Kingdom. *Lett. Appl. Microbiol.* 33 (6): 434-9.
- Sagoo, S. K., Little, C. L. and Mitchell, R. T. 2003a. Microbiological quality of open ready-to eat salad vegetables: effectiveness of food hygiene training of management. *J. Food Prot.* 66 (9): 1581-1586.
- Sagoo, S. K., Little, C. L., Ward, L., Gillespie, I. A. and Mitchell, R. T. 2003b. Microbiological study of ready-to-eat salad vegetables from retail establishments uncovers a national outbreak of salmonellosis. *J. Food Prot.* 66 (3): 403-409.
- Sagoo, S. K., Little, C. L., Allen, G., Williamson, K. and Grant, K. A. 2007. Microbiological safety of retail vacuum-packed and modified-atmosphere-packed cooked meats at end of shelf life. *J. Food Prot.* 70 (4): 943-51.
- Sanaa, M., Coroller, L. and Cerf, O. 2004. Risk assessment of listeriosis linked to the consumption of two soft cheeses made from raw milk: Camembert of Normandy and Brie of Meaux. *Risk. Anal.* 24 (2): 389-399.
- Schlech, W. F., 3rd, Chase, D. P. and Badley, A. 1993. A model of food-borne *Listeria monocytogenes* infection in the Sprague-Dawley rat using gastric inoculation: development and effect of gastric acidity on infective dose. *Int. J. Food Microbiol.* 18 (1): 15-24.
- SCVPH 1999. Opinion of Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health on *Listeria monocytogenes*. [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out25\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out25_en.pdf).

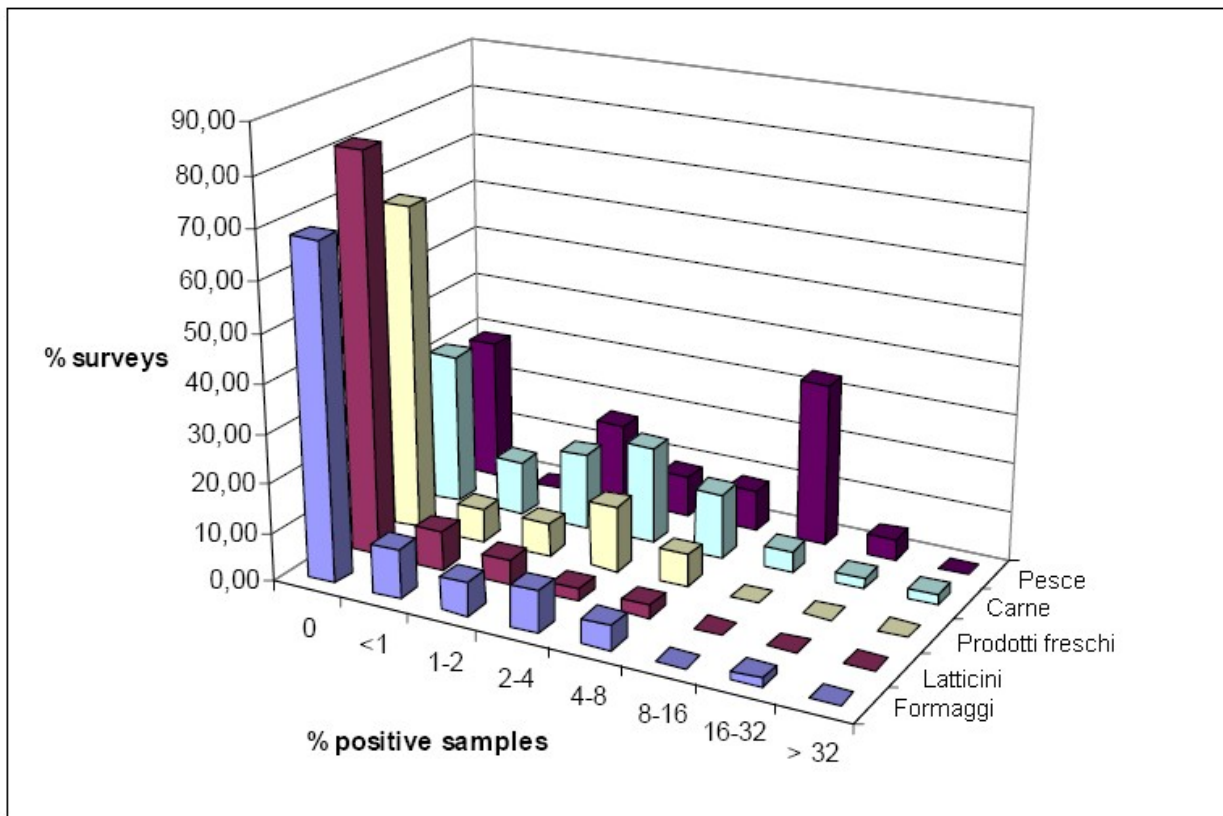
- Seman, D. L., Borger, A. C., Meyer, J. D., Hall, P. A. and Milkowski, A. L. 2002. Modeling the growth of *Listeria monocytogenes* in cured ready-to-eat processed meat products by manipulation of sodium chloride, sodium diacetate, potassium lactate, and product moisture content. *J. Food Prot.* 65 (4): 651-658.
- Sergelidis, D., Abraham, A., Sarimvei, A., Panoulis, C., Karaioannoglou, P. and Genigeorgis, C. 1997. Temperature distribution and prevalence of *Listeria* spp. in domestic, retail and industrial refrigerators in Greece. *Int. J. Food Microbiol.* 34 (2): 171-177.
- Sim, J., Hood, D., Finnie, L., Wilson, M., Graham, C., Brett, M. and Hudson, J. A. 2002. Series of incidents of *Listeria monocytogenes* non-invasive febrile gastroenteritis involving ready-to eat meats. *Lett Appl Microbiol* 35 (5): 409-413.
- Smith, M. A., Takeuchi, K., Brackett, R. E., McClure, H. M., Raybourne, R. B., Williams, K. M., Babu, U. S., Ware, G. O., Broderson, J. R. and Doyle, M. P. 2003. Nonhuman primate model for *Listeria monocytogenes*-induced stillbirths. *Infect Immun* 71 (3): 1574-1579.
- Suppin, D., Safer, M., Dabbass, A. and Smulders, F. J. M. 2006. On the prevalence of *Listeria monocytogenes* in cold smoked fish: an overview. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift* 93 (5-6): 145-149.
- Takeuchi, K., Mytle, N., Lambert, S., Coleman, M., Doyle, M. P. and Smith, M. A. 2006. Comparison of *Listeria monocytogenes* virulence in a mouse model. *J. Food Prot.* 69 (4): 842- 6.
- Taoukis, P. S., Giannakourou, M. C., Koutsoumanis, K. and Bakalis, S. 2005. Modelling the effect of house hold chilled storage conditions on the risk distribution of meat products. *Acta Horticulturae* (No.674): 435-439.
- te Giffel, M. C. and Zwietering, M. H. 1999. Validation of predictive models describing the growth of *Listeria monocytogenes*. *Int. J. Food Microbiol.* 46 (2): 135-149.
- Terpstra, M. J., Steenbekkers, L. P. A., de Maetelaere, N. C. M. and Nijhuis, S. 2005. Food storage and disposal: Consumer practices and knowledge. *British Food Journal* 107 (7): 526- 533.
- Thevenot, D., Dernburg, A. and Vernozy-Rozand, C. 2006. An updated review of *Listeria monocytogenes* in the pork meat industry and its products. *J. Appl. Microbiol.* 101 (1): 7-17.
- Thimothe, J., Nightingale, K. K., Gall, K., Scott, V. N. and Wiedmann, M. 2004. Tracking of *Listeria monocytogenes* in smoked fish processing plants. *J. Food Prot.* 67 (2): 328-341.
- Tienungoon, S., Ratkowsky, D. A., McMeekin, T. A. and Ross, T. 2000. Growth limits of *Listeria monocytogenes* as a function of temperature, pH, NaCl, and lactic acid. *Appl. Environ. Microbiol.* 66 (11): 4979-4987.
- Tompkin, R.B. 2002. Control of *Listeria monocytogenes* in the food processing environment. *J. Food Prot.* 65 (4): 709-725.
- Valero, A., Hervas, C., Garcia-Gimeno, R. M. and Zurera, G. 2007. Product unit neural network models for predicting the growth limits of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiol.* 24 (5): 452-464.
- Varma, J. K., Samuel, M. C., Marcus, R., Hoekstra, R. M., Medus, C., Segler, S., Anderson, B. J., Jones, T. F., Shiferaw, B., Haubert, N., Megginson, M., McCarthy, P. V., Graves, L., Gilder, T. V. and Angulo, F. J. 2007. *Listeria monocytogenes* infection from foods prepared in a commercial establishment: a case-control study of potential sources of sporadic illness in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 44 (4): 521-528.

- Vermeulen, A., Gysemans, K. P., Bernaerts, K., Geeraerd, A. H., Van Impe, J. F., Debevere, J. and Devlieghere, F. 2007. Influence of pH, water activity and acetic acid concentration on *Listeria monocytogenes* at 7 degrees C: data collection for the development of a growth/no growth model. *Int. J. Food Microbiol.* 114 (3): 332-341.
- Victoria, R. 1993. Ne joves pas avec le froid. *50 millions de consommateurs* 267: 36-37.
- Vit, M., Olejnik, R., Dlhy, J., Karpiskova, R., Castkova, J., Prikazsky, V., Prikazska, M. Benes, C. and Petras, P. 2007. Outbreak of listeriosis in the Czech Republic, late 2006- preliminary report. *Euro Surveill* 12 (2): E070208 1.
- Voetsch, A. C., Angulo, F. J., Jones, T. F., Moore, M. R., Nadon, C., McCarthy, P., Shiferaw, B., Megginson, M. B., Hurd, S., Anderson, B. J., Cronquist, A., Vugia, D. J., Medus, C., Segler, S., Graves, L. M., Hoekstra, R. M. and Griffin, P. M. 2007. Reduction in the incidence of invasive listeriosis in foodborne diseases active surveillance network sites, 1996-2003. *Clin. Infect. Dis.* 44 (4): 513-520.
- Volatier, J. L. 2000. Enquête INCA individuelle et nationale sur les consommations alimentaires. Paris, Lavoisier.
- Waak, E., Tham, W. and Danielsson-Tham, M. L. 2002. Prevalence and fingerprinting of *Listeria monocytogenes* strains isolated from raw whole milk in farm bulk tanks and in dairy plant receiving tanks. *Appl Environ Microbiol* 68 (7): 3366-70.
- Wilson, P. D., Brocklehurst, T. F., Arino, S., Thuault, D., Jakobsen, M., Lange, M., Farkas, J., Wimpenny, J. W. and Van Impe, J. F. 2002. Modelling microbial growth in structured foods: towards a unified approach. *Int. J. Food Microbiol.* 73 (2-3): 275-289.
- Worsfold, D. and Griffith, C. 1997. Food safety behaviour in the home. *British Food Journal* 93 (3): 97-104.
- Xanthiakos, K., Simos, D., Angelidis, A. S., Nychas, G. J. and Koutsoumanis, K. 2006a. Dynamic modeling of *Listeria monocytogenes* growth in pasteurized milk. *J. Appl. Microbiol.* 100 (6): 1289-1298.
- Xanthiakos, K. 2006b. Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in pasteurized milk in the Hellenic chill chain. Master Thesis, Aristotle University of Thessaloniki, Dept. of Food Science and Technology. Sup. Koutsoumanis K. (in Greek).
- Yang, H., Mokhtari, A., Jaykus, L. A., Morales, R. A., Cates, S. C. and Cowen, P. 2006. Consumer phase risk assessment for *Listeria monocytogenes* in deli meats. *Risk Anal.* 26 (1): 89-103.

APPENDICI

APPENDICE I

Percentuale di campioni positivi per *L. monocytogenes* per varie categorie di alimenti (EFSA, 2006)



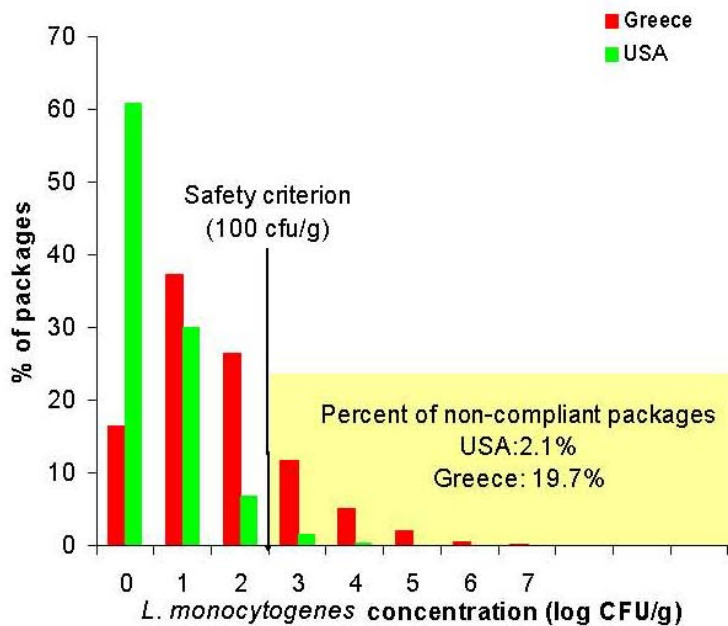
APPENDICE II

Indagine sui dati delle temperature dei frigoriferi domestici in Europa [modificato da James *et al.* (2007)]

Anno	Paese	n	T <sub>min</sub> °C	T <sub>media</sub>	T <sub>max</sub> °C	% frigoriferi funzionanti alle temperature(°C)							Bibliografia	
						>4	>5	>6	>7	>8	>9	>10		
1990	UK	75		<5	15		6							(Rose <i>et al.</i> , 1990)
1991	UK	252	0.9	6	11.4		70							(Evans <i>et al.</i> , 1991)
1992	UK	150	0.8	6.5	12.6		71							(Flynn <i>et al.</i> , 1992)
1993	Francia	102			14			70						(Victoria, 1993)
1994	Olanda.	125					70		28			2		(Lezenne Coulander de, 1994)
1997	Grecia	136										50		(Sergelidis <i>et al.</i> , 1997)
1997	UK	108	2	5.9	12		50							(Worsfold and Griffith, 1997)
1998	UK	645	-2	7	13		70							(Johnson <i>et al.</i> , 1998)
2002	Francia	119	0.9	6.6	11.4		80							(Laguerre <i>et al.</i> , 2002)
2003	Francia	68	0.7	7	16.8	82	74	65	49	37	18	10		(AfSSA, 2006)
2003	UK	901					31					3		(Ghebrehewet and Stevenson,
2003	Grecia	110				74		46		23		8		(Bakalis <i>et al.</i> , 2003)
2004	Belgio	2803					75		50			25		(ISSP, 2006)
2005	Irlanda	100	-7.9	5.4	20.7		59							(Kennedy <i>et al.</i> , 2005)
2005	Portogallo	86						70						(Azevedo <i>et al.</i> , 2005)
2005	Grecia	258	-2	6.3				50				10		(Taoukis <i>et al.</i> , 2005)
2005	Olanda.	31	3.8		11.5				68					(Terpstra <i>et al.</i> , 2005)
2006	Grecia	100	0.2	7.2	14.6	100	82	72	51	35	25	12		(Xanthiakos, 2006b)
2006	UK	24		5				33						(Breen <i>et al.</i> , 2006)

**APPENDICE III**

Una simulazione mostra che la concentrazione di *L. monocytogenes* in un salume contaminato (pH: 5,5;  $a_w$ : 0,95; nitriti: 50ppm; contaminazione iniziale 1 ufc/25 g) dopo uno stoccaggio per 10 giorni in un frigorifero domestico negli Stati Uniti è significativamente più alto rispetto allo stoccaggio in Grecia (Figura III.1). La percentuale di confezioni non conformi ai criteri di sicurezza del Regolamento (CE) n. 2073/2005 (100 ufc/g) è del 2,1% per gli Stati Uniti e il 19,7% per la Grecia. Il suddetto esempio indica che il miglioramento della catena del freddo europea, in particolare le condizioni di refrigerazione nei frigoriferi domestici o la riduzione della vita commerciale, porterebbe ad una significativa riduzione del rischio di listeriosi e un aumento delle conformità ai criteri di sicurezza degli alimenti pronti al consumo.



**Figura III.1. Concentrazione di *L. monocytogenes* in un salume contaminato (pH: 5,5;  $a_w$ : 0,95; nitriti: 50ppm; contaminazione iniziale 1 ufc/25 g) dopo 10 giorni di stoccaggio in frigoriferi domestici in USA e in Grecia.**

La crescita dei patogeni è stata predetta utilizzando la tecnica Monte Carlo (30'000 interazioni) basata sulla distribuzione della temperatura presentata in Figura 3 e sul modello di Buchanan e Philips (Buchanan e Philips, 2000).

## APPENDICE IV

### Nuovi strumenti di microbiologia predittiva

Il programma di modellazione dei patogeni (PMP) è disponibile gratuitamente (<http://ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=11550>) ed è il software applicativo di microbiologia predittiva più usato. L'attuale versione include più di 35 modelli per 11 batteri patogeni inclusa *L. monocytogenes*.

Il ComBase (<http://www.combase.cc>) è una combinazione di dati di risposte microbiche in prodotti alimentari. Il set di funzioni di modellazione di ComBase, include:

- ComBase Predictor, serie di 23 modelli di crescita e 6 modelli di morte termica per microrganismi patogeni alimentari e microrganismi deterioranti inclusa *L. monocytogenes*,
- Perfringens Predictor, previsione di crescita del *Clostridium perfringens* durante il raffreddamento delle carni.
- DMFit, strumento per la creazione delle curve di crescita e di inattivazione.

Il software commerciale, Food MicroModel, è simile per vari aspetti al PMP. Non è più disponibile, i dati sono stati inglobati nel database ComBase e i modelli sono stati integrati nel ComBase Predictor.

Sym'previus (<http://www.symprevius.net>) è un sistema di supporto decisionale francese, comprende una banca dati (in francese), uno strumento per la creazione di curve di crescita e di inattivazione (sia in francese e sia in inglese) e strumenti di previsione basati su challenge test per la crescita e l'inattivazione di sei batteri patogeni (sia in francese sia in inglese). Le informazioni commerciali per Sym'previus sono disponibili attraverso i punti di informazione, come indicato sulla home page citata.

Il Food Spoilage Predictor-FSP (Neumeyer et al., 1997) e il Seafood Spoilage e il Safety Predictor (SSSP, disponibile all'indirizzo [www.dfu.min.dk/micro/sssp](http://www.dfu.min.dk/micro/sssp)) (Dalgaard et al., 2003) sono esempi più specifici di software applicativi di microbiologia predittiva. Questi programmi includono profili di temperature dei prodotti, dati registrati da data logger e, quindi, previsioni degli effetti della fluttuazione della temperature sulla crescita dei microrganismi. In aggiunta ai modelli di deterioramento batterico sui prodotti della pesca, SSSP include un modello che prevede la contemporanea crescita di *L. monocytogenes* e di microrganismi deterioranti in affettati e in salmone affumicato a freddo confezionato sottovuoto (Gimenez e Dalgaard, 2004).

**APPENDICE V**

Tabella V.1 **Elenco di alcuni modelli secondari per la crescita di *L. monocytogenes***

Bibliografia	Intervallo di temperatura °C	Altri fattori ambientali (intervallo per modelli polinomiali)	Tipo di Modello
(Fernandez et al., 1997)	4-20	NaCl (0,5-8,0%), pH (4,0-7,2), atmosfera (CO <sub>2</sub> : 0-100%)	Polinomiale
(McClure et al., 1997)	1-35	NaCl (0,5-11,5%), pH (4,5-7,0), Nitrito di Sodio (0-200 ppm)	Polinomiale
(Lebert et al., 1998)	4-30	a <sub>w</sub> (0,96-1,0), pH (5,4-7,0)	Polinomiale
(Nerbrink et al., 1999)	9	NaCl (1,0-4,0%), pH (5,5-6,5), Lattato di Sodio (0-0,5%), Acetato di Sodio (0-0,6%)	Polinomiale
(Buchanan and Phillips, 2000)	4-37	NaCl (0,5-10,5%), pH (4,5-7,5), Nitrito di Sodio (0-1000 ppm), atmosfera (aerobica, anaerobica)	Polinomiale
(Augustin and Carlier, 2000a; Augustin and Carlier, 2000b)	-2,7-45,5	a <sub>w</sub> , pH, acido lattico, acido acetico, acido citrico, Benzato di Sodio, Sorbato di Potassio, Nitrito di Sodio	Cardinale
(Rodriguez et al., 2000)	4-20	- (specifico per asparago verde)	Arrhenius
(Devlieghere et al., 2001)	4-12	a <sub>w</sub> (0,962-0,988), pH (6,2), Lattato di Sodio (0-3%), Nitrito di Sodio (20 ppm)	Belerhadek, Polinomiale
(Le Mare et al., 2002)	0,5-43	pH, acido lattico, acido acetico, acido propionico	Cardinale
(Seman et al., 2002)	4	NaCl (0,8-3,6 %), pH (4,55-9,61), Lattato di Potassio (0,15-5,6%) Diacetato di Sodio (0,0-0,2%), Naerythorbate (317 ppm), Nitrito di Sodio (97 ppm), Tripolifosfato di Sodio (0,276%)	Polinomiale
(Pouillot et al., 2003)	-2,5-45	- (specifico per latte)	Cardinale (Bayesian)
(FDA/USDA/CDC, 2003)	-1,2-subottimale	- (23 modelli, ognuno specifico di una delle 23 differenti categorie di alimenti)	Radice quadrata
Ross, unpublished, used by (FAO/WHO, 2004)	0,9-41,4	a <sub>w</sub> , pH, Lattato di Sodio, Nitrito di Sodio	Radice quadrata
Ross, unpublished, modified by (Gimenez and Dalgaard, 2004)	0,9-41,4	a <sub>w</sub> , pH, Lattato di Sodio, Nitrito di Sodio, composti fenolici	Radice quadrata
(Devlieghere et al., 2001) modified by (Gimenez and Dalgaard, 2004)	4-12	a <sub>w</sub> , pH, Lattato di Sodio, Nitrito di Sodio, composti fenolici	Radice quadrata
(Augustin et al., 2005)	-2-30	pH, a <sub>w</sub> , Lattato di Sodio, composti fenolici, CO <sub>2</sub>	Cardinale e Radice quadrata
(Delignette-Muller et al., 2006)	-2,9-25	- (specifico per salmone affumicato a freddo)	Radice quadrata (Bayesian)
(Xanthiakos et al., 2006a)	1,5 - 16	- (specifico per latte pastorizzato)	Radice quadrata

C'è stata una diminuzione nell'uso di modelli polinomiali, che sono state sostituiti da specifici approcci di modellizzazione per prodotti alimentari