SANCO/1628/2008 ver. 9.3 (26112008)

COMMISSIONE DELLA COMUNITÀ EUROPEA

Bruxelles,
C(2008)

DOCUMENTO DI LAVORO DELLO STAFF DELLA COMMISSIONE

DOCUMENTO DI ORIENTAMENTO

per gli studi sulla vita commerciale degli alimenti pronti al consumo inerenti la *Listeria monocytogenes,* ai sensi del Reg. (CE) n. 2073/2005 del 15 novembre 2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari

Questo documento non rappresenta necessariamente l'opinione della Commissione

Questo documento è stato istituito a solo scopo informativo.
Non è stato adottato o in alcun modo approvato dalla Commissione europea.

La Commissione Europea non garantisce l'accuratezza delle informazioni fornite e non è responsabile per qualsiasi utilizzo della stessa. Gli utenti devono quindi prendere tutte le precauzioni necessarie prima di utilizzare queste informazioni, l'utilizzo delle stesse è a proprio rischio.

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

SCOPO DEL PRESENTE DOCUMENTO

Questo documento è rivolto principalmente agli operatori del settore alimentare che producono alimenti pronti al consumo e conducono studi sulla vita commerciale inerenti *Listeria monocytogenes* in conformità con l'articolo 3 (2) e l'allegato II del Reg (CE) n. 2073/2005 del 15 novembre 2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari.

INDICE

1. INTRODUZIONE E SCOPO 3
2. LEGISLAZIONE UE E DOCUMENTI GUIDA NAZIONALI O INDUSTRIALI ESISTENTI 4
2.1. Criteri microbiologici di sicurezza alimentare per la Listeria monocytogenes 4
2.2. Criteri microbiologici in relazione alle misure di controllo in materia di igiene e HACCP 5
2.3 Rapporto tra il presente documento di orientamento e altri orientamenti stabiliti 6
3. PRINCIPI E PROCEDURE PER STUDI SULLA vita commerciale 7
3.1. Generale 7
3.2 Caratteristiche del prodotto e letteratura scientifica 11
3.2.1 Caratteristiche del prodotto 11
3.2.2. Letteratura scientifica 11
3.3 Dati storici 12
3.4 Microbiologia predittiva (modellizzazione) 13
3.4.1. Generale 13
3.4.2. L'applicazione pratica della microbiologia predittiva 14
3.5 Specifici studi di laboratorio sulla vita commerciale per esaminare la conformità con i criteri per Listeria monocytogenes negli alimenti RTE in tutto il periodo di vita commerciale 15
3.5.1 Generale 15
3.5.2. Studi sulla conservabilità 16
3.5.2.1. Scopo e limiti degli studi di conservabilità 16
3.5.2.2. Interpretazione dei risultati sugli studi di conservabilità 16
3.5.3. Challenge tests 16
3.5.3.1. Scopo e limiti dei challenge tests 16
3.5.3.2. Interpretazione dei risultati dei Challenge tests 17
3.6 Valutazione della vita commerciale in combinazione con differenti mezzi disponibili 19
3.7. Collaborazione tra gli operatori del settore alimentare 22
4. DOCUMENTAZIONE SUGLI STUDI SULLA vita commerciale 23
5. ALLEGATI 24
5.1 Definizioni 24
5.2. Esempi per definire le fasi necessarie per la decisione degli studi sulla vita commerciale 26
5.3. Esempio sull'uso della microbiologia predittiva 29
5.4. Esempi di valutazione della vita commerciale utilizzando l'approccio che combina diversi strumenti a disposizione 30
5.5. Lista di riferimento per alcuni documenti guida 35

1. INTRODUZIONE E SCOPO

Listeria monocytogenes può provocare malattie negli esseri umani e in genere la trasmissione è alimentare. *L. monocytogenes* è spesso presente nell'ambiente, nel suolo, nei vegetali e nelle feci degli animali. Il microrganismo può essere trovato in alimenti crudi come carne fresca, latte crudo e pesce. L'ubiquitarietà e la maggior capacità di crescere o sopravvivere in un ambiente refrigerato, rispetto alla maggior parte degli altri microrganismi, rende *L. monocytogenes* particolarmente importante nella produzione alimentare.
Questo è il caso soprattutto degli alimenti pronti al consumo (RTE) in cui *L. monocytogenes* può crescere, che non ricevono un trattamento termico durante il processo produttivo e che possono essere contaminati dall'ambiente, compreso quello di produzione, durante la loro fabbricazione.
E' fondamentale che i produttori di alimenti RTE (prodotti alimentari destinati direttamente dal produttore al consumatore finale senza cottura o altro trattamento efficace ad eliminare o ridurre a un livello accettabile i microrganismi coinvolti) adottino azioni per controllare la contaminazione da *L. monocytogenes*, così come l'aumento dei microrganismi durante la vita commerciale del prodotto (shelf life). Quando il produttore fissa la vita commerciale di un prodotto, a priori deve conoscere e documentarsi sul potenziale di crescita di *L. monocytogenes* in quel prodotto alimentare.

Questo documento è rivolto ai produttori di alimenti pronti. Il documento mira a dare indicazioni ai produttori di alimenti pronti nell'identificare il rischio da *L. monocytogenes* nei propri alimenti pronti e stabilisce i principi generali per definire quando e che tipo di studi sulla vita commerciale siano necessari. Questo documento può essere utilizzato anche da parte delle Autorità Competenti nella verifica dell'implementazione degli studi sulla vita commerciale .

L'obiettivo principale di questo documento è quello di guidare gli operatori del settore alimentare (OSA) che producono alimenti pronti:

- nel dimostrare con soddisfazione delle autorità competenti che i prodotti sono conformi al regolamento comunitario fino al termine della vita commerciale,

- a comprendere la gamma di approcci diversi disponibili a contribuire per fissare una vita commerciale sicura del prodotto in relazione alla *L. monocytogenes* e a scegliere l'approccio adeguato per i loro prodotti e

- per classificare i loro prodotti in alimenti pronti in cui può verificarsi la crescita di *L.monocytogenes* o in alimenti pronti in cui la crescita di *L.monocytogenes* non si verifica durante il loro periodo di vita commerciale .

Questo documento non è destinato ad essere prescrittivo nei dettagli tecnici. Il Laboratorio Comunitario di Riferimento (LCR) per la *Listeria monocytogenes*[1] ha preparato un documento tecnico di orientamento[2] per quei laboratori che conducono studi sulla vita commerciale, in particolare studi sulla conservabilità e i challenge tests.

[1] Agence française de sécurité sanitaire des Aliments, Laboratoire d'Etudes et de Recherches sur la Qualité des Aliments et sur les Procedes Agro-alimentarires, Maisons-Alfort, France

[2] Documento tecnico di orientamento sugli studi della vita commerciale per la *Listeria monocytogenes* negli alimenti pronti al consumo, Laboratorio Comunitario di Riferimento per Listeria monocytogenes.

2. LEGISLAZIONE UE E DOCUMENTI GUIDA NAZIONALI O INDUSTRIALI ESISTENTI

2.1 Criteri microbiologici di sicurezza alimentare per la Listeria monocytogenes

L'Unione europea ha stabilito criteri microbiologici di sicurezza alimentare per *L. monocytogenes* negli alimenti pronti di cui al regolamento (CE) n. 2073/2005[3] del 15 novembre 2005, relativa ai criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari.

L'articolo 3 del Regolamento (CE) n. 2073/2005 definisce che gli operatori del settore alimentare (OSA) devono assicurare che i prodotti alimentari siano conformi ai pertinenti criteri microbiologici e rispettino i limiti stabiliti nel regolamento. Inoltre, l'articolo 3 si riferisce a studi sulla vita commerciale (di cui all'allegato II del regolamento), che l'OSA condurrà al fine di verificare il rispetto dei criteri per tutta la conservabilità della vita commerciale. In particolare questo si applica agli alimenti pronti che costituiscono terreno favorevole alla crescita di L. monocytogenes e che possono rappresentare un rischio per la salute pubblica.

Gli specifici criteri sulla sicurezza dei prodotti alimentari, riguardo I negli alimenti pronti, sono stabiliti nell'allegato I del Regolamento. L'allegato I del regolamento definisce la categoria di alimenti, il piano di campionamento, i limiti microbiologici, i metodi analitici e la fase in cui il criterio si applica. I criteri di sicurezza alimentare definiscono l'accettabilità di un prodotto o un lotto di prodotti alimentari, applicabile ai prodotti immessi sul mercato. Quando i test sui criteri per la sicurezza alimentare danno risultati insoddisfacenti, il prodotto o lotto di prodotti alimentari dovrà essere ritirato o richiamato dal mercato. Inoltre, dovranno essere adottate da parte dell'impianto di produzione le azioni correttive in base all'analisi dei pericoli e ai punti di controllo critici definiti nel piano HACCP.

L'allegato II del regolamento descrive gli studi sulla vita commerciale che l'OSA dovrà condurre, se necessario, al fine di esaminare la conformità con i criteri lungo tutta la vita commerciale. Questi studi sulla vita commerciale comprendono sempre:

- indicazioni sulle caratteristiche fisico-chimiche del prodotto (come il pH, a_w, contenuto di sale, concentrazione di conservanti e il tipo di modalità di confezionamento), tenendo conto delle fasi di trasformazione e le condizioni in cui esse si svolgono, lo stoccaggio e la possibilità di contaminazione e della vita commerciale fissata, e

- consultazione della letteratura scientifica disponibile e la ricerca dei dati per quanto riguarda le caratteristiche di sopravvivenza e di crescita.

Quando gli studi di cui sopra non sono in grado di dare la necessaria fiducia in materia di sicurezza del prodotto, l'OSA dovrebbe condurre ulteriori studi. Tali ulteriori studi dovranno tener conto della variabilità intrinseca legata al prodotto e alle condizioni di trasformazione e di conservazione. Questi studi possono includere:

- modelli microbiologici predittivi (matematici) stabiliti per l'alimento in questione, utilizzando le condizioni di sopravvivenza o di crescita dei microrganismi in riferimento al prodotto, e / o

---

[3] G.U. L 338 del 22-12-2005. pag. 1

- studi per valutare la crescita o la sopravvivenza dei microrganismi di interesse che possono essere presenti nel prodotto durante il periodo di vita nelle ragionevoli condizioni di distribuzione, di stoccaggio e di utilizzo (riferiti a studi di conservabilità o a dati storici adeguati), e / o

- test per individuare la capacità del microrganismo opportunamente inoculato di crescere e di sopravvivere nel prodotto in diverse condizioni di conservazione ragionevolmente prevedibili (challenge test).

2.2. Criteri microbiologici in relazione alle misure di controllo in materia di igiene e HACCP

Lo scopo principale della legislazione comunitaria in materia alimentare è quello di garantire un elevato livello di tutela della salute pubblica. Per raggiungere questo obiettivo fondamentale, la normativa comunitaria in materia di alimenti[4] stabilisce requisiti generali di sicurezza degli alimenti. Tali requisiti, che sono basati su un approccio preventivo, comprendono l'attuazione da parte degli OSA di misure igieniche di controllo e procedure basate sul sistema HACCP[5] in qualsiasi fase della catena di produzione alimentare.

Per quanto i pericoli microbiologici nei prodotti alimentari siano una delle più importanti fonti di malattie di origine alimentare negli esseri umani, la legislazione comunitaria stabilisce che, qualora queste misure e procedure igieniche vengono adottate ed implementate, l'alimento deve essere conforme ai pertinenti criteri microbiologici (vedi il capitolo precedente).

Il regolamento prevede che per i criteri microbiologici, l'OSA debba stabilire piani di campionamento e analisi, e che questi siano parte integrante delle procedure basate sulle buone pratiche igiene (GHP) e i principi HACCP. Le frequenze di campionamento (tranne nei casi in cui il regolamento stabilisce specifici requisiti minimi di campionamento) devono essere basate sulla propria analisi dei rischi, essere in conformità con la natura e le dimensioni delle imprese alimentari e prendere in considerazione altri aspetti quali le caratteristiche delle materie prime, i prodotti finiti, il processo di produzione.

Dal momento che la sicurezza alimentare non può essere basata solo sul campionamento del prodotto finito (nessun piano di campionamento può garantire l'assenza di un particolare microrganismo), l'applicazione di criteri di sicurezza alimentare è considerata una delle varie opzioni di gestione al fine di garantire che i prodotti alimentari siano sicuri. L'applicazione delle GHP in combinazione con il sistema HACCP dovrebbe essere coerentemente applicata per controllare lo status microbiologico richiesto per le materie prime, per ridurre al minimo la contaminazione iniziale a livello di produzione, e /o per ridurre il potenziale di crescita dei microrganismi. Il test nei confronti di un criterio di sicurezza alimentare dopo la produzione dovrebbe essere eseguito solo come verifica del processo produttivo e quindi della corretta applicazione delle GHP e delle procedure HACCP.

Normalmente i criteri microbiologici non sono adatti come limiti critici nel monitoraggio come definito nel sistema HACCP. Le procedure di monitoraggio devono essere in grado

---

[4] Regolamento (EC) N° 178/2002 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 28 gennaio 2002 che stabilisce i principi generali e i requisiti della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare (GU L 31, del 1.2.2002 , pag.1)

[5] Articoli 4 e 5 del Regolamento 852/2004 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 29 Aprile 2004 sull'igiene dei prodotti alimentari (GU L 226 del 25.06.2004, pag.3)

di rilevare la perdita di controllo dei punti critici, e dovrebbero fornire queste informazioni in tempo utile per intraprendere le azioni correttive necessarie a riportare il processo sotto controllo. Pertanto,la misurazione dei parametri fisici e chimici (come tempo/temperatura, pH e a_w), che può essere fatta in tempo reale nell'impianto di produzione, dovrebbe essere utilizzata in sostituzione dei test sui criteri microbiologici.

2.3 Rapporto tra il presente documento di orientamento e altri orientamenti stabiliti

Questo documento non è destinato ad essere cogente e non descrive nel dettaglio come condurre ognuno degli studi sulla vita commerciale definiti per un determinato prodotto alimentare. Da parte del Laboratorio Comunitario di Riferimento (LCR) per *Listeria monocytogenes* è stato preparato un documento di orientamento[2] per i laboratori che conducono studi sulla vita commerciale, in particolare studi di conservabilità e challenge tests.

Il quadro generale fornito in questo documento può essere integrato con altri più dettagliati documenti di orientamento sulla vita commerciale sviluppati da alcuni istituti, autorità nazionali e dalla industria alimentare e da documenti che potranno essere sviluppati in futuro. Questi documenti di orientamento danno informazioni dettagliate su come determinare la vita commerciale di un prodotto. Una lista di riferimento di alcuni documenti di orientamento può essere trovata nell'allegato 5.5. Questo documento non sostituisce linee guida industriali esistenti.

Se non sono disponibili proprie esperienze tecniche, l'OSA dovrebbe cercare assistenza presso personale adeguatamente qualificato e formato per garantire che gli studi sulla vita commerciale siano effettuati in modo appropriato. Gli studi di laboratorio sulla vita commerciale dovrebbero essere implementati in laboratori che hanno la necessaria competenza per tali studi e dimostrano di utilizzare le buone pratiche di laboratorio.

3. PRINCIPI E PROCEDURE PER STUDI SULLA VITA COMMERCIALE

3.1. Generale

La determinazione della vita commerciale è molto importante per la sicurezza microbica dei prodotti alimentari pronti, in particolare dei prodotti alimentari in cui può verificarsi la crescita di *L. monocytogenes*. La vita commerciale è definita come il periodo di tempo per il quale un prodotto resta sicuro e mantiene le sue specifiche qualità durante lo stoccaggio e l'utilizzo previsto. La vita commerciale determina la scadenza che è espressa sull'etichetta di un prodotto come "da consumarsi entro" o " da consumarsi preferibilmente entro", come descritto negli articoli 9 e 10 della direttiva 2000/13/EC[6].

Gli studi sulla vita commerciale e la revisione del piano HACCP devono essere effettuati nelle seguenti circostanze:

- sviluppo di un nuovo prodotto o di modifiche dello stesso,
- sviluppo di un nuovo processo o di modifiche dello stesso,
- sviluppo di un nuovo tipo di imballaggio,
- qualsiasi cambiamento significativo di ingrediente/i o confezionamento di un prodotto esistente,
- modifiche nel luogo di produzione o di attrezzature di produzione, o
- quando in precedenza non è stato effettuato nessuno studio sulla vita commerciale.

L'OSA è responsabile della definizione della vita commerciale in condizioni definite, per fare ciò dovrebbe deve tener conto delle condizioni ragionevolmente prevedibili di distribuzione, stoccaggio e utilizzo. Una parte importante di queste condizioni è data dalla temperatura durante l'intera vita commerciale e quindi la decisione in merito alla quale viene definita la temperatura o le temperature utilizzate per la determinazione della vita commerciale deve essere giustificata. Come regola generale, se viene definita una temperatura troppo bassa di stoccaggio utilizzata per stabilire la vita commerciale rispetto alle reali temperature durante la distribuzione e l'utilizzo, ciò può portare alla sottovalutazione della crescita di microbi, compresi *L. monocytogenes*, e quindi alla sopravvalutazione della durata della vita commerciale sicura. Se non è nota l'effettiva temperatura di immagazzinamento del prodotto in questione, l'OSA può utilizzare ad esempio 8-12 °C come temperatura di stoccaggio per gli studi sulla vita commerciale. In ogni caso l'OSA deve giustificare quali temperature sono utilizzate per la determinazione della vita commerciale, tenendo conto dei dati derivanti dalle temperature durante la distribuzione e lo stoccaggio da parte del consumatore.

In pratica la determinazione della vita commerciale è considerata parte del sistema HACCP di un produttore e tiene conto dei controlli sui fornitori di materie prime assicurando la qualità e la tendenza dei risultati del monitoraggio delle materie prime, dell'affidabilità dei controlli GHP applicati nell'ambiente di produzione come risulta dagli esiti del campionamento delle aree di lavorazione e delle attrezzature, dell'esperienza derivante dalla fabbricazione di prodotti simili, del tasso di deterioramento microbiologico e mantenimento delle qualità organolettiche nelle previste condizioni di conservazione e di utilizzazione.

[6] G.U. L 109 del 06-05-2000. pag. 29-42

La durata della vita commerciale è parte integrante della sicurezza dei prodotti e l'individuazione dei pertinenti agenti patogeni, tra cui *L. monocytogenes*, nelle materie prime e nell'ambiente di produzione è un fattore critico per il successo valutativo di una vita commerciale sicura. E' importante ricordare che le deviazioni dalle condizioni normali, come l'elevato livello di contaminazione iniziale delle materie prime, le temperature troppo elevate durante l'immagazzinamento o il trasporto o una vita commerciale troppo lunga potrebbero avere un impatto significativo sulla sicurezza del prodotto.

Lo scopo degli studi sulla vita commerciale per *L. monocytogenes* è quello di dimostrare la conformità degli alimenti pronti per il consumo ai limiti dei criteri di sicurezza alimentare definiti per *L. monocytogenes* per tutta la propria vita commerciale. La determinazione della vita commerciale microbiologica dei prodotti alimentari deve includere la considerazione dei diversi fattori come ad esempio: settore alimentare, tipo di prodotto e tipo di processo. Dovrà anche essere presa in considerazione la variabilità intrinseca dei lotti fabbricati e la variabilità legata alla specie *L. monocytogenes*, così come tutte le condizioni ragionevolmente previste durante la distribuzione, lo stoccaggio e l'uso, incluse quelle applicate da parte del consumatore.

La dimostrazione di conformità e gli studi sulla vita commerciale possono essere condotti in vari modi, iniziando con il confronto delle caratteristiche del prodotto con la letteratura scientifica disponibile.

Se il confronto delle caratteristiche del prodotto con i dati scientifici disponibili o altri dati, non è in grado di fornire dati sufficienti per sostenere la valutazione della vita commerciale, saranno necessari ulteriori studi. Ciò può comprendere la microbiologia predittiva, l'uso di dati storici adeguati o speciali studi di laboratorio, come ad esempio quelli sulla conservabilità o i challenge tests. Ognuno di questi strumenti ha vantaggi e svantaggi e quando necessario possono essere combinati tra loro.

Gli OSA possono collaborare gli uni con gli altri e cercare consigli da vari laboratori alimentari (ad esempio, gli istituti di ricerca o laboratori di riferimento) durante la conduzione di questi studi sulla vita commerciale.

Il seguente albero delle decisioni (Figura 1) mostra uno schema sistematico per le fasi di studio sulla vita commerciale . L'albero delle decisioni dà all'OSA anche un'indicazione di quando siano necessari ulteriori studi specifici (ad esempio, la conservabilità e il challenge test) al fine di individuare la (potenziale) crescita di *L. monocytogenes* nel prodotto. Maggiori informazioni relative all'albero delle decisioni si possono trovare nell'allegato 5.2.

Sono necessari il continuo monitoraggio e la verifica della vita commerciale per confermare il mantenimento della vita commerciale definita per ogni prodotto.

1.L'alimento è destinato dal produttore o il fabbricante per il consumo umano diretto senza la necessità di cottura o altro trattamento in grado di eliminare o ridurre la *Listeria Monocytogenes* ad un livello accettabile?

No → L'alimento non è pronto al consumo e i criteri su *Listeria monocytogenes* non sono applicabili a questo prodotto. La sicurezza sanitaria è gestita attraverso procedure GHP e HACCP

Si (o incerto) ↓

2. L'alimento pronto appartiene a quella categoria alimentare in cui è molto probabile l'assenza o la crescita limitata di *L. Monocytogenes*? In circostanze normali, ci si riferisce a:

- prodotti che hanno ricevuto un trattamento di cottura o altro trattamento in grado di eliminare *L. Monocytogenes*, quando dopo tale trattamento non vi è possibilità di ricontaminazione (per esempio, prodotti sottoposti a trattamento di cottura all'interno della confezione)
- vegetali e frutta fresca interi e non lavorati, escluso semi germogliati
- pane, biscotti e prodotti simili
- acqua in bottiglia o in confezione, bevande analcoliche, birra, sidro, vino,superalcolici o similari
- zucchero,miele e dolci, incluso cacao e prodotti di cioccolata
- molluschi bivalvi vivi

Sì → In normali circostanze non vengono richiesti campionamenti regolari per *L. Monocytogenes*. La sicurezza alimentare è gestita attraverso il monitoraggio del processo di produzione attraverso procedure GHP e HACCP

No (o incerto) ↓

3. Il prodotto è destinato a lattanti o come alimento dietetico per particolari scopi medici?

Sì → Vedi il criterio specifico del REG CE 2073/05

No ↓

4. Confrontando le caratteristiche del prodotto e la letteratura scientifica, vi è evidenza che la *L. monocytogenes* non cresce nel prodotto? Ciò include per es.:

- prodotti con pH $\leq$ 4,4 o a_w $\leq$ 0,92
- prodotti con pH $\leq$ 5,0 e a_w $\leq$ 0,94
- prodotti con una vita commerciale inferiore a 5 giorni
- prodotti congelati

Altri prodotti possono appartenere a questa categoria, previa giustificazione scientifica (es. presenza di microflora protettiva o sottoculture)

Sì → Limite di 100 ufc/g per i prodotti immessi sul mercato durante la loro vita commerciale. Secondo le procedure HACCP il monitoraggio dovrebbe essere focalizzato sui CCP scelti (per esempio i fattori intrinseci del prodotto, il livello di contaminazione degli ingredienti, le condizioni di lavorazione specifiche). Verifica in accordo con GHP e HACCP

No (o incerto) ↓

5. È stato predisposto uno studio basato sui modelli di microbiologia predittiva?

Sì → *Se inizialmente presente nell'alimento c'è evidenza che le 100ufc/g possono essere superate prima della fine della vita commerciale* → Il processo di produzione e la valutazione della vita commerciale non sono sotto controllo. Il produttore deve garantire che non vi sia alcuna contaminazione da *L. monocytogenes* derivante dalla materia prima o dall'ambiente di produzione. Non si dovrebbero immettere sul mercato prodotti che non siano sicuri. Revision e miglioramento del processo produttivo in accordo ai principi HACCP e revisione della vita commerciale.

No ↓

6. Vi sono appropriati dati storici relativi alla crescita di *L. monocytogenes* nel prodotto e/o sono stati sviluppati studi di conservabilità come descritto nel documento tecnico di orientamento LCR sugli studi inerenti la vita commerciale per *L. monocytogenes* negli alimenti pronti?

Sì → *Se presente nell'alimento c'è evidenza che non verranno superate le 100 ufc/g prima della fine della vita commerciale* → Limiti di 100 ucf/g nel luogo di vendita durante la vita commerciale dei prodotti. Verifica del rispetto delle GHP e dei principi HACCP

No ↓

7. E' stato sviluppato un challenge test come descritto nel documento tecnico di orientamento LCR sugli studi inerenti la vita commerciale per *L. monocytogenes* negli alimenti pronti?

Sì → *La crescita potenziale non c'è o è limitata* → Il produttore assicura che non vi sia nessuna contaminazione da *L. monocytogenes* dalla materia prima o dall'ambiente di lavorazione. Tuttavia la durata della vita commerciale dovrebbe essere definita in modo che il limite per *L. monocytogenes* non supererà 100 cfu/g alla scadenza. La vita commerciale del prodotto dipende dal fattore di crescita e dal livello di una possibile contaminazione di *L. monocytogenes* nel prodotto.

C'è una potenziale crescita →

No ↓

La valutazione della vita commerciale è insufficiente e il produttore non è in grado di dimostrare che non saranno superate le 100 ufc/g prima della scadenza. Se non si è sicuri sulla sicurezza del prodotto, non dovrebbe essere immesso sul mercato. Il produttore dovrà assicurare che non vi sarà alcuna contaminazione da *L. monocytogenes* dalla materia prima o dall'ambiente di produzione. Revisione e miglioramento del processo produttivo in accordo ai principi HACCP. Fatto salvo la possibilità di misurare i prodotti sul mercato, l'alimento deve rispettare il limite di assenza in 25 gr prima che il prodotto lasci lo stabilimento di produzione.

Figura 1. Albero delle decisioni che mostra in modo schematico le fasi degli studi sulla vita commerciale

3.2 Caratteristiche del prodotto e letteratura scientifica

3.2.1 Caratteristiche del prodotto

Durante la determinazione della vita commerciale di un alimento pronto, è importante considerare se il prodotto è in grado di sostenere la sopravvivenza o la crescita di *L. monocytogenes.* La sopravvivenza o la crescita di *L. monocytogenes* negli alimenti pronti è una funzione delle caratteristiche dell'alimento pronto e delle condizioni in cui l'alimento pronto viene prodotto, confezionato e stoccato. Tali caratteristiche riguardano a volte proprietà intrinseche o estrinseche dell'alimento pronto.

Le caratteristiche più importanti di un prodotto che influenzano la sopravvivenza e la crescita di *L. monocytogenes* negli alimenti pronti sono il pH, l'attività dell'acqua (a_w) e la temperatura e il tempo in cui l'alimento viene stoccato. Inoltre i conservanti e la microflora protettiva, incluso le possibili culture starter, possono avere un significativo impatto sulla sopravvivenza e la crescita di *L. monocytogenes* nel prodotto.

Conoscendo le caratteristiche (es. pH, $a_{w,}$ temperatura di stoccaggio) di un prodotto pronto, l'OSA può determinare se esiste la possibilità che *L. monocytogenes* possa sopravvivere o crescere in un particolare alimento pronto. Tale informazione può inoltre permettere agli operatori del settore alimentare di riformulare i loro prodotti per prevenire o ridurre al minimo la sopravvivenza o la crescita di *L. monocytogenes.*

3.2.2. Letteratura scientifica

Un'ampia disponibilità di documentazione sulla *L. monocytogenes* è disponibile su vari testi, riviste scientifiche e universitarie o istituzione tecniche. Anche diverse Istituzioni nazionali, europee (es. Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare) e internazionali mettono a disposizione della documentazione.

Nel momento in cui un OSA definisce le caratteristiche (es. pH, $a_{w,}$ temperatura di stoccaggio) del proprio alimento pronto e le condizioni entro cui l'alimento pronto è prodotto, confezionato e stoccato, dovrebbe utilizzare tali informazioni per confrontare il prodotto con la documentazione esistente in letteratura scientifica sulla sopravvivenza e la crescita di *L. monocytogenes*. Alcuni dei limiti per la sopravvivenza o dei fattori di crescita della *L. monocytogenes* vengono descritti nella Tabella 1. Altri fattori o una combinazione di vari fattori possono essere rilevanti e soggetti a giustificazione scientifica.

L. monocytogenes ha delle caratteristiche specifiche che ne aumentano la propria importanza come agente di malattie di origine alimentare. E' in grado di crescere a 0 °C e può crescere bene negli alimenti refrigerati. E' in grado di sopravvivere in condizioni ambientali difficili, all'essiccazione e alla salatura. Inoltre *L. monocytogenes* è in grado di crescere ad una bassa concentrazione di ossigeno o addirittura in assenza di ossigeno, pertanto negli alimenti sottovuoto è avvantaggiata.

Tavola 1. Fattori di selezione che hanno impatto sulla crescita e la sopravvivenza di *L. monocytogenes*.[a]

Fattore	**Può crescere** [b]			**Può sopravvivere** (ma non cresce) [c]
	Limite di crescita più basso	Ottimale	Limite di crescita più alto	
Temperatura (°C)	da -1,5 a +3,0	da 30,0 a 37,0	45,0	-18,0
pH [d]	da 4,2 a 4,3	7,0	da 9,4 a 9,5	da 3,3 a 4,2
Attività dell'acqua (a_w)	da 0,90 a 0,93	0,99	> 0,99	< 0,90
Concentrazione di sale (%)[e]	< 0,5	0,7	12-16	≥ 20
Atmosfera	Aerobio facoltativo (può crescere in presenza o assenza di ossigeno, es. in una confezione sottovuoto o in atmosfera modificata)			
Trattamento con il calore durante la produzione dell'alimento	Una combinazione tempo/temperatura es. 70 °C per 2 minuti per una riduzione decimale di D-6 (10^6 o 6 decimali). Anche altre combinazioni tempo/temperatura possono fornire la stessa riduzione			

[a] I limiti di crescita e sopravvivenza di *L. monocytogenes* presentati in questa tabella sono basati su di una ricerca effettuata principalmente in terreno di laboratorio in condizioni ottimali e dovrebbero essere utilizzati solo come stime dell'impatto negli alimenti.
[b] Ottimale indica quando la crescita di *L. monocytogenes* è la più veloce.
[c] Il periodo di sopravvivenza varierà in relazione alla natura dell'alimento e di altri fattori.
[d] L'inibizione di *L. monocytogenes* dipende dal tipo di acido presente.
[e] Basato sulla percentuale di cloruro di sodio in fase acquosa.

3.3 Dati storici

I dati storici sono l'insieme delle registrazioni che un'impresa alimentare conserva come parte della sua attività corrente. Alcuni di questi dati saranno registrati dall'OSA come parte dei propri obblighi legali ai sensi della legislazione in materia di sicurezza alimentare, come la rintracciabilità, l'HACCP e i propri piani di verifica, compresa la qualità delle materie prime, il prelievo di campioni dalle aree di lavorazione e dalle attrezzature (per dimostrare l'efficacia delle procedure dello stabilimento in materia di igiene e pulizia) e i test sui prodotti, in particolare nel giorno di produzione e al termine della vita commerciale (per verificare rispettivamente l'efficacia del sistema HACCP e la conservabilità). I dati storici sono utili nel determinare la vita commerciale degli alimenti pronti per i seguenti motivi:

- I dati storici indicano i livelli di *L. monocytogenes* trovati nell'ambiente di produzione, nelle materie prime e nei prodotti alimentari pronti, nelle correnti pratiche GHP e HACCP utilizzate dagli operatori,

- I dati storici sui livelli di *L. monocytogenes* in alimenti pronti esistenti all'inizio e alla fine della vita commerciale possono essere utilizzati per valutare il suo potenziale di crescita in alimenti simil-pronti con caratteristiche intrinseche comparabili (pH, a_w, microflora, ecc) prodotti in condizioni praticamente identiche,

- I dati storici sui livelli di *L. monocytogenes* in alimenti pronti esistenti all'inizio e alla fine della vita commerciale sono ampiamente utilizzati anche nella pratica per verificare la conservabilità del prodotto e confermare che la vita commerciale fissata resti adeguata durante lo stoccaggio, la manipolazione e l'uso ragionevoli, e

- Lo storico dei dati generati nel corso di un periodo di tempo per alimenti pronti comparabili (come sopra) e che continua ad essere generato su basi evolutive può essere utilizzato per l'analisi delle tendenze. Laddove i livelli di *L. monocytogenes* in alimenti pronti alla fine della vita commerciale sono considerevolmente bassi o assenti e non sono stati ottenuti risultati superiori ai 100 ufc/g, tali dati possono essere utilizzati in combinazione con i dati derivanti dai campionamenti effettuati nelle aree di lavorazione e sulle attrezzature e sulla qualità delle materie prime per dare un sufficiente livello di sicurezza che tali alimenti pronti non rappresentano un rischio per la salute pubblica. Il livello di fiducia aumenta con la quantità di dati disponibili. Più prodotti vengono testati più i dati storici diventano affidabili.

L'OSA deve soddisfare l'autorità competente (AC) in modo che i suoi dati storici siano sufficienti a dimostrare che il limite di 100 ufc/g non sarà superato durante la vita commerciale. L'AC può richiedere che tali dati siano integrati con ulteriori studi, ad esempio, con studi di laboratorio sulla conservabilità.

3.4 Microbiologia predittiva (modellizzazione)

3.4.1. *Generale*

La microbiologia predittiva (modellizzazione) ha lo scopo di prevedere il comportamento dei microrganismi negli alimenti durante la loro produzione o deposito. Negli ultimi anni, notevoli progressi sono stati compiuti nel campo della microbiologia predittiva soprattutto di valutazione della crescita di *L. monocytogenes* negli alimenti.

Ci sono dati e modelli disponibili in letteratura e questi modelli sono stati implementati in alcuni semplici software. Alcuni dei modelli sono stati sviluppati per prevedere il comportamento microbico quando le caratteristiche fisico-chimiche dei prodotti alimentari (ad esempio, il pH, l'attività di acqua, le concentrazioni di acidi organici) e la temperatura di stoccaggio sono note. Altri modelli sono stati sviluppati per prevedere il comportamento dei microrganismi in particolari alimenti, qualsiasi possano essere le loro condizioni di stoccaggio.

Alcuni modelli sono basati su dati ottenuti dai terreni liquidi impiegati in microbiologia e sono utilizzati per descrivere il possibile impatto di diversi fattori. Alcuni di questi modelli possono sbagliare nel descrivere accuratamente il comportamento microbico negli alimenti, anche se i modelli di questo tipo più convincenti sono stati convalidati sui prodotti alimentari. I modelli relativi agli alimenti possono descrivere efficacemente l'impatto delle condizioni di magazzinaggio su un determinato alimento, ma è discutibile la loro capacità di descrivere l'impatto della variabilità delle caratteristiche fisico-chimiche dell'alimento o di fare previsioni in altri alimenti. Alcuni approcci intermedi sono stati elaborati cercando di superare i limiti dei due approcci principali.

A dispetto delle limitazioni, i modelli predittivi restano validi strumenti di valutazione della crescita di *L. monocytogenes* negli alimenti, se le condizioni sono note. Modelli di crescita/non crescita che prevedono la probabilità di crescita di *L. monocytogenes* negli alimenti possono aiutare gli OSA a classificare i loro prodotti alimentari.

Modelli di previsione dei tempi di latenza e del tasso di crescita microbica negli alimenti possono aiutare gli OSA a valutare la crescita di *L. monocytogenes* negli alimenti durante la loro conservazione, tenendo conto della variabilità del ceppo, della lavorazione attinente, della variabilità nei prodotti alimentari e delle condizioni di stoccaggio.

I modelli di microbiologia predittiva devono essere usati con cautela e utilizzati solo da personale formato ed esperto che ne comprenda le limitazioni e le condizioni d'uso. Un esempio di modello microbiologico predittivo è indicato nell'allegato 5.3.

3.4.2. *L'applicazione pratica della microbiologia predittiva*

La microbiologia predittiva può essere utile per le seguenti applicazioni:

- prevedere la crescita batterica in condizioni diverse,
- prevedere la probabilità di crescita dei microrganismi negli alimenti,
- stimare il livello di contaminazione in un determinato giorno della vita commerciale,
- testare la variabilità tra 2 lotti,
- ottimizzare la formulazione (additivi, pH, sale) per assicurare la stabilità migliore,
- valutare l'impatto delle interruzioni della catena del freddo e testare diversi scenari di stoccaggio e
- aiutare a identificare i punti di controllo critico in un processo.

Alcuni modelli ampiamente riconosciuti, comunemente utilizzati e liberamente disponibili sono elencati qui di seguito, anche se questo non è destinato ad essere un elenco esaustivo:

- Growth predictor
  Liberamente disponibile presso l'Institute of Food Research, Regno Unito
  (www.Ifr.ac.uk / safety/growthpredictor),

- Pathogen Modelling Programme
  Liberamente disponibile da parte del Dipartimento dell'agricoltura degli Stati Uniti, Servizio di ricerca (http://ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=6786).

Altri software sono disponibili in commercio. I calcoli e le illustrazioni negli allegati 5.3 e 5.4 sono fatti con un software commerciale.

3.5 Studi specifici di laboratorio sulla vita commerciale per esaminare la conformità con i criteri per *Listeria monocytogenes* negli alimenti pronti durante tutto il periodo di conservazione

3.5.1 *Generale*

Questa sezione descrive le procedure microbiologiche per determinare la crescita di *L. monocytogenes* utilizzando studi di conservabilità e challenge test (Figura 2.). Il challenge test può essere ulteriormente suddiviso in due categorie: di valutazione del potenziale di crescita (δ) e di valutazione del tasso di crescita massimo (μ_{max}).

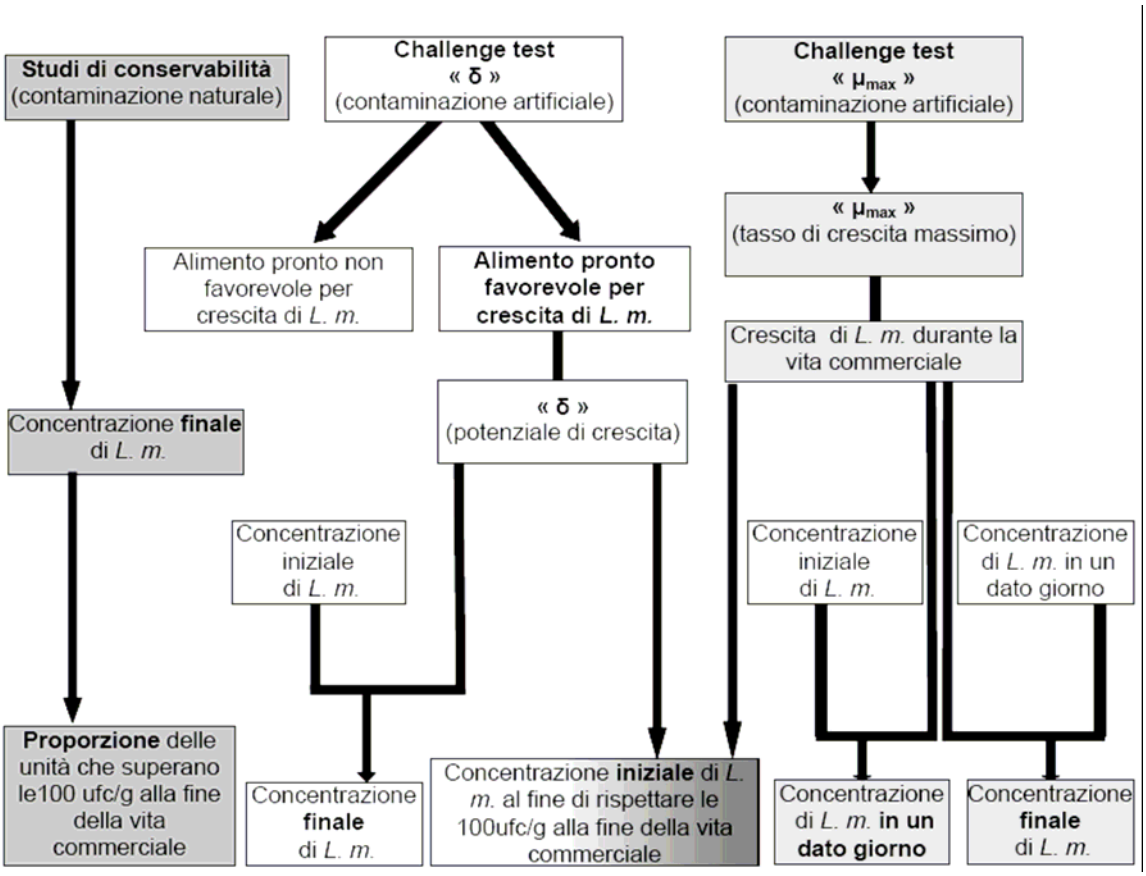

Figura 2. Descrizione degli studi di conservabilità e dei challenge tests

Maggiori dettagli relativi alla metodologia e al calcolo dei risultati sono disponibili nel "Documento tecnico di orientamento per gli studi sulla vita commerciale degli alimenti pronti al consumo inerenti alla *Listeria monocytogenes*"

3.5.2. Studi di conservabilità

3.5.2.1. Scopo e limiti degli studi di conservabilità

Gli studi di conservabilità consentono la valutazione della crescita di *L. monocytogenes* in un alimento contaminato naturalmente durante il suo stoccaggio nelle condizioni ragionevolmente prevedibili.

Gli studi di conservabilità sono più realistici dei challenge tests, in quanto la contaminazione è naturale (possono essere uno o più ceppi), tiene conto dei danni o delle sollecitazioni, della distribuzione e della concentrazione iniziale della *L. monocytogenes*.

Il numero relativamente basso di prodotti alimentari contaminati con *L. monocytogenes*, il basso grado di contaminazione iniziale e la sua distribuzione non uniforme, rendono difficile l'interpretazione dei risultati degli studi di conservabilità. Pertanto, può essere necessario l'uso di altri strumenti, come il challenge test.

3.5.2.2. Interpretazione dei risultati degli studi di conservabilità

La storia degli studi di conservabilità effettuati per lo stesso prodotto nello stesso processo, rappresentativo della variabilità delle condizioni di fabbricazione, consentirà di valutare i livelli di *L. monocytogenes* negli alimenti alla fine del test. Può essere utilizzata per valutare la percentuale (associato al suo intervallo di confidenza) di unità (unità commerciali) che supera il valore limite di 100 ufc/g al termine della vita commerciale, dopo un periodo di deposito che rifletta le previste condizioni di distribuzione e magazzinaggio. Il livello di confidenza aumenta con l'aumentare della quantità di dati disponibili. Più unità di prodotto vengono testati più affidabile diventa lo studio sulla vita commerciale.

3.5.3. *Challenge tests*

3.5.3.1. Scopo e limiti dei challenge tests

I challenge tests hanno lo scopo di fornire informazioni sul comportamento di *L. monocytogenes* inoculata artificialmente in un prodotto alimentare prima dello stoccaggio in determinate condizioni. Questi test possono essere attuati per due scopi: per valutare il potenziale di crescita o per stimare i parametri di crescita (es: tasso di crescita massimo).

I challenge tests possono prendere in considerazione la variabilità dei prodotti alimentari (utilizzando diverse partite), la specifica contaminazione dell'alimento (inoculando ceppi isolati dall'alimento), anche se il livello di contaminazione, l'eterogeneità della contaminazione e lo stato fisiologico dei batteri sono difficili da imitare.

- I challenge tests microbiologici di valutazione del potenziale di crescita (δ) consentono:
    - la classificazione degli alimenti in "Alimenti pronti che costituiscono terreno favorevole alla crescita di *L. monocytogenes*, diversi da quelli destinati ai lattanti e a fini medici speciali "o" alimenti pronti che non costituiscono terreno favorevole alla crescita di *L. monocytogenes*, diversi da quelli destinati ai lattanti e a fini medici speciali ", e
    - la quantificazione del comportamento di *L. monocytogenes* in un prodotto alimentare in rispondenza alle condizioni ragionevolmente prevedibili, tra la produzione e il consumo (es. il calcolo della concentrazione alla fine della vita commerciale rispetto alla concentrazione iniziale, o la determinazione della concentrazione all'inizio della vita commerciale al fine di rispettare il limite di 100 ufc/g al termine della vita commerciale).

- I challenge tests microbiologici di valutazione del tasso di crescita massimo (μ_{max}) consentono:

  - la determinazione della concentrazione di *L. monocytogenes* in un determinato giorno della vita commerciale, se la concentrazione iniziale è nota, e

  - la determinazione della massima concentrazione di *L. monocytogenes* che può essere presente nella fase di produzione al fine di ripettare il limite di 100 ufc/g al termine della vita commerciale.

3.5.3.2. Interpretazione dei risultati dei challenge tests

Challenge tests di valutazione del potenziale di crescita

Un challenge test microbiologico che valuta il potenziale di crescita (δ) è uno studio di laboratorio che misura la crescita di *L. monocytogenes* in un alimento contaminato artificialmente e conservato in condizioni definite di trasporto, di distribuzione e di stoccaggio fino al consumo.

Il potenziale di crescita (δ) è la differenza tra il $\log_{10}$ ufc/g alla fine del prova e il $\log_{10}$ ufc/g all'inizio della prova. Il δ dipende da molti fattori, i più importanti sono:

- ceppo inoculato(i),
- danno o sollecitazione del ceppo inoculato(i),
- proprietà intrinseche dell'alimento (ad esempio, pH, contenuto di NaCl, a_w, contenuto nutrizionale, microflora associata, costituenti antimicrobici) e
- proprietà estrinseche (es. profilo della temperatura, gas in atmosfera).

I dettagli relativi al calcolo dei risultati sono disponibili nel Documento tecnico di orientamento del LRC.

Con un livello iniziale di contaminazione da *L. monocytogenes* noto, il potenziale di crescita permette di calcolare la concentrazione finale per un alimento identico, un ceppo identico e le stesse condizioni di stoccaggio. Il potenziale di crescita può essere usato anche per calcolare quella concentrazione iniziale nell'alimento tale da consentire all'alimento di rispettare il limite di 100 ufc/g al termine della vita commerciale .

Challenge test di valutazione del tasso di crescita massimo

Un challenge test microbiologico di valutazione del tasso di crescita massimo (μ_{max}) è uno studio di laboratorio che misura il tasso di crescita di *L. monocytogenes* in un alimento contaminato artificialmente conservato nelle condizioni previste ad una determinata temperatura.

Per la crescita esponenziale, interpolando il logaritmo naturale del numero di cellule con il tempo si produce una linea retta. La pendenza di questa linea è il tasso di crescita massimo

(μ_{max}) del batterio. Il tasso di crescita massimo è un parametro importante della curva di crescita che dipende da:

- ceppo inoculato(i)
- proprietà intrinseche dell'alimento (es. pH, contenuto di NaCl, a_w, contenuto nutrizionale, microflora associata, costituenti antimicrobici) e
- proprietà estrinseche (es. tracciato della temperatura, atmosfera di gas)

L'interpretazione dei challenge tests è descritta in modo più dettagliato nel Documento tecnico di orientamento del LRC.

3.6 Valutazione della vita commerciale combinando differenti strumenti disponibili

Si possono differenziare due diversi approcci: un approccio in riferimento al singolo caso e un approccio basato sul rischio (figura 3).

L'approccio sul singolo caso ritiene che, in caso di contaminazione, inizialmente l'alimento contenga un dato numero di cellule batteriche, abbia determinate caratteristiche e sia stoccato in condizioni statiche. Normalmente questo approccio fornisce informazioni limitate ed inadeguate perché queste condizioni non tengono conto della naturale variabilità dei parametri che possono avere un impatto sulla contaminazione alla fine della vita commerciale. Infatti, la contaminazione di *L. monocytogenes* può avere diverse evoluzioni in relazione a:

- livello di contaminazione iniziale (concentrazione iniziale alta o bassa)
- stato fisiologico delle cellule contaminanti (stress batteriologico che porta ad un tempo di latenza più o meno lungo)
- la capacità di crescita della specie batterica contaminante l'alimento,
- le caratteristiche dell'alimento (la variabilità del pH e dell'attività dell'acqua tra lotti diversi e all'interno dello stesso lotto), e
- le condizioni di stoccaggio dei frigoriferi in distribuzione e nell'ambiente domestico.

Tale approccio può condurre a definire una vita commerciale:

- eccessivamente breve "nella situazione peggiore", ciò significa che gli studi fatti sono troppo cauti (contaminazioni più alte, specie che crescono molto velocemente, assenza della fase di latenza, alimenti che favoriscono una crescita maggiore, temperature di stoccaggio più alte), o

- in alternativa, pericolosamente lunga se tutte le condizioni ragionevolmente prevedibili di distribuzione, stoccaggio ed utilizzo non sono prese in considerazione

Tuttavia questo approccio può essere sufficiente per dimostrare nello scenario peggiore che l'alimento rispetterà il limite alla fine della vita commerciale . L'OSA può così valutare la massima contaminazione finale alla fine della vita commerciale quando la contaminazione iniziale è massimale, con il massimo potenziale di crescita e nelle peggiori condizioni di stoccaggio.

Se la contaminazione massima stimata non supera il limite la vita commerciale può considerarsi sicura. D'altro canto se la contaminazione massima stimata supera il limite, la vita commerciale deve essere accorciata o l'OSA deve prendere in considerazione la possibilità di superamento del limite per quella vita commerciale e valutare se tale probabilità sia accettabile o meno. In questo caso deve essere utilizzato un approccio basato sul rischio per valutare la distribuzione della contaminazione alla fine della vita commerciale per tutte le situazioni ragionevolmente prevedibili. L'OSA dovrebbe inoltre considerare di migliorare le condizioni igieniche delle strutture e/o lo stato microbiologico degli ingredienti assieme alla rivalutazione della vita commerciale .

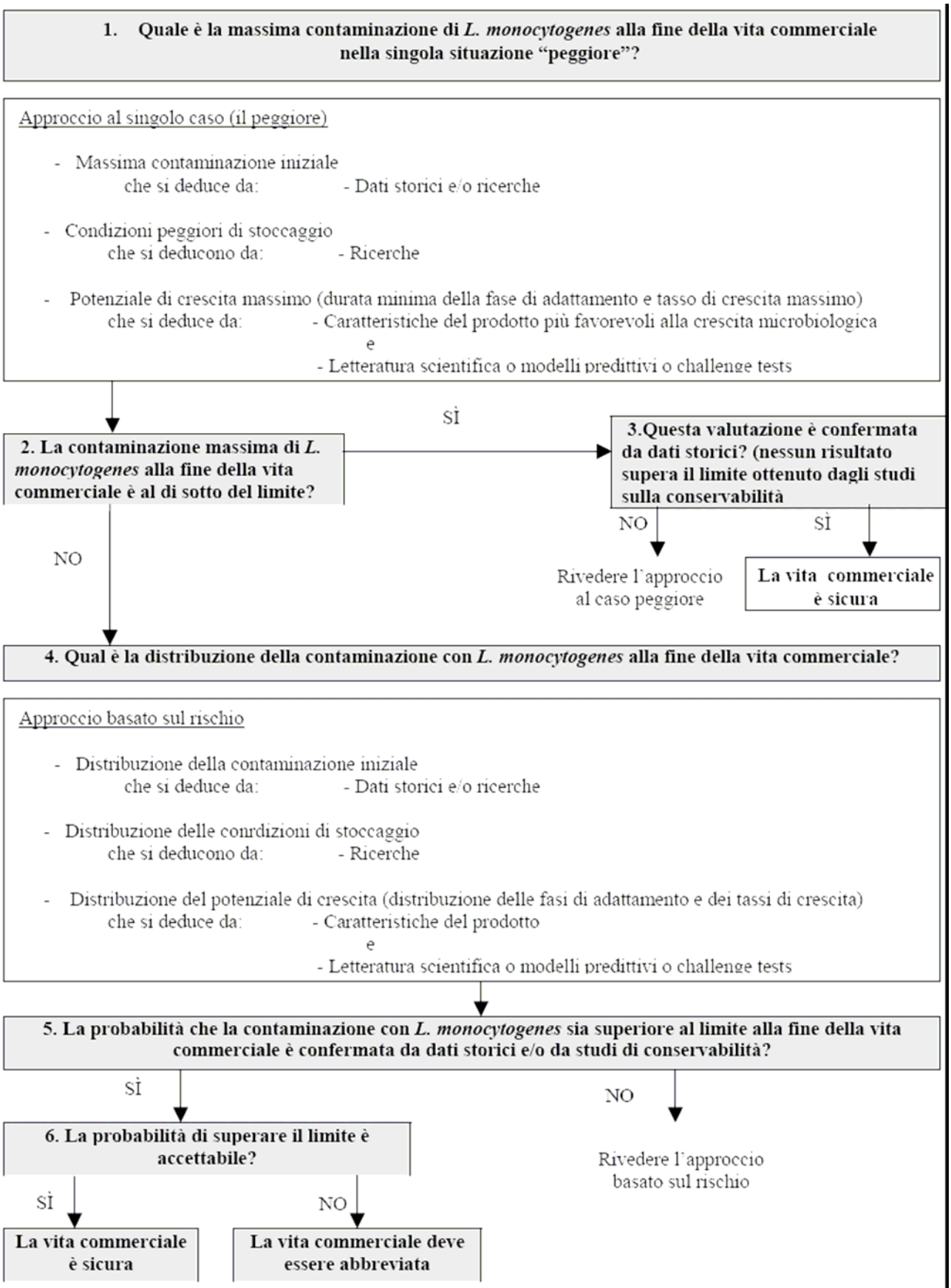

Figura 3:Un albero delle decisioni che descrive la combinazione di metodi per stabilire la vita commerciale (vari es. sono forniti nell'allegato 5.4)

3.7. Collaborazione tra operatori del settore alimentare

Quando necessario, l'OSA condurrà studi (determinazione delle caratteristiche fisico-chimiche del prodotto, modelli matematici predittivi, dati storici, test di conservabilità o challenge test) per valutare la conformità con i criteri dall'inizio alla fine della vita commerciale. Gli OSA possono collaborare tra loro nel condurre questi studi. Accettando tale collaborazione, è importante che l'OSA prenda in considerazione l'ambiente di ogni impianto di lavorazione.

Gli OSA che producono prodotti simili in condizioni simili possono utilizzare i risultati degli stessi studi. Tuttavia, l'utilizzo dello stesso studio o studi per alimenti prodotti in differenti impianti alimentari richiede di tenere in considerazione i seguenti aspetti:

- I prodotti dovrebbero avere le stesse caratteristiche per considerare validi gli studi (pH, a_w, contenuto in sale, concentrazione dei conservanti, tipo di imballaggio, microflora associata o qualsiasi altra caratteristica importante per la sopravvivenza e la crescita di *L. monocytogenes*). Se una o più caratteristiche sono differenti tali studi non possono essere utilizzati senza la valutazione dell'effetto delle differenti caratteristiche sulla sopravvivenza o crescita di *L. monocytogenes.*

- La formulazione del prodotto dovrebbe essere la stessa o se ciò non fosse gli ingredienti dovrebbero essere valutati per i loro effetti sulla crescita di *L. monocytogenes,*

- Il processo di produzione dovrebbe essere simile. Le fasi del processo dovrebbero essere confrontate nel dettaglio e dovrebbe essere valutato l'effetto sulla sopravvivenza e sulla crescita per ogni differenza nel processo. Gli studi dovrebbero considerare la variabilità intrinseca collegata al prodotto,

- Le condizioni di conservazione e la vita commerciale dovrebbero essere simili e se ciò non fosse, le differenze dovrebbero essere valutate per i loro effetti sulla crescita di *L. monocytogenes,* e

- La microflora associata (starter) dovrebbe essere identica, e se no, dovrebbe avere il medesimo effetto sulla *L. monocytogenes*

L'OSA dovrebbe dimostrare all'autorità competente che i prodotti e la lavorazione sono simili, e se i prodotti non sono simili, l'OSA dovrebbe essere in grado di dimostrare in cosa sono differenti e quali effetti tali differenze hanno sulla sopravvivenza e sulla crescita di *L. monocytogenes*. L'OSA come fonte di informazione può utilizzare la letteratura scientifica disponibile e i dati di ricerche.

4. DOCUMENTAZIONE DEGLI STUDI SULLA VITA COMMERCIALE

L'OSA dovrebbe conservare la documentazione degli studi sulla vita commerciale e la sua verifica come parte delle procedure GHP e HACCP. La documentazione dovrebbe includere tutti i dati necessari (caratteristiche del prodotto, letteratura scientifica utilizzata e tipi e risultati di altri studi sulla vita commerciale) che sono stati utilizzati per la determinazione della vita commerciale.

E' fondamentale che la documentazione sia prontamente disponibile es: per fare in modo che l'OSA sia in grado di dimostrare con soddisfazione dell'autorità competente che i propri prodotti sono conformi alle norme comunitarie fino alla fine della vita commerciale. Il formato della documentazione può essere deciso dall'OSA.

5. ALLEGATI

5.1 Definizioni

Lotto

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

Criterio di sicurezza alimentare

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

Corretta prassi igienica (GHP)

Il rispetto di tutti i requisiti di legge e gli obblighi in materia di igiene e di applicazione delle norme basate sulla conoscenza scientifica, al fine di ottenere prodotti alimentari sicuri durante il processo di produzione e quando l'alimento è stato immesso sul mercato.

Analisi dei pericoli dei punti di controllo critici (HACCP)

Un sistema che individua, valuta e controlla i pericoli che sono significativi per la sicurezza alimentare. Un punto di controllo critico è una fase in cui il controllo può essere applicato ed è essenziale per prevenire o eliminare un pericolo per la sicurezza alimentare o per ridurlo ad un livello accettabile.

pH

Una misura di acidità o alcalinità di un alimento. Il pH 7 è definito come neutro. Valori di un pH inferiore a sette sono considerati acidi e quelli maggiori a sette sono considerati basici (alcalini).

Prodotti alimentari pronti per il consumo (RTE)

Prodotti alimentari destinati dal produttore o dal fabbricante per il consumo umano diretto senza la necessità di cottura o altro trattamento efficace per eliminare o ridurre ad un livello accettabile i microrganismi di interesse.

Vita commerciale

Il periodo che corrisponde al periodo che precede il termine minimo di conservazione o la data di scadenza, come definiti rispettivamente agli articoli 9 e 10 della direttiva 2000/13/CE riguardanti, tra l'altro, l'etichettatura dei prodotti alimentari.

Attività dell'acqua (a_w)

Il termine si riferisce all'acqua non legata e disponibile in un prodotto alimentare e non corrisponde a quella contenuta nell'alimento. L'acqua in un alimento che non è legata ad altre molecole può favorire la crescita dei microbi. L' attività dell'acqua si estende su una scala da 0 a 1 (acqua pura), ma la maggior parte degli alimenti ha un livello di attività dell'acqua entro un intervallo che va da 0,2 per alimenti molto secchi a 0,99 per alimenti umidi freschi.

Validazione

Un processo o uno studio per dimostrare che un metodo o un processo è accettabile per la sua la destinazione e anche per ottenere la prova che gli elementi del piano HACCP sono efficaci.

Verifica

Dimostrazione sperimentale che un metodo o un processo stabilito funziona con la gestione del conduttore in accordo alle specifiche, del metodo o del processo, determinate nello studio di validazione. Inoltre riguarda l'applicazione di metodi, procedure, test e altre valutazioni, in aggiunta al monitoraggio per determinare la conformità con il piano HACCP.

Giorno 0

Data di produzione o di confezionamento.

Fine della vita commerciale

L'ultimo giorno del periodo di vita commerciale definito dall'OSA espresso su un prodotto con i termini "da consumarsi entro" o " da consumarsi preferibilmente entro".

5.2. Esempi per definire le fasi necessarie alla decisione degli studi sulla vita commerciale

Le domande che seguono sono legate alla Figura 1 nel testo principale del presente documento.

Domanda 1:

La prima domanda a cui l'OSA deve rispondere è se vi è evidenza che il prodotto sarà cotto o sarà lavorato in un modo che sia efficace a eliminare o ridurre a un livello accettabile la *L. monocytogenes* prima del consumo. In questo caso, nessun criterio specifico in materia di *L. monocytogenes* è applicabile ai prodotti alimentari, e l'alimento non deve essere considerato come alimento pronto. La sicurezza alimentare deve essere gestita mediante l'attuazione di procedure GHP e HACCP, le quali dovrebbero includere il controllo dello stato microbiologico delle materie prime, riducendo al minimo la contaminazione iniziale a livello di fabbricazione, il controllo del processo di produzione, ecc

Domanda 2:

La seconda domanda a cui l'OSA deve rispondere è se vi è evidenza che *L. monocytogenes* possa essere assente nell'alimento o la sua crescita sia limitata. In circostanze normali, e in base alla nota 4 dell'allegato I del Regolamento (CE) n. 2073/2005, i seguenti alimenti pronti possono essere inclusi in questo gruppo:

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

Per questi prodotti, in normali circostanze, non sono richiesti esami su *L. monocytogenes*. La sicurezza alimentare è gestita dal monitoraggio del processo di produzione nei punti di controllo critico (ad esempio il trattamento termico). Può essere utilizzato un test su *L. monocytogenes* alla fine della vita commerciale come verifica dell'efficacia del piano HACCP.

Domanda 3:

Quando si producono o lavorano prodotti destinati ai lattanti e alimenti dietetici a fini medici speciali dovrebbe essere applicato un criterio specifico per *L. monocytogenes* (assenza in 25 g, n = 10, c = 0).

Domanda 4:

Se l'OSA dimostra scientificamente che *L. monocytogenes* non cresce nel prodotto, deve essere applicato il limite di 100 ufc/g di *L. monocytogenes* quando il prodotto è sul mercato.

Secondo la nota 8 di cui all'allegato I del Regolamento (CE) n. 2073/2005, possono essere direttamente inclusi in questo gruppo i seguenti prodotti:

- prodotti con pH $\leq$ 4,4 o $a_w \leq$ 0,92,
- prodotti con pH $\leq$ 5,0 e $a_w \leq$ 0,94,
- prodotti con una vita commerciale inferiore a cinque giorni,
- i prodotti congelati,
- altri prodotti basati su di una giustificazione scientifica.

Anche i prodotti di cui alla nota 4 del Regolamento non costituiscono terreno favorevole per la crescita di *L. monocytogenes* (si veda la domanda 2).

Altre categorie di prodotti possono essere inclusi in questo gruppo se giustificati da evidenze scientifiche.

Secondo le procedure HACCP, la sicurezza alimentare deve essere gestita con il monitoraggio dei CCP definiti (ad esempio il monitoraggio dei fattori intrinseci del prodotto, come a_w e il pH). Il controllo del livello iniziale di contaminazione delle materie prime e degli ingredienti e le GHP (contaminazione incrociata, etc) devono garantire che il livello di *L. monocytogenes* sia di 100 ufc g durante la vita commerciale del prodotto.

Domande 5 e 6:

Quando la crescita di *L. monocytogenes* nel prodotto non può essere esclusa da una giustificazione scientifica o da quanto indicato nelle note 4 e 8 del Regolamento, l'OSA dovrà condurre studi specifici per verificare la conformità con i criteri per l'intera durata della vita commerciale utilizzando dati storici, modelli predittivi, prove di conservabilità o challenge test.

Quando questi studi sono effettuati come descritto in precedenza nel documento e vi sono sufficienti dati a dimostrare che l'alimento non conterrà *L. monocytogenes* in quantità superiore a 100 ufc/g fino alla fine della vita commerciale, l'OSA è in grado di dimostrare la conformità con il limite di 100 ufc/g. La sicurezza alimentare deve essere gestita mediante l'applicazione di GHP, mediante l'implementazione ed il monitoraggio di appropriati CCP e mediante il controllo del livello di contaminazione microbiologica iniziale delle materie prime e degli ingredienti. Si dovrebbero eseguire test nei confronti di *L. monocytogenes* come verifica delle GHP e delle procedure HACCP.

Quando ci sono dati che indicano che il limite di 100 ufc/g può essere superato alla fine della vita commerciale, l'OSA non è in grado dimostrare la conformità con il Regolamento e con i principi del sistema HACCP, il processo di produzione e la determinazione iniziale della vita commerciale devono essere rivisti e migliorati. Questo dovrebbe includere il controllo della qualità microbiologica della materia prima e degli ingredienti, la riduzione della crescita

potenziale di *L.monocytogenes,* l'adeguamento dei fattori intrinseci del prodotto finale, un ulteriore trattamento termico, ecc

Domanda 7:

Quando viene effettuato un challenge test come descritto nel Documento Tecnico di Orientamento e non viene trovato alcun potenziale di crescita durante la vita commerciale prevista, si dovrebbe applicare per questo prodotto il limite di 100 ufc/g. La sicurezza del prodotto dovrebbe essere gestita mediante l'attuazione delle GHP e delle procedure basate sull'HACCP. Le prove su *L. monocytogenes* dovrebbero essere utilizzate come verifica della efficacia del controllo dei CCP.

Quando il challenge test come descritto nel Documento Tecnico di Orientamento dimostra che esiste un rischio potenziale per la crescita di *L. monocytogenes*, l'OSA deve rivedere la vita commerciale per garantire il rispetto del limite di 100 ufc/g all'interno di essa per quel prodotto. I test per la ricerca di *L. monocytogenes* in base ai criteri dovrebbero essere utilizzati come verifica delle GHP e delle procedure basate sull'HACCP.

Quando non si dispongono informazioni sul prodotto e sulla possibile crescita di *L. monocytogenes* nel prodotto, il rispetto dei criteri per *L. monocytogenes* non può essere garantito e di conseguenza la sicurezza dell'alimento. In questo caso il processo di produzione, compresi i requisiti per le materie prime, ingredienti, ecc deve essere rivisto e migliorato in accordo ai principi del sistema HACCP. L'OSA deve conformarsi al limite di assenza in 25 g prima che il prodotto non sia più sotto il suo controllo diretto.

5.3. Esempio sull'uso della microbiologia predittiva

Dai parametri di crescita di *L. monocytogenes* osservati in un alimento ad una determinata temperatura di conservazione, si possono prevedere i parametri di crescita per altre temperature di stoccaggio. Ad esempio, da un tasso di crescita di 0,17 $\log_{10}$ ufc/g al giorno e da una fase di latenza di 3,1 giorni che si ottiene in un alimento a 8 °C, si può prevedere la crescita dei parametri nello stesso alimento a 4 °C, 6 °C e 10 °C.

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

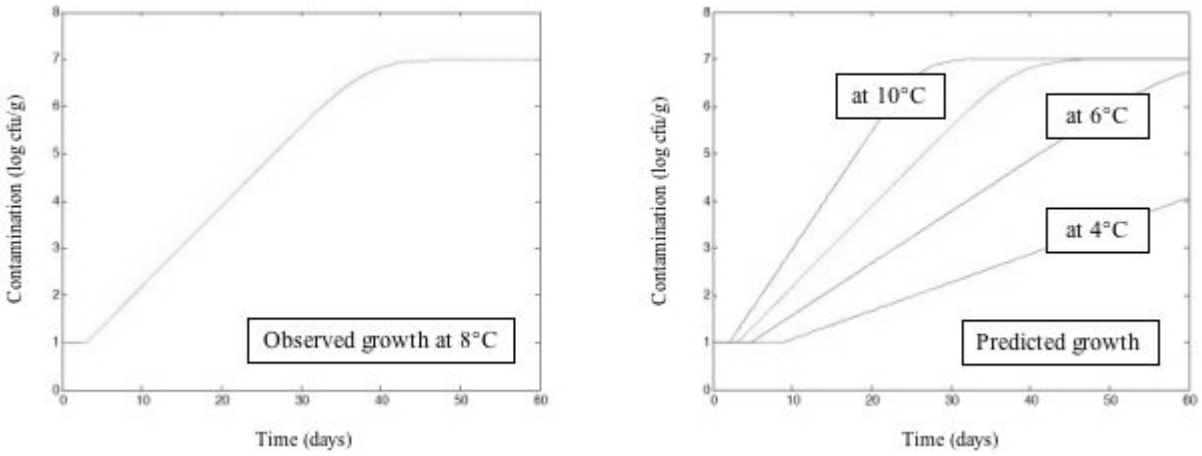

Figura 4. Un esempio di microbiologia predittiva

5.4. Esempi di valutazione della vita commerciale utilizzando l'approccio combinato di diversi strumenti a disposizione

Caratteristiche del prodotto utilizzate per gli esempi 1-3 qui di seguito riportati sono:

- pH medio = 5,97 ± 0,05
- a_w media = 0,960 ± 0,012
- Massima[7] contaminazione iniziale = 1 ufc/g

Tasso di crescita massimo (μ_{max}) e fase di latenza per un prodotto identico a pH = 6,03 e a_w = 0,959 a 10 °C (dati forniti dalla letteratura scientifica o da modelli predittivi o challenge test):

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

1. vita commerciale di 10 giorni a 6 °C (approccio al caso singolo)

Questo esempio descrive un caso singolo per l'adozione di una vita commerciale di 10 giorni e una temperatura di stoccaggio di 6 °C.

Per una temperatura massima di stoccaggio di 6 °C, la fase di latenza media sarà di 14 giorni e il tasso di crescita medio sarà 0,12 $\log_{10}$ ufc/g al giorno. Tenendo conto delle caratteristiche fisico-chimiche del prodotto e il comportamento dei ceppi di *L.monocytogenes* è consentita la seguente valutazione:

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

Per una concentrazione iniziale massima di 1 ufc/g (cioè 0 $\log_{10}$ ufc/g) la concentrazione finale sarà:

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

Anche con una fase di latenza pari a zero, la concentrazione finale sarebbe:

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

In questo caso, l'approccio al singolo caso è sufficiente a dimostrare che il limite di 100 ufc/g non è superato al termine della vita commerciale.

---

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

2. vita commerciale di 28 giorni con 10 giorni a 4 °C e 18 giorni a 8 °C

Approccio al singolo caso

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

Concentrazione finale:

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

In questo caso, l'approccio al singolo caso dimostra che il limite di 100 ufc/g è notevolmente superato alla fine della vita commerciale. Utilizzando un approccio basato sul rischio è necessario prendere in considerazione la variabilità intrinseca del prodotto e valutare la probabilità di superare il limite.

Approccio basato sul rischio

Unità di vendita = 200 g

La contaminazione iniziale è valutata in base ai dati storici di analisi microbiologiche: 2% di risultati positivi in campioni di 25 g. Se si assume una distribuzione omogenea della contaminazione del prodotto, il 27% delle unità di vendita di 200 g saranno contaminati con almeno 1 ufc/g per unità.

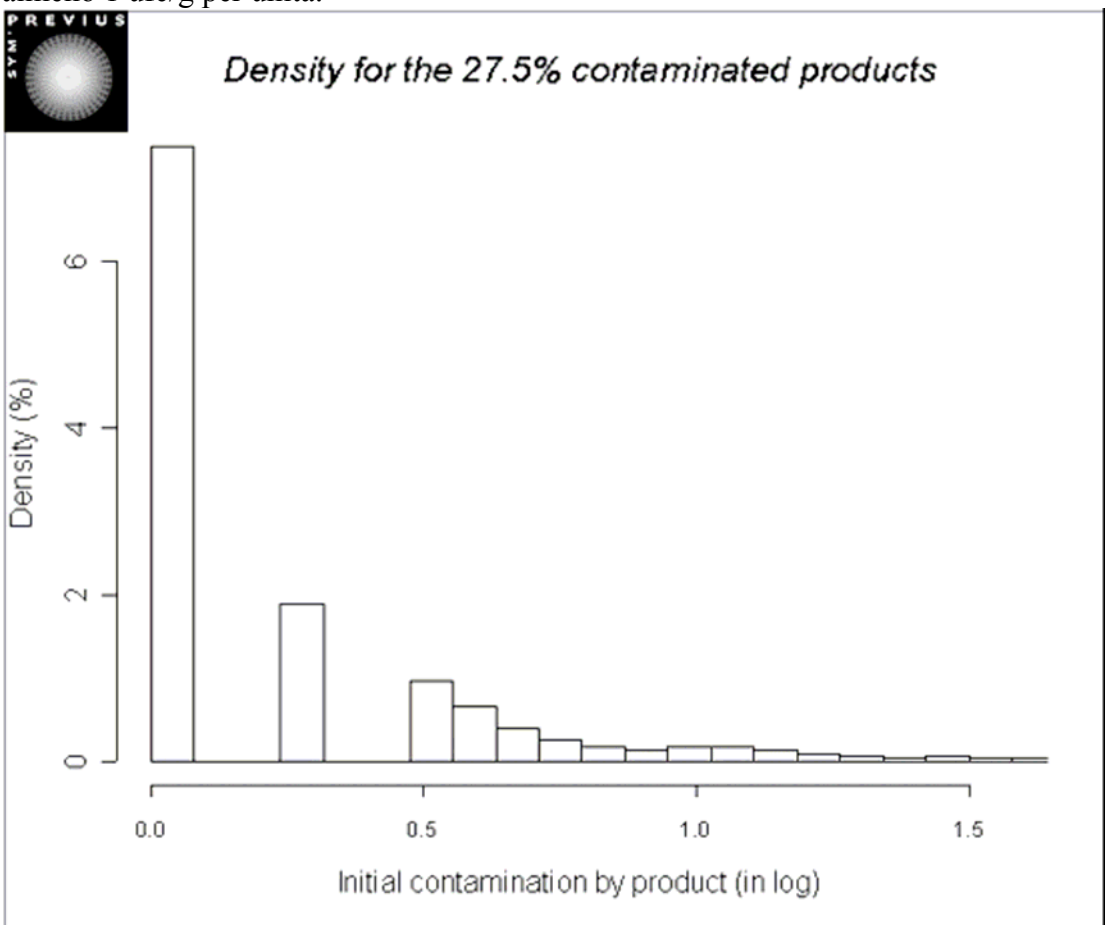

Figura 5. Valutazione della distribuzione della contaminazione iniziale dei prodotti alimentari

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

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

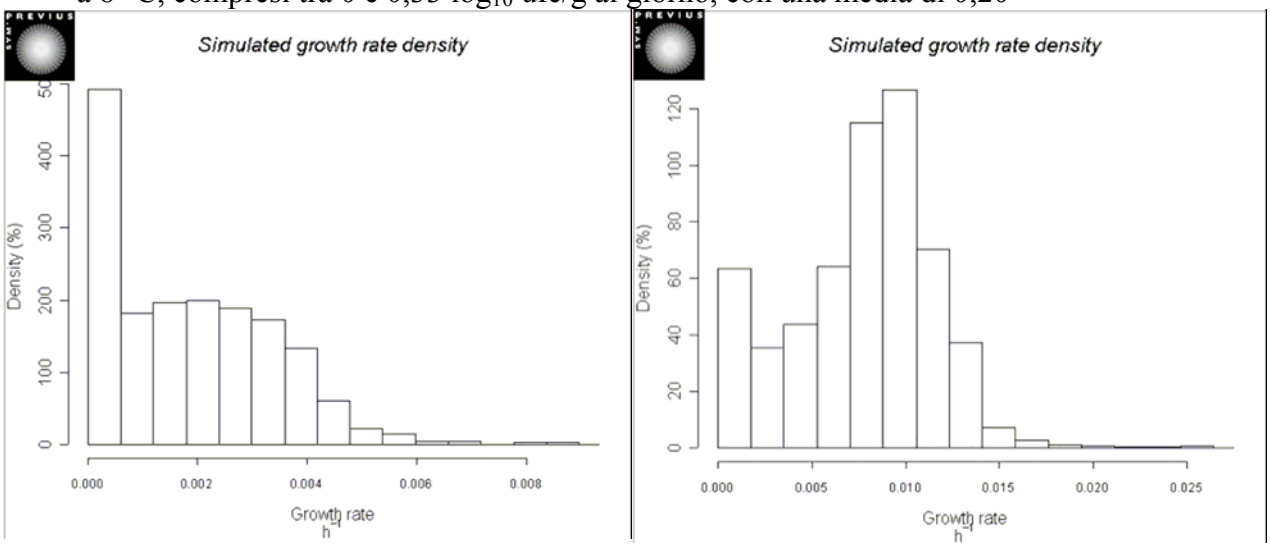

Figura 6. Variabilità della fase di crescita ($\log_{10}$ ufc/g) a 4°C (a sinistra) e a 8°C (a destra)

La fase di latenza è tra gli 11 e più di 200 giorni a 4 °C con una media di 45 giorni. La fase di latenza residua a 8 °C sarà compresa tra 0,4 e più di 1000 giorni, con una media di 6,6 giorni.

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

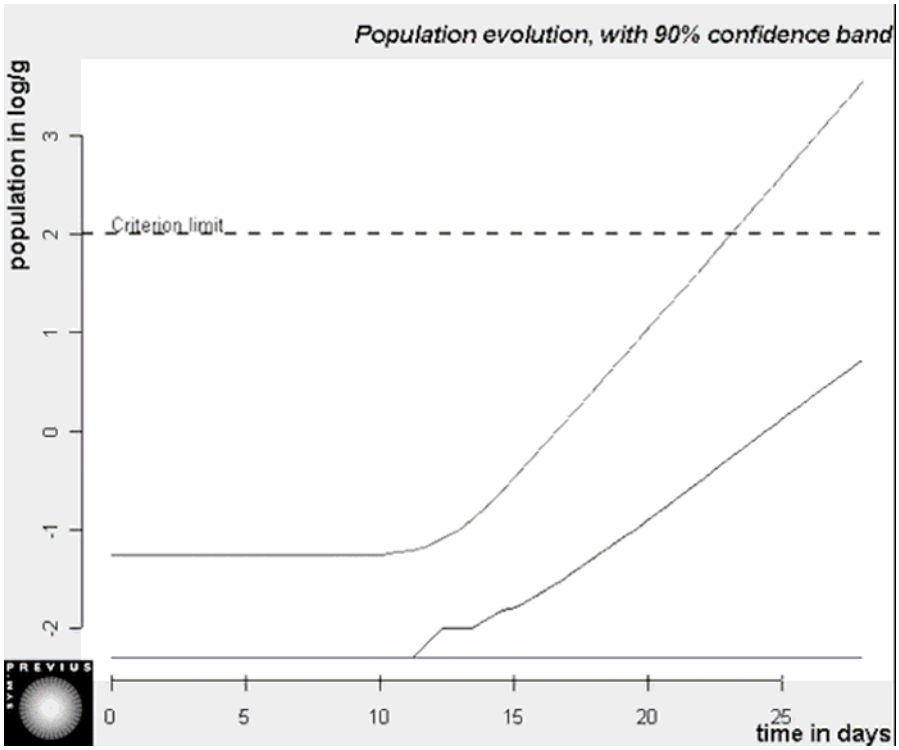

Figura 7. Simulazione di crescita con intervallo di confidenza (curva superiore e linee rette inferiori), comprendendo la variabilità inerente al microrganismo, ai fattori fisico-chimici e alla contaminazione iniziale.

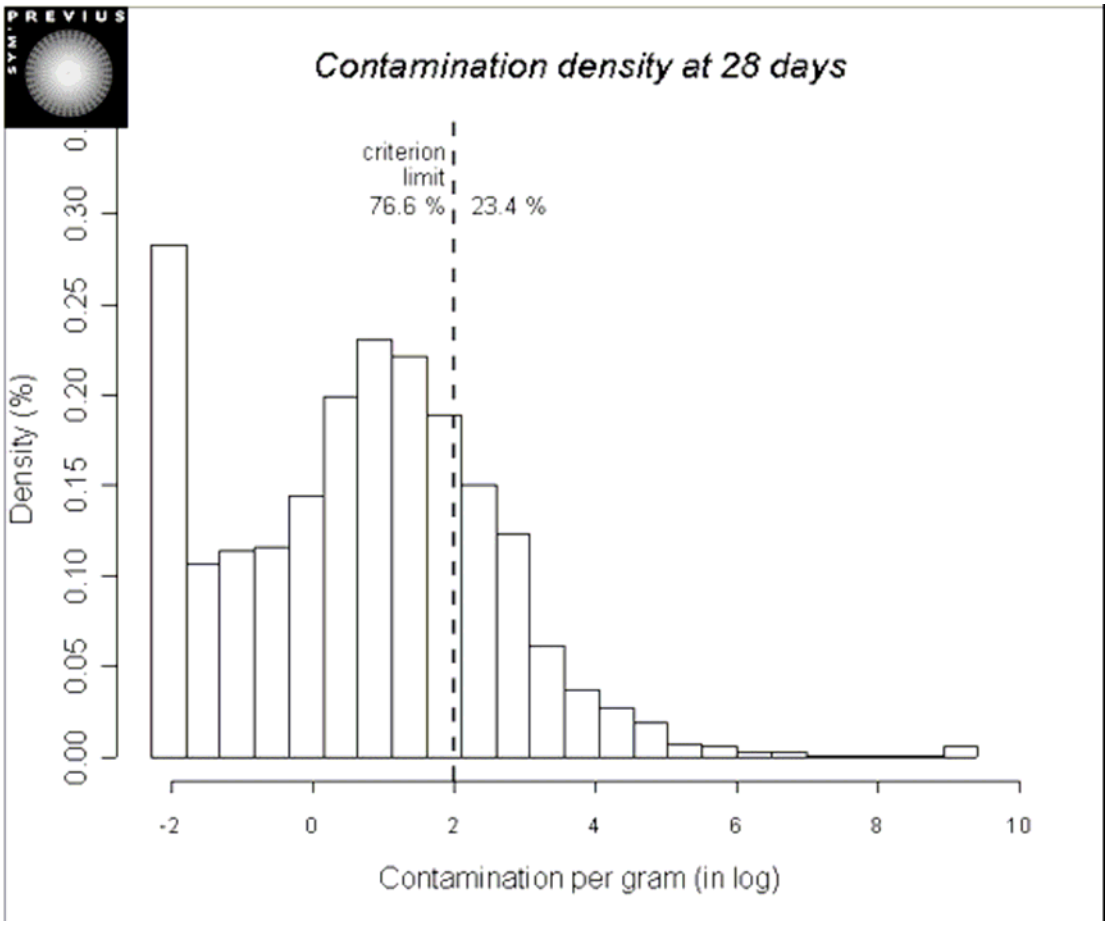

Figura 8. Distribuzione della popolazione a 28 giorni, comprendendo la variabilità inerente al microrganismo, ai fattori chimico fisici e alla contaminazione iniziale

Questi dati permettono di calcolare che il 23,4% delle unità da 200 gr contaminate supereranno il limite di 100 ufc/g, es. il 6,4% del totale delle unità prodotte.

3. vita commerciale di 21 giorni con 1/3 a 4 °C e 2/3 a 8 °C

Approccio al singolo caso

Massima temperatura di stoccaggio: 7 giorni a 4 °C seguiti da 14 giorni a 8 °C.

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

Concentrazione finale:

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

Approccio basato sul rischio

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

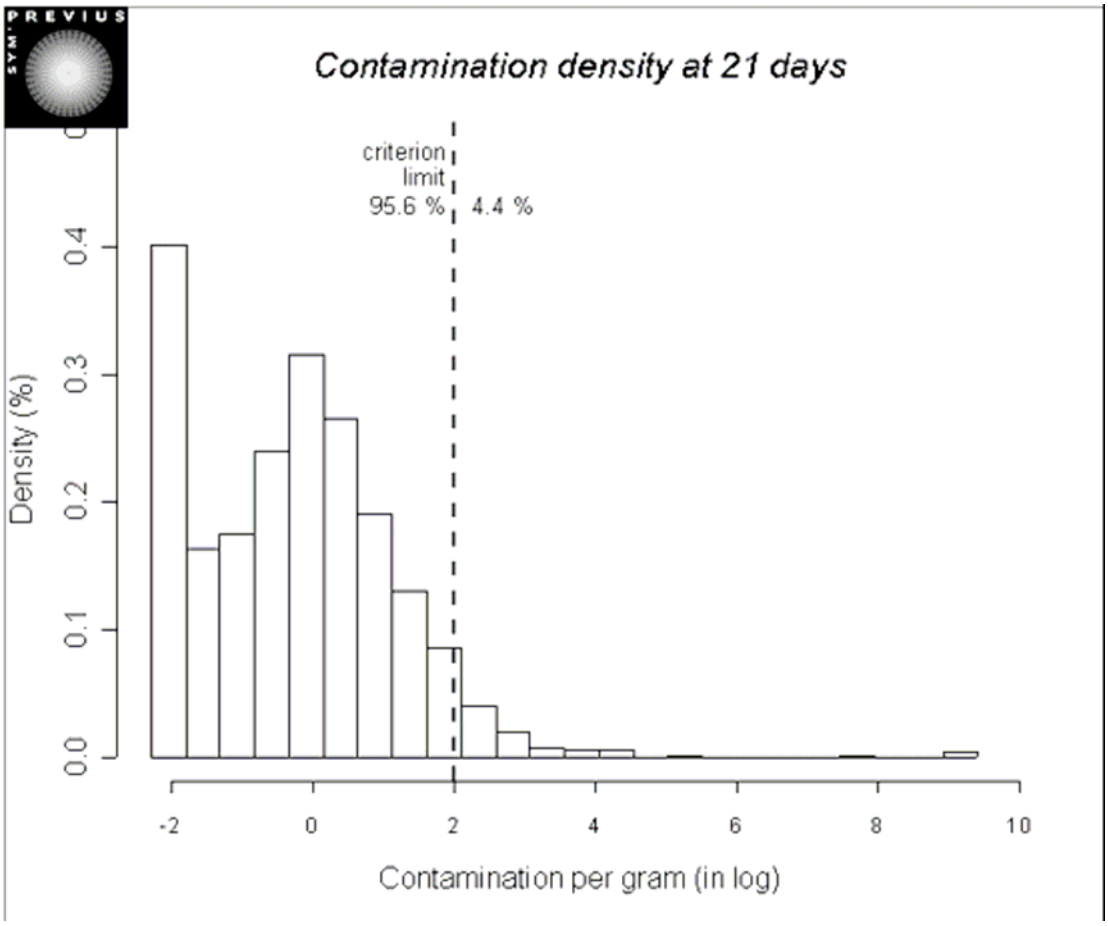

Figura 9. Distribuzione della popolazione a 21 giorni, comprendendo la variabilità inerente il microrganismo, i fattori fisico-chimici e la contaminazione iniziale.

L'attuazione di un approccio basato sul rischio come descritto nel capitolo 3.6, permette di calcolare che il 4,4% delle unità da 200 gr contaminate supererà il limite di 100 ufc/g, cioè l' 1,2% di tutte le unità prodotte.

5.5. Lista di riferimento per alcuni documenti guida

Nota: questa lista è solo di esempio, possono esistere altri documenti pertinenti e l'OSA è pertanto consigliato di cercare questi documenti (inclusi gli aggiornamenti).

Documenti guida esistenti a livello nazionale o industriale

- Evaluation of Product Shelf-life for Chilled Foods, Guideline No. 46, Campden and Chorleywood Food Research Association (CCFRA, 2004),UK.

Questo documento è stato sviluppato in collaborazione con gli esperti del settore. Esso è inteso come traccia di valutazione della vita commerciale di alimenti refrigerati e comprende un protocollo di prove standardizzato. Questo approccio è stato ampiamente adottato dalle imprese alimentari del Regno Unito in combinazione con i rigorosi programmi di controllo basati su GMP, GHP e attuazione delle procedure basate sull'HACCP. Essa è incentrata su prove sul giorno di produzione e alla fine della vita commerciale (studi di conservabilità) per verificare la vita commerciale e la conformità con i criteri per *Listeria monocytogenes.*

Altri documenti guida nazionali o industriali si basano generalmente su uno o altri di questi documenti:

- Aide à la maîtrise de l'hygiène alimentaire des plats préparés réfrigérés, Alésial services, ISBN 2-9509242-0-4, (1995), France.
- Best Practice Guidelines for the Production of Chilled Food, Fourth Edition, Chilled Food Association, CFA, (2005), UK.
- Determination of Product shelf-life, Guidance Note No. 18, Food Safety Authority of Ireland, FSAI, (2005), Eire.
- GBPH "Produits traiteurs", Syndicat National des Fabricants de Plats Préparés Frais, SYNAFAP, (2008), France.
- Guide to calculating the vita commerciale of foods, Food Safety Authority of New Zealand, NZFSA, http://www.nzfsa.govt.nz/processed-food-retail-sale/shelf-life/shelflife1-2-2.pdf, (2005). New Zealand.
- Protocol for the implementation of vita commerciale studies on *Listeria monocytogenes*, Food and Consumer Product Safety Authority, Voedsel en Waren Autoriteit, (2008), The Netherlands.
- Recommendations for the Production of Prepackaged Chilled Food, European Chilled Food Federation, ECFF, (2006).

Standard

Sono disponibili due documenti AFNOR. Questi sono standard francesi che danno indicazioni per lo svolgimento di studi al fine di determinare la vita commerciale microbiologica dei prodotti alimentari:

- Hygiène et sécurité des produits alimentaires - Lignes directrices pourl'élaboration d'un protocole de test de vieillissement pour la validation de ladurée de vie microbiologique - Denrées périssables, réfrigérées (Hygiene andsafety of foodstuffs: Guidelines for the design of durability studies protocolsfor the validation of a microbiological lifetime - Chilled perishable goods),NF V01-003 February 2004, Association française de Normalisation
  (AFNOR 2004), France.

Il documento NF V01-003 fornisce una metodologia per la progettazione di un protocollo di studio di conservabilità per la validazione della vita commerciale microbiologica di alimenti refrigerati deperibili. Questa vita commerciale è uno dei dati necessari per impostare il "da consumarsi entro" o il "da consumarsi preferibilmente entro". Indica i mezzi per determinare le condizioni di conservazione utilizzate per le prove (tenendo conto della reale distribuzione di temperatura).

- Hygiène et sécurité des produits alimentaires - Lignes directrices pour laréalisation des tests de croissance microbiologiques (Hygiene and safety offoodstuffs: Guidelines for the design of microbiological challenge tests), NFV01-009 September 2007, Association française de Normalisation (AFNOR 2007), France.

Il documento NF V01-009 descrive i protocolli di laboratorio per l'esecuzione dei challenge tests per valutare l'evoluzione di una flora batteriologica in alimenti contaminati artificialmente, al fine di valutare sia il potenziale di crescita o il tasso di crescita massimo.