

Orientamenti in materia di igiene per il controllo della *Listeria monocytogenes* nella produzione di ortaggi surgelati

Sintesi

Si raccomanda l'adozione di un approccio multidisciplinare per il controllo del patogeno ambientale *Listeria monocytogenes* nella produzione di ortaggi surgelati. Un sistema di gestione per la sicurezza alimentare, basato su programmi di prerequisiti (PRP, incentrati sull'igiene e sull'organizzazione dell'ambiente di produzione) e su un piano HACCP (incentrato sul controllo del processo), deve essere completamente incentrato sulla *Listeria monocytogenes* per evitare che l'organismo colonizzi il suo ambiente e persista in formazioni di biopellicola complesse o per prevenire la contaminazione con l'organismo dopo il trattamento (termico) durante l'ulteriore manipolazione prima dell'imballaggio. La figura 1 illustra i diversi PRP e il piano HACCP rilevanti per la prevenzione e il controllo della *Listeria monocytogenes*. L'ambiente deve essere controllato al fine di verificare l'efficacia dei PRP e del piano HACCP attuati così come di valutare il potenziale accumulo di *Listeria monocytogenes* nell'ambiente di produzione più ampio. Le specifiche per il prodotto finito devono infine aiutare gli operatori del settore alimentare a stabilire livelli intermedi di rischio di contaminazione da *L. monocytogenes*, nei prodotti finiti in presenza di un adeguato sistema di gestione per la sicurezza alimentare. La comunicazione e le informazioni sui rischi destinate agli utilizzatori di ortaggi surgelati devono indicare chiaramente l'uso corretto dei prodotti surgelati al fine di evitare potenziali errori. Oltre a queste attività tecnico-gestionali, un operatore del settore alimentare deve inoltre instaurare una cultura della sicurezza e sensibilizzare l'intera organizzazione produttiva e tutti i suoi aspetti alla prevenzione e al controllo dei rischi per la sicurezza alimentare e alle mancanze in materia di igiene. I presenti orientamenti riguardano gli ortaggi surgelati, sbianchiti o non sbianchiti, considerati non pronti al consumo. Anche gli operatori del settore alimentare che intendono commercializzare ortaggi surgelati come prodotti pronti al consumo ("prodotti pronti") possono utilmente ricorrere all'applicazione dei presenti orientamenti. Tali operatori dovrebbero tuttavia adottare ulteriori misure preventive e di controllo per garantire la sicurezza dei prodotti pronti, che tuttavia non sono trattate nei presenti orientamenti.

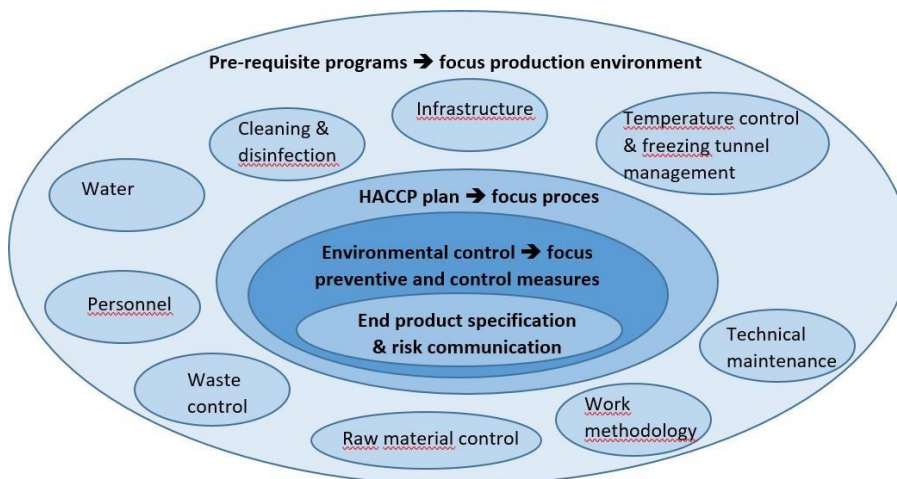


Figura 1. Schematizzazione di PRP (incentrati sull'ambiente di produzione più ampio), piano HACCP (incentrato sul processo di produzione e sulle diverse fasi di lavorazione), controllo ambientale (come verifica di misure preventive e di controllo attuate) e infine specifiche per il prodotto finito e comunicazione del rischio nei confronti degli utilizzatori (B2B e B2C) al fine di prevenire e controllare la potenziale contaminazione da *L. monocytogenes* nella produzione di ortaggi surgelati.

Ambito di applicazione

Gli orientamenti in materia d'igiene presentati nel presente documento, che includono un esempio di piano HACCP, sono riferiti alla produzione commerciale di ortaggi surgelati (sbianchiti o non sbianchito) conformemente alla legislazione applicabile dell'Unione europea. L'obiettivo è definire orientamenti europei applicabili alla produzione e alla gestione della sicurezza alimentare degli ortaggi surgelati, partendo dal ricevimento delle materie prime e terminando con i prodotti finiti imballati pronti per l'utilizzo nella fase successiva della filiera alimentare, B2B o B2C. Gli operatori del settore alimentare attivi nella produzione e/o nel commercio di ortaggi surgelati possono utilizzare il presente documento come punto di partenza per il proprio sistema di gestione per la sicurezza alimentare, l'elaborazione di buone pratiche, PRP e principi HACCP. L'attenzione è rivolta al controllo del pericolo costituito dalla *L. monocytogenes*. Nel presente documento non saranno trattati altri pericoli microbiologici pertinenti per queste attività o altri pericoli (ad esempio rischi chimici, fisici o allergeni). Oltre agli ortaggi surgelati, alcuni operatori del settore alimentare producono anche erbe e/o frutta surgelate; tuttavia tali prodotti non rientrano nell'ambito di applicazione dei presenti orientamenti, che riguardano gli ortaggi surgelati, sbianchiti o non sbianchiti, considerati prodotti non pronti al consumo. Anche gli operatori del settore alimentare che intendono commercializzare ortaggi surgelati come prodotti pronti al consumo ("prodotti pronti") possono utilmente ricorrere all'applicazione dei presenti orientamenti. Tali operatori dovrebbero tuttavia adottare ulteriori misure preventive e di controllo per garantire la sicurezza dei prodotti pronti, che tuttavia non sono trattate nei presenti orientamenti.

Normativa UE applicabile alla produzione di ortaggi surgelati

I requisiti generali di sicurezza alimentare, ivi incluso l'obbligo di immettere sul mercato soltanto alimenti sicuri, sono stabiliti dal regolamento (UE) n. 178/2002. La produzione in condizioni d'igiene di prodotti alimentari nell'UE è trattata dal regolamento (CE) n. 852/2004 e in particolare dall'allegato II. I presenti orientamenti forniscono esempi pratici destinati a integrare tali disposizioni generali. Per la presente guida è rispettato l'articolo 9 del regolamento (CE) n. 852/2004 relativo ai manuali comunitari. La comunicazione della Commissione sui sistemi di gestione per la sicurezza alimentare (2016/C 278/01) è applicata come base per l'elaborazione di buone pratiche, PRP e principi HACCP. I criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari sono disciplinati dal regolamento (CE) n. 2073/2005. Tutti i documenti giuridici pertinenti sono elencati nell'allegato I.

Altri documenti pertinenti

Altri orientamenti sono disponibili nelle pubblicazioni pertinenti del Codex Alimentarius, nei pareri dell'EFSA, nelle prassi igieniche generali elaborate da diverse autorità nazionali, in articoli e libri scientifici (elencati nell'allegato II).

Consultazione dei pertinenti portatori di interessi

Nel definire gli orientamenti, sono state organizzate consultazioni con gruppi di portatori di interessi: a) Copa Cogeca (produzione primaria); b) Hotrec (attività di ristorazione) e FoodServiceEurope (servizi di ristorazione collettiva); c) ChilledFOODAssociation (trasformatori di pasti pronti), FoodDrinkEurope (industria di trasformazione), FRUCOM (importatori di prodotti ortofrutticoli), CULINARIA (salse, spezie ed erbe), FRESHFEL (prodotti ortofrutticoli freschi compresi i prodotti tagliati freschi di IV gamma); d) EuroCommerce (organizzazioni di commercianti al dettaglio); ed e) BEUC (organizzazione di consumatori).

CLAUSOLA DI ESCLUSIONE DELLA RESPONSABILITÀ

I presenti orientamenti costituiscono una raccomandazione priva di valore giuridico vincolante. Sono stati redatti per finalità puramente informative. PROFEL non garantisce l'accuratezza delle informazioni fornite, né si assume alcuna responsabilità dell'uso che potrebbe esserne fatto. Gli utilizzatori devono quindi assumere tutte le necessarie precauzioni prima di far uso delle presenti informazioni, di cui si avvalgono esclusivamente a proprio rischio. L'obbligo di far rispettare la normativa europea in materia di sicurezza alimentare spetta alla Commissione europea e alle autorità competenti degli Stati membri dell'UE. Gli operatori del settore alimentare attivi nella produzione e/o nel commercio di ortaggi surgelati sono invitati a contattare la propria autorità competente per ottenere informazioni complete in merito alle prescrizioni di legge in vigore nel loro Stato membro UE di stabilimento.

Indice

1. Introduzione

1.1. Profilo del settore industriale

In Europa gli ortaggi surgelati sono prodotti da più o meno 145 imprese, tra le quali si annoverano grandi imprese multinazionali che producono in diversi Stati membri così come numerose piccole e medie imprese (PMI). PROFEL (*European Association of Fruit and Vegetable Processing Industries*), l'Associazione europea delle industrie di trasformazione dei prodotti ortofrutticoli, e in una certa misura l'AETMD, (*Association européenne des transformateurs de maïs doux*), l'Associazione europea di trasformatori di granturco dolce, sono le uniche organizzazioni che rappresentano il settore degli ortaggi surgelati. I loro membri sono tanto PMI quanto multinazionali, che impiegano più di 80 000 dipendenti. Il fatturato annuo complessivo dei soci PROFEL ammonta a circa 22 miliardi di EUR, con una produzione di quasi 5,5 milioni di tonnellate soltanto per il settore degli ortaggi (in scatola e surgelati). La produzione annua dei soli ortaggi surgelati* nell'UE è stimata a 4 milioni di tonnellate. Esistono circa 180 siti di produzione in 18 Stati membri dell'UE. L'affiliazione a PROFEL avviene principalmente attraverso le sue associazioni nazionali. Non tutti i paesi dispongono di associazioni nazionali nel settore degli ortaggi surgelati e alcune imprese si sono associate direttamente. Sebbene non esistano dati ufficiali, le associazioni nazionali stimano che i soci PROFEL rappresentino l'80 % della produzione UE di ortaggi surgelati.

* escludendo patate, pomodori ma includendo il granturco dolce surgelato.

1.2. Profilo dei prodotti

I gruppi di prodotti considerati sono ortaggi surgelati, compresi ortaggi a radice e a tubero, ortaggi a bulbo, ortaggi a frutto, cavoli, ortaggi a foglia, fiori commestibili, legumi e ortaggi a fusto. La frutta e le erbe sono escluse dai presenti orientamenti.

Gli ortaggi surgelati trattati possono essere sbianchiti o non sbianchiti e possono essere surgelati individualmente nel qual caso il prodotto è libero/sfuso l'uno rispetto all'altro oppure surgelati in blocchi. Tali ortaggi sono imballati in confezioni alla rinfusa per il mercato B2B e per l'ulteriore trasformazione successiva nella catena alimentare (ad esempio, la ristorazione collettiva, la produzione di pasti pronti al consumo) oppure in confezioni di piccole dimensioni destinati ai consumatori per i mercati B2C. I prodotti possono essere commercializzati come singolo prodotto o un prodotto misto con altri ortaggi surgelati oppure associati ad altri prodotti alimentari quali riso, pasta, salsa, pesce o carne surgelato/a.

1.3. *Listeria monocytogenes*

Sebbene sia ancora considerato un patogeno zoonotico, la *L. monocytogenes* è ampiamente diffusa in natura e negli ambienti di trasformazione di alimenti. È stata isolata nel suolo, nella vegetazione, nelle acque reflue, nell'acqua, nei mangimi e nelle feci di animali sani, compresi gli esseri umani. Può entrare in contesti di trasformazione di alimenti attraverso le materie prime in entrata e la circolazione di personale e attrezzature. La *L. monocytogenes* è in grado di colonizzare, sotto forma di biopellicole, le attrezzature per la trasformazione di alimenti e le superfici a contatto (o non a contatto) con gli alimenti. Procedure inadeguate di pulizia e disinfezione possono comportare la persistenza prolungata del batterio negli ambienti di trasformazione di alimenti. La *L. monocytogenes* è stata isolata in una varietà di alimenti quali carne fresca e surgelata, prodotti a base di carne cotta, pesce affumicato, latte non pastorizzato, formaggio (a pasta molle), gelato, insalate, verdure fresche o soggette a una trasformazione minima, ecc. (Uyttendaele et al., 2018; EFSA e CEPCM 2018). La *L. monocytogenes* è un batterio Gram-positivo asporigeno, a forma di bastoncino (0,5 µm di larghezza e 1-2 µm di lunghezza), aerobio-anaerobio facoltativo. Sebbene il suo intervallo di temperatura ottimale sia compreso tra 30 °C a 37 °C, è in grado di crescere in un ampio intervallo di temperatura (tra 1 °C e 45 °C); trattandosi di un batterio psicrofilo, può sopravvivere e persino crescere a temperature di refrigerazione. È un organismo particolarmente resistente alle sollecitazioni ambientali ed è in grado di sopravvivere o moltiplicarsi in un'ampia gamma di condizioni sfavorevoli di pH (tra 4,6 e 9,4 - ottimale: 7,0) e a_w (minimo 0,92) sebbene sia possibile conseguire una riduzione di 6 log mediante la pastorizzazione (2' a 70 °C) o qualsiasi altro trattamento

termico equivalente (Uyttendaele et al., 2018).

La specie *L. monocytogenes* è suddivisa in 13 sierotipi basati su antigeni somatici e flagellari. Dal 2005 tali sierotipi sono sostituiti da cinque sierogruppi genetici determinati mediante PCR: IIa (sierotipi 1/2a e 3a), IIb (sierotipi 1/2b e 3b), IIc (sierotipi 1/2c e 3c), IVb (sierotipi 4b, 4d e 4e) e L (altri sierotipi). Di questi, l'IVb seguito da IIa e IIb sono i sierogruppi genetici più frequentemente implicati nei casi umani (EURL-*L. monocytogenes*, 2019). Negli ultimi anni è stato dimostrato che la sottotipizzazione basata sul sequenziamento dell'intero genoma (WGS) può fornire un'ulteriore sostanziale discriminazione e può pertanto essere utile alle indagini sui focolai epidemici. All'interno dell'UE, la listeriosi è una delle malattie prioritarie per le quali nel 2018 è stata avviata la sorveglianza rafforzata WGS a livello sovranazionale (Van Walle et al., 2018).

La *L. monocytogenes* è l'unica specie di *Listeria* patogena per l'uomo ed è l'agente eziologico della listeriosi (McLauchlin et al., 2004). L'infezione da *L. monocytogenes* può provocare due tipi di malattie umane: la forma non invasiva di listeriosi colpisce il sistema digerente e provoca sintomi quali febbre, dolori muscolari e talvolta sintomi gastrointestinali (nausea o diarrea), mentre la listeriosi invasiva più grave è associata a manifestazioni cliniche quali infezione del sistema nervoso centrale, sepsi e batteriemia. A motivo dell'invasività della *L. monocytogenes*, i decessi per listeriosi sono associati in particolare a popolazioni a rischio elevato, ad esempio persone che presentano un sistema immunitario compromesso quali persone con neoplasie ematologiche (ad esempio leucemia), persone che soffrono di cancro al fegato, anziani (> 74 anni di età), donne in gravidanza e neonati (Buchanan et al., 2017; McLauchlin et al., 2004).

Nel periodo dal 2015 al giugno 2018, un focolaio di infezioni invasive da *L. monocytogenes* confermato dal sequenziamento dell'intero genoma come sierogruppo IVb, ST6 (tipo di sequenza 6) e collegato al granturco surgelato e possibilmente ad altri ortaggi surgelati è stato segnalato in cinque Stati membri dell'UE (Danimarca, Austria, Finlandia, Svezia e Regno Unito): sono stati segnalati 47 casi e l'infezione è stata causa o concausa del decesso di nove pazienti (tasso di mortalità del 19 %). L'ST6 della *L. monocytogenes* è un clone ipervirulento di *L. monocytogenes* associato a forme neurologiche di listeriosi (EFSA, 2018a). Tuttavia, nonostante la variabilità osservata nel loro potenziale di virulenza, pressoché qualsiasi ceppo di *L. monocytogenes* ha la capacità di provocare listeriosi umana a motivo della complessa interazione tra il patogeno, gli alimenti e l'ospite. Per la prima volta un focolaio di listeriosi nell'UE è stato collegato legato a ortaggi surgelati (EFSA, 2018a) e tale circostanza ha determinato l'avvio della stesura del presente documento di orientamento.

1.4. Definizioni

Misurazione dell'ATP: i dispositivi di rilevamento dell'adenosina trifosfato (ATP - *adenosine triphosphate*) utilizzano la bioluminescenza per indicare il livello residuo di ATP presente sulle superfici sottoposte a tampone (Turner, 2010).

B2B: *business to business* (da impresa a impresa), riferito a ortaggi surgelati confezionati per la trasformazione successiva presso industrie alimentari o nel contesto di attività di ristorazione collettiva.

B2C: *business to consumer* (da impresa a consumatore), riferito a ortaggi surgelati confezionati per il consumatore finale (distribuiti tramite rivenditori al dettaglio in imballaggi di piccole dimensioni).

Biopellicola: struttura tridimensionale contenente un numero elevato di microrganismi che aderiscono alla superficie mediante organelli e sostanze escrete (ad esempio sostanze polimeriche extracellulari come le glicoproteine) (Devlieghere et al., 2013).

Sbianchitura: processo termico generalmente applicato a un prodotto alimentare al fine di inattivare enzimi e/o fissare il colore del prodotto (CAC, 1976).

CCP (Punto critico di controllo): una fase in cui può essere esercitato il controllo e che è essenziale per prevenire, eliminare o ridurre a un livello accettabile (1) un pericolo per la sicurezza dell'alimento. I CCP più comuni per il controllo dei pericoli microbiologici sono i requisiti di temperatura, ad esempio la temperatura di magazzinaggio o di trasporto, le condizioni tempo/temperatura per ridurre o eliminare un rischio (ad esempio la pastorizzazione). Altri CCP possono comprendere la verifica che gli imballaggi siano puliti e non danneggiati, la verifica della presenza di pericoli fisici attraverso la setacciatura o la rilevazione di metalli o la verifica della combinazione tempo/temperatura dell'olio di frittura per evitare contaminanti

chimici derivanti dal processo di produzione (comunicazione della Commissione 2016/C 278/01).

Acqua pulita: "acqua che non pregiudica la sicurezza alimentare nelle circostanze in cui viene impiegata". Si tratta di acqua di mare (acqua di mare o salmastra naturale, artificiale o depurata che non contiene microrganismi, sostanze nocive o plancton marino tossico in quantità tali da incidere direttamente o indirettamente sulla qualità sanitaria degli alimenti) e acqua dolce di qualità analoga (regolamento (CE) n. 852/2004; comunicazione della Commissione 2017/C 163/01).

Detergente: prodotto (chimico) utilizzato per la pulizia di superfici (rimozione di materiali organici da superfici) (Devlieghere et al., 2013).

EURL: laboratorio di riferimento dell'Unione europea.

OSA - operatore del settore alimentare: la persona fisica o giuridica responsabile di garantire il rispetto delle disposizioni della legislazione alimentare nell'impresa alimentare posta sotto il suo controllo (regolamento (CE) n. 178/2002).

FSMS - sistema di gestione (o di controllo) per la sicurezza alimentare (FSMS, *Food Safety Management System*): la combinazione di PRP come misure di controllo preventive; la tracciabilità, il richiamo e la comunicazione come attività di preparazione e il piano HACCP che definisce i CCP e/o i PRP operativi come misure di controllo collegate al processo di produzione. Un FSMS è anche una combinazione di misure di controllo e di attività di garanzia. Queste ultime sono volte a dimostrare che le misure di controllo, quali la convalida e la verifica, la documentazione e la tenuta delle registrazioni, funzionano adeguatamente (comunicazione della Commissione 2016/C 278/01).

GHP (corrette prassi igieniche) e GMP (buone prassi di fabbricazione): un pacchetto di prassi e di condizioni di prevenzione volte a garantire la sicurezza degli alimenti prodotti. Le GHP sottolineano principalmente la necessità di procedure che garantiscano l'igiene mentre le GMP si concentrano sulle metodologie di lavoro corrette (comunicazione della Commissione 2016/C 278/01).

Procedure basate sul sistema HACCP o "HACCP": procedure basate sull'analisi dei pericoli e punti critici di controllo (HACCP), ossia un sistema di autocontrollo che identifica, valuta e controlla i pericoli significativi per la sicurezza alimentare, in linea con i principi del sistema HACCP (comunicazione della Commissione 2016/C 278/01).

Piano HACCP: un documento, eventualmente in formato elettronico, che fornisce una descrizione completa delle procedure basate sul sistema HACCP. Il piano HACCP iniziale è aggiornato in caso di modifiche della produzione e va integrato con le registrazioni dei risultati della sorveglianza e della verifica e con le azioni correttive adottate (comunicazione della Commissione 2016/C 278/01).

Pericolo o elemento di pericolo: agente biologico, chimico o fisico contenuto in un alimento o mangime, o condizione in cui un alimento o un mangime si trova, in grado di provocare un effetto nocivo sulla salute (regolamento (CE) n. 178/2002, comunicazione della Commissione 2016/C 278/01).

HVAC: sistema di riscaldamento, ventilazione e condizionamento dell'aria.

IQF (= surgelati individualmente): alimenti surgelati nei quali il prodotto è libero/sfuso l'uno rispetto all'altro (CAC, 1976).

Nicchia: ciò che descrive l'ecologia di una specie, che può significare il suo habitat, il suo ruolo nell'ecosistema, ecc. (Pocheville, 2015)

NRL: laboratorio nazionale di riferimento.

PRP operativi (programmi operativi dei prerequisiti): punti nel processo di produzione in cui il rischio per la sicurezza alimentare è minore o in cui non esistono limiti misurabili. Tali punti possono essere controllati attraverso misure di controllo generali di base più elaborate previste dai PRP, ad esempio controlli più frequenti, registrazioni ecc. Grazie a un controllo regolare e all'adeguamento del processo/dei requisiti del prodotto, tali rischi possono essere considerati sotto controllo. Non è necessario adottare un'azione correttiva immediata nei confronti del prodotto (comunicazione della Commissione 2016/C 278/01).

Programmi di prerequisiti (PRP): prassi e condizioni di prevenzione necessarie prima e durante l'attuazione del sistema HACCP e che sono essenziali per la sicurezza alimentare. I PRP necessari dipendono dal segmento della filiera alimentare in cui opera l'impresa e dal tipo di settore. Esempi di termini equivalenti sono le buone pratiche agricole (*Good Agriculture Practice* - GAP), le buone pratiche veterinarie (*Good Veterinarian Practice* - GVP), le buone prassi di fabbricazione (*Good*

Manufacturing Practice - GMP), la corretta prassi igienica (*Good Hygiene Practice - GHP*), le buone pratiche di produzione (*Good Production Practice - GPP*), le buone pratiche nella distribuzione (*Good Distribution Practice - GDP*) e le buone pratiche di commercio (*Good Trading Practice - GTP*) (comunicazione della Commissione 2016/C 278/01).

Acqua riciclata: acqua che viene riutilizzata nel processo di produzione, con o senza trattamento dell'acqua (ad esempio filtrazione, disinfezione).

RTE (*ready-to-eat food*): alimenti pronti al consumo (regolamento (CE) n. 2073/2005): i prodotti alimentari destinati dal produttore o dal fabbricante al consumo umano diretto, senza che sia necessaria la cottura o altro trattamento per eliminare o ridurre a un livello accettabile i microrganismi presenti.

nRTE (*non ready-to-eat*): alimenti non pronti a consumo, ossia alimenti che, contrariamente agli alimenti pronti, sono destinati dal produttore ad essere cucinati o sottoposti ad ulteriori lavorazioni efficaci tanto per eliminare i microrganismi in questione quanto per ridurli a un livello accettabile.

Igienizzante/Disinfettante: prodotto che si applica per la disinfezione di superfici dopo la pulizia. Un biocida dovrebbe essere definito conformemente al regolamento (CE) n. 528/2012.

Surgelati (alimenti surgelati): prodotti alimentari (direttiva 89/108/CEE del Consiglio e CAC, 1976):

- che sono stati sottoposti ad un processo speciale di congelamento, detto "surgelamento", che permette di superare con la rapidità necessaria in funzione della natura del prodotto la zona di cristallizzazione massima del prodotto e di far sì che la temperatura del prodotto in tutti i suoi punti - dopo la stabilizzazione termica - sia mantenuta ininterrottamente a valori pari o inferiori a -18 °C; e
- che sono commercializzati in modo che risulti che hanno questa caratteristica.

2. Buone pratiche e programmi di prerequisiti (PRP)

I PRP sono elementi fondamentali importanti per la prevenzione e il controllo dell'igiene e della sicurezza alimentare nel quadro di un sistema di gestione per la sicurezza alimentare attuato presso gli operatori del settore alimentare. I PRP comprendono buone pratiche igieniche e di fabbricazione e tutte le misure adottate per prevenire la contaminazione o la germinazione da parte di microrganismi. I presenti orientamenti seguono la struttura della comunicazione della Commissione europea sui sistemi di gestione per la sicurezza alimentare (2016/C 278/01) e descrivono il ruolo di ciascun PRP nella prevenzione/nel controllo della *L. monocytogenes*. Tuttavia, dato che non tutti i 12 PRP elencati svolgono un ruolo in tale contesto, tre sono stati esclusi: PRP Lotta contro gli animali infestanti, PRP Allergeni, PRP Contaminazioni fisiche e chimiche derivanti dall'ambiente di produzione.

2.1. Pulizia e disinfezione

La pulizia e la disinfezione costituiscono un PRP importante nella prevenzione e nel controllo della *Listeria monocytogenes*. Gli operatori del settore alimentare devono disporre di un **piano per la pulizia e la disinfezione** in maniera da garantire che tutte le zone, tutti i macchinari e tutte le attrezzature pertinenti (a contatto diretto o indiretto con alimenti) dell'impianto vengano regolarmente puliti/disinfettati.

Il **piano di pulizia** comprende la zona, i macchinari/le attrezzature/i dispositivi (a contatto o meno con alimenti) da pulire, lo smontaggio di attrezzature, il metodo di pulizia (ad esempio pulizia a schiuma, pulizia con rimozione dal luogo di utilizzo, pulizia in loco), tipi e concentrazioni dei detergenti, tempo/temperatura (se pertinente) delle soluzioni detergenti, portata (velocità) o pressione della soluzione detergente (se pertinente) e frequenza con cui avviene la pulizia. Tale piano comprende altresì le zone individuate nelle quali potrebbero annidarsi umidità, condensa, muffe, sporcizia o batteri e descrive come evitare che ciò accada. In caso di pulizia con rimozione dal luogo di utilizzo, ad esempio per le vasche di lavaggio, le tubazioni, occorre prestare attenzione per evitare contaminazioni incrociate dopo lo smontaggio dei componenti delle attrezzature (ad esempio, non collocare le attrezzature direttamente sul pavimento o su altre superfici non pulite). Occorre evitare schizzi d'acqua provenienti da pavimenti o attrezzature sporche su attrezzature pulite. Di conseguenza è preferibile non utilizzare manicotti ad alta pressione durante la pulizia e la disinfezione.

Oltre alla pulizia, adeguate **attività di disinfezione** eviteranno ed elimineranno l'accumulo microbiologico e la formazione di biopellicole. Si raccomanda di disporre di un piano di disinfezione simile a quello per la pulizia. Per la disinfezione vengono applicati soltanto biocidi autorizzati secondo le specifiche tecniche dei fornitori (ad esempio concentrazione, pH dell'acqua, durezza dell'acqua, efficacia rispetto agli organismi bersaglio, necessità di risciacquo, uso consentito in un sistema di spruzzatura, ecc.). È stato segnalato che l'applicazione a rotazione di disinfettanti offre un'efficacia e una prevenzione più durature nei confronti della *L. monocytogenes* da nicchie e biopellicole. È possibile utilizzare acqua calda o vapore per igienizzare scaffalature o attrezzature di difficile accesso e difficili da pulire, compresi potenziali siti nei quali la *L. monocytogenes* si annida.

Nel caso in cui **si sospetti la presenza di una biopellicola**, saranno necessarie attività di pulizia e disinfezione specifiche per rimuoverla, dato che le attività di pulizia e disinfezione abituali non saranno appropriate in ragione della resistenza della biopellicola. Tuttavia, è più importante evitare la formazione di biopellicole ed effettuare un monitoraggio ambientale (cfr. parte 4) per rilevare precocemente qualsiasi contaminazione ambientale.

Occorre stabilire **la convalida dei piani di pulizia e disinfezione** (= per determinare se sono appropriati per rimuovere i residui di prodotti e i materiali organici così come per garantire una rimozione sufficiente dei batteri). Di conseguenza è necessario definire un campionamento ambientale intensivo delle zone pulite (ad esempio tramite misurazioni dell'ATP per valutare la rimozione o la presenza di materiali organici) e delle zone disinfettate per diversi gruppi bersaglio di batteri (ad esempio rimozione di batteri Gram negativi, Gram positivi, lieviti e/o muffe) al fine di valutare l'efficacia degli agenti disinfettanti applicati, la loro concentrazione, il tempo di contatto, ecc. Nel piano di pulizia e disinfezione, gli operatori del settore alimentare devono prendere in considerazione l'opportunità di seguire una **classificazione dei materiali a contatto con gli alimenti** e una frequenza correlata di pulizia e disinfezione (tabella 1).

Tabella 1. Esempio di classificazione di attrezzature e dispositivi nel contesto della frequenza di pulizia e disinfezione

Tipo	Descrizione	Esempi di ubicazioni
1	Superfici a contatto diretto con alimenti	Superfici interne di serbatoi, imballaggi e nastri trasportatori, tramogge, superfici interne di tubazioni.
2	Superfici non a contatto con alimenti in stretta prossimità di superfici a contatto con alimenti	Struttura di alloggiamento delle attrezzature, pavimenti o scarichi nelle immediate vicinanze di superfici a contatto con alimenti.
3	Superfici non a contatto con alimenti più remote che potrebbero eventualmente determinare una contaminazione	Carrelli elevatori, ruote di bidoni/dispositivi per la raccolta di rifiuti, lavasuole a disposizione del personale, pareti, pavimenti e scarichi non a contatto diretto con superfici a contatto con alimenti.
4	Superfici non a contatto con alimenti e zone distanti dall'ambiente di trasformazione	Disimpegni situati al di fuori della zona di produzione, zone nelle quali sono immagazzinate materie prime o prodotti finiti. Struttura di alloggiamento delle attrezzature, pareti, pavimenti o scarichi NON nelle immediate vicinanze di superfici a contatto con alimenti.

In linea di principio le ubicazioni di tipo 1 vengono pulite e disinfettate più di frequente rispetto ai tipi 2, 3 e 4 (tipo 1 > 2 > 3 e 4) e la frequenza può essere determinata anche in funzione del regime di igiene della zona nella quale sono ubicate/alla quale sono assegnati gli impianti e le attrezzature (cfr. parte 2.5 sulla suddivisione in zone funzionali). In linea di principio, le "zone sicure" richiedono una maggiore frequenza di pulizia/disinfezione rispetto a quelle soggette a un regime di livello igienico superiore e rispetto a quelle soggette a un regime di livello igienico inferiore. Occorre stabilire un elenco di tutte le possibili superfici a contatto con gli alimenti per ciascuna zona e definire la necessità di pulizia e disinfezione (frequenza).

Attrezzature e superfici a contatto DIRETTO con alimenti (tipo 1, tabella 1)

Le attrezzature e le superfici a contatto diretto con alimenti (ad esempio tunnel di congelamento, nastri trasportatori, vasche di lavaggio, pesatrici multiteste, macchine per l'imballaggio, superfici interne di serbatoi, tramogge, superfici interne di tubazioni) devono essere pulite e disinfettate accuratamente per evitare la contaminazione incrociata e la formazione di una biopellicola. Si dovrebbero prevedere interruzioni nelle linee

di produzione continue per consentire la pulizia e la disinfezione (ad esempio attrezzature di lavaggio/sbianchitura e tunnel di congelamento che funzionano x giorni consecutivi).

Attrezzature e superfici NON a contatto DIRETTO con prodotti alimentari (tipo 2 e 3, tabella 1)

Attrezzature e superfici che non sono direttamente a contatto con alimenti possono ospitare la *Listeria monocytogenes* e possono costituire una fonte di contaminazione incrociata tramite schizzi di acqua, aria, aerosol, materiali. Di conseguenza è necessario evitare l'accumulo di *Listeria monocytogenes* nell'intero ambiente industriale inteso nel suo senso più ampio. Attrezzature e superfici tipiche non a contatto diretto con alimenti sono: sistemi di ventilazione dell'aria, sistemi di tubazioni dell'acqua, scarichi delle acque reflue, dispositivi su ruote, ecc. Tali attrezzature e superfici sono sensibili all'accumulo di *Listeria monocytogenes* in ragione dell'elevato contenuto di umidità e spesso dell'assenza di temperature di refrigerazione nell'ambiente di produzione. Sulla base di informazioni specifiche per azienda circa il grado di accumulo potenziale di residui di prodotti, materiali organici, polvere e umidità nonché la potenziale contaminazione incrociata verso alimenti o superfici a contatto diretto con alimenti, così come sulla base della suddivisione in zone funzionali delle zone alle quali appartengono le attrezzature/gli impianti (cfr. parte 2.5), è necessario stabilire una frequenza di pulizia e disinfezione; di norma si raccomanda una frequenza di x volte al mese.

Pulizia e disinfezione periodiche (tipo 4, tabella 1)

Infrastrutture di dimensioni maggiori quali piattaforme, scale, soffitti, tubazioni, ecc. che non sono a contatto diretto con prodotti alimentari o altri materiali destinati a entrare in contatto con alimenti necessitano di pulizia e disinfezione periodiche per evitare l'accumulo di polveri, residui di prodotti e materiali organici così come per mantenere l'ambiente di produzione e di magazzinaggio in buone condizioni. Particolare attenzione nel controllo della *Listeria monocytogenes* deve essere prestata agli scarichi a pavimento al fine di prevenire la contaminazione dallo scarico ad altre superfici del locale. Di conseguenza non vanno utilizzati manicotti ad alta pressione per la pulizia di scarichi durante la trasformazione di alimenti, al fine di evitare la formazione di aerosol; occorre dedicare specificamente determinati strumenti alla pulizia degli scarichi ed evitare di pulire questi ultimi durante i periodi di produzione. È necessario disporre di un piano di pulizia periodica (x volte ogni x anni) destinato a organizzare tale pulizia periodica per ciascuna zona.

Avviamento di attrezzature dopo un periodo di fermo (= pulizia preoperativa)

La produzione di ortaggi surgelati è altamente stagionale. Diversi dispositivi e attrezzature sono utilizzati per la trasformazione di un prodotto specifico e durante il resto dell'anno (fuori stagione) vengono immagazzinati (ad esempio sistemi di rimozione di insetti per gli ortaggi a foglia verde, macchine per il taglio). Prima di utilizzare nuovamente tali attrezzature/dispositivi occorre effettuare una pulizia e una disinfezione approfondite per evitare contaminazioni incrociate. L'operatore del settore alimentare deve comprendere una pulizia preoperativa nella pianificazione della pulizia e della disinfezione.

Manutenzione di utensili e attrezzature per la pulizia e la disinfezione

Anche gli strumenti (ad esempio spazzole, stracci, tubi per la distribuzione dell'acqua) e le attrezzature (ad esempio idropulitrici, spazzatrici) per la pulizia e la disinfezione necessitano di manutenzione e pulizia per evitare contaminazioni incrociate. Si raccomanda di tenere manicotti e ugelli lontani dai pavimenti o da altre superfici sporche quando non sono in uso. I dispositivi per la pulizia di stivali o le stazioni per la disinfezione di calzature devono essere svuotati, puliti e rabboccati almeno una volta al giorno per evitare la formazione di nicchie. È necessario destinare gli utensili per la pulizia e la disinfezione a zone specifiche (ad esempio mediante una codifica a colori).

Personale addetto alla sanificazione

Il personale coinvolto in attività di sanificazione dovrebbe essere dedicato a tali attività, dotato di guanti protettivi, abbigliamento, calzature e occhiali protettivi specifici diversi da quelli utilizzati durante le normali attività di produzione. Dovrebbe trattarsi di personale formato in materia di sanificazione, nonché nell'applicazione dei prodotti chimici per le loro stazioni di pulizia. Il personale che manipola spazzatura, materiali spazzati da pavimenti, scarichi e i rifiuti di produzione non dovrebbe manipolare prodotti alimentari o venire a contatto con superfici a contatto con alimenti o con materiali di imballaggio, fatto salvo il caso in cui

prima si cambi la casacca/l'uniforme, si lavi e sanifichi le mani e sanifichi le proprie calzature presso una stazione per la loro disinfezione o meglio utilizzando dispositivi per la pulizia di stivali.

Verifica della pulizia e della disinfezione

Dopo le attività di pulizia e disinfezione di un tipo di superficie e attrezzatura, si raccomanda di far effettuare un **controllo visivo** accurato da parte di una persona diversa da quella responsabile delle attività stesse di pulizia e disinfezione. Tale controllo visivo può rientrare in un controllo di avviamento per il rilascio dell'autorizzazione al funzionamento per le linee di produzione. Qualora si rilevi una contaminazione organica visiva, occorre effettuare nuovamente la pulizia e la disinfezione prima di poter avviare il funzionamento. I punti e le ubicazioni più difficili da raggiungere devono essere inclusi in tale controllo visivo.

Occorre effettuare regolarmente il **campionamento microbiologico delle superfici a contatto** così come l'analisi per la conta della carica batterica al fine di verificare se le attività di pulizia e disinfezione continuano ad essere efficaci e sono condotte in modo corretto. Si possono utilizzare misurazioni dell'ATP o altri metodi di screening rapido, così come il rilascio dell'autorizzazione per un'attrezzatura di produzione dopo la pulizia e la disinfezione. Tuttavia tale verifica della pulizia e della disinfezione non può sostituire lo screening ambientale per la *L. monocytogenes* (cfr. ulteriore parte 4).

2.2. Acqua: fonti, qualità e rete di distribuzione dell'acqua

Nella produzione di ortaggi surgelati si utilizzano ingenti volumi d'acqua. L'acqua (in termini di disponibilità e di qualità) è sempre più soggetta a pressioni, di conseguenza gli operatori del settore alimentare devono prestare attenzione affinché il riutilizzo interno dell'acqua non costituisca una fonte di contaminazione incrociata con *L. monocytogenes* in relazione ai prodotti alimentari. Gli operatori del settore alimentare devono affrontare i seguenti punti per gestire l'acqua e la sua potenziale contaminazione con *Listeria monocytogenes* nei prodotti alimentari:

- a) individuare fonti potenziali di acqua (ad esempio acqua di rubinetto, acqua piovana, acqua sotterranea, acqua riciclata trattata);
- b) individuare la qualità dell'acqua disponibile mediante analisi (parametri microbiologici e chimici → l'acqua soddisfa le prescrizioni per essere acqua potabile, acqua pulita, acqua non potabile?);
- c) individuare l'utilizzo potenziale di acqua riciclata/riutilizzata (ad esempio riutilizzo dell'acqua di raffreddamento dopo la sbianchitura come acqua di lavaggio) in alcune fasi di produzione → occorre effettuare una valutazione attenta per evitare la contaminazione incrociata in questa situazione;
- d) individuare la necessità di disinfezione dell'acqua (sulla base di metodi fisici quali raggi UV, osmosi inversa o disinfezione chimica mediante l'applicazione di biocidi autorizzati quali cloro, acido peracetico, ClO₂) in caso di acqua riciclata, acqua piovana, acqua di drenaggio e/o acqua di scarico per migliorarne la qualità;
- e) controllare e convalidare le tecniche di disinfezione dell'acqua applicate (monitoraggio quotidiano, controllo dei residui chimici in caso di disinfezione chimica dell'acqua);
- f) prevedere la manutenzione di serbatoi di magazzinaggio, sistemi di tubazioni, sistemi di filtrazione utilizzati nella distribuzione dell'acqua per evitare la formazione di biopellicola e la potenziale presenza di *L. monocytogenes* → includere anche parti del sistema di distribuzione dell'acqua nel campionamento ambientale (come esaminato al punto in 4.1);
- g) evitare la contaminazione incrociata tra acque di drenaggio/acque reflue ed altre fonti di acqua nella produzione;
- h) evitare la stagnazione dell'acqua nelle macchine, nei manicotti e nelle tubazioni e sui pavimenti;
- i) prevenire l'accumulo di acqua stagnante all'interno e nei pressi di scarichi;
- j) evitare che gocce e condensa da strutture, condotte e tubazioni contaminino alimenti, superfici a contatto con alimenti o materiale da imballaggio per alimenti;
- k) accertarsi che l'acqua applicata su superfici di vetro sia della qualità dell'acqua potabile.

Occorre predisporre un **piano di gestione dell'acqua** che comprenda tutti questi elementi. È necessario preparare un **piano analitico** appropriato per verificare la qualità dell'acqua applicata sulla base dei risultati dei test microbiologici e chimici, tenendo conto delle prescrizioni europee, nazionali o regionali stabilite dalle autorità competenti. Il parere dell'EFSA in merito al rischio di *Listeria monocytogenes* in questo tipo di

produzione identifica come un'importante fonte di contaminazione anche l'acqua utilizzata durante il lavaggio, il raffreddamento, ecc. (ulteriori letture in EFSA, 2020).

2.3. Controllo della temperatura dell'ambiente di produzione e magazzinaggio compresa la gestione di tunnel di congelamento

Controllo della temperatura dell'ambiente di produzione e magazzinaggio

La *L. monocytogenes* è un patogeno ambientale resistente al freddo ed è in grado di proliferare anche a temperature di 0 °C. In condizioni di freddo, il suo tasso di crescita rallenta, di conseguenza il mantenimento di una catena del freddo eviterà la crescita (rapida) dell'agente patogeno. Di norma, in un ambiente di produzione di ortaggi surgelati, non tutte le zone sono soggette a condizioni di temperatura controllata. Come indicato nella sezione 2.1 (pulizia e disinfezione), tali zone richiedono un'attenta considerazione per le attività di pulizia e disinfezione delle attrezzature a contatto diretto o indiretto con prodotti alimentari. Temperature fluttuanti possono scatenare condizioni di umidità elevate (=umidità relativa), formazione di aerosol e/o gocciolamento da costruzioni più elevate (ad esempio soffitti, sistemi di tubazioni). Una volta che il prodotto è surgelato, le condizioni di conservazione e trasporto dei prodotti surgelati devono garantire una temperatura di congelamento pari a -18 °C o inferiore. Nel caso in cui i prodotti surgelati debbano essere nuovamente manipolati (ad esempio miscelazione, imballaggio) si raccomanda di applicare temperature ambientali fredde. Laddove non altrimenti possibile, i prodotti surgelati devono rimanere per un periodo (molto) breve in condizioni di temperatura ambiente per evitare lo scongelamento. Il tempo concesso deve essere verificato dall'operatore del settore alimentare e dipenderà dal prodotto specifico e dalla temperatura circostante.

Gestione di tunnel di congelamento

I tunnel di congelamento sono dispositivi essenziali per la produzione di ortaggi surgelati e, a seconda della tecnologia applicata (congelatori ad aria compressa o criogenici) e della loro progettazione, presenteranno una fluttuazione nei cicli a bassa e alta temperatura. Cicli di temperatura compresi tra -30 °C e -40 °C sono seguiti da brevi cicli di scongelamento attorno ai 30/50 °C per evitare una formazione eccessiva di ghiaccio nel tunnel. Nel caso in cui i prodotti alimentari rimangano o si accumulino nel tunnel, possono diventare un ricettacolo di *Listeria monocytogenes*. Di conseguenza i tunnel di congelamento devono essere sottoposti a una manutenzione tecnica periodica (sezione 2.6), a un monitoraggio adeguato nonché a un controllo della temperatura dei cicli (questa sezione), essere parte del piano di pulizia e disinfezione (sezione 2.1) nonché di controlli visivi periodici per evitare un accumulo eccessivo di prodotto come parte della metodologia di lavoro (sezione 2.9) al fine di evitare l'accumulo di *Listeria monocytogenes* e/o la formazione di biopellicola nel tunnel.

Si distinguono due tipi di scongelamento dei tunnel:

1. **scongelo completo del tunnel.** Dipende dal tipo e dalla capacità di congelamento del tunnel. Durante ogni scongelamento completo va effettuata una pulizia profonda (cfr. sezione 2.1);
2. **scongelo parziali/sequenziali durante la produzione.** Tale possibilità è consentita soltanto da alcune marche di tunnel di congelamento e costituisce un'opzione aggiuntiva. Gli evaporatori non scongelano mai l'intero tunnel allo stesso tempo durante la produzione. Le sezioni degli evaporatori che vengono scongelate vengono chiuse completamente e sottoposte a pastorizzazione con acqua calda, gas o vapore. Durante il ciclo di scongelamento di una sezione di evaporatori, il flusso d'aria viene deviato verso altre serie di evaporatori che si trovano in modalità congelamento.

Riscaldamento, ventilazione e condizionamento dell'aria (HVAC).

Negli impianti di trasformazione di surgelati può registrarsi un gradiente di temperatura e umidità a motivo della presenza di zone con temperature (ambientali) elevate e a basse temperature e dell'aria che circola tra le stesse. In genere, nelle zone comprese tra l'uscita dei tunnel di congelamento e la raccolta di ortaggi intermedi surgelati in grandi sacchi/contenitori (alla rinfusa), o nelle zone comprese tra la sbianchitura e il raffreddamento del prodotto sbianchito, possono prodursi gradienti di temperatura. Tale gradiente di temperatura può provocare condensazione e gocciolamento d'acqua. Un sistema di riscaldamento, ventilazione e

condizionamento dell'aria (HVAC) installato e sottoposto a manutenzione professionale è un PRP nel contesto di tali impianti.

2.4. Personale: consapevolezza, formazione e comportamento

L'igiene del personale è importante nella prevenzione/nel controllo di *L. monocytogenes* e si realizza principalmente mediante il comportamento corretto degli operatori e la loro consapevolezza dei rischi in relazione a tale patogeno. Di conseguenza le attività di formazione (ripetuta) e comunicazione (ad esempio sui risultati delle ispezioni igieniche, sui risultati dello screening in merito a pulizia e disinfezione) sono pertinenti per alimentare tale consapevolezza. Un fattore importante associato al personale è la fonte potenziale di contaminazione incrociata derivante da calzature, mani, guanti e casacche (o uniformi) durante il passaggio da un luogo o una zona di produzione a un altro/un'altra. Il passaggio da zone soggette a un regime di "livello igienico inferiore" a zone soggette a un regime di "livello igienico superiore" è cruciale per la diffusione potenziale della *Listeria monocytogenes* come patogeno ambientale. Occorre pertanto stabilire e comunicare agli operatori istruzioni chiare su come attraversare tali confini in una zona di produzione. Se necessario, si possono integrare soluzioni tampone per garantire l'igiene, quali una bussola d'ingresso igienico, lavasuole, l'uso di calzature specifiche per una determinata zona, colonnine per la disinfezione delle mani, per facilitare l'attraversamento delle zone e per impedire *alla Listeria monocytogenes* di migrare da una zona all'altra (cfr. anche per 2.5). Tali attrezzature devono essere incluse nel programma di pulizia e disinfezione, ad esempio lavasuole, per evitare la formazione di nicchie. Le casacche o le uniformi devono essere distinte in base al compito che il personale svolge (ad esempio produzione in zone soggette a regime di livello igienico inferiore, zone soggette a regime di livello igienico superiore e manutenzione tecnica). Nel caso in cui personale temporaneo stia lavorando presso impianti di produzione e commercializzazione, è necessario stabilire una formazione specifica e accordi su cosa si può e non si può fare. Come buona pratica si raccomanda di prendere in considerazione la possibilità di ridurre al minimo il ricorso a personale temporaneo per le attività più critiche per quanto riguarda il controllo della *Listeria monocytogenes*.

2.5. Infrastrutture, attrezzature e dispositivi

L'infrastruttura e l'organizzazione degli impianti di produzione e magazzinaggio saranno estremamente importanti nella prevenzione e nel controllo della *Listeria monocytogenes* nella produzione di ortaggi surgelati.

Suddivisione in zone funzionali

Si raccomanda una differenziazione tra zone soggette a regime di "livello igienico inferiore" e zone soggette a regime di "livello igienico superiore". Tale aspetto dovrebbe essere organizzato presso tutti gli impianti di produzione e magazzinaggio. Tali zone diverse sono indicate anche nei diagrammi di flusso (cfr. figure da 2 a 4). Si possono individuare zone diverse:

Zona 1: zona soggetta a regime di livello igienico inferiore

→ Caratterizzata da:

- zone con collegamento diretto con l'esterno;
- zone di ricevimento esterne delle materie prime;
- fasi di produzione prima del lavaggio e/o della sbianchitura;
- locali tecnici.

→ Misure di controllo:

- è possibile la presenza di legno, cartone e/o terreno;
- non è necessario accedere attraverso una bussola d'ingresso igienico;
- assenza di controllo della temperatura, assenza di controllo di ventilazione/flusso d'aria.

Zona 2: zona soggetta a regime di livello igienico superiore

→ Caratterizzata da:

- nessun contatto diretto con l'esterno;
- fasi di produzione dal lavaggio e dalla sbianchitura fino a ortaggi surgelati;
- manipolazione di prodotti surgelati aperti, ad esempio durante la ghiacciatura, la

miscelazione o il confezionamento.

→ Misure di controllo:

- necessità di accesso attraverso una bussola d'ingresso igienico (= accesso controllato all'esterno);
- controllo di ventilazione/flusso d'aria;
- è auspicabile disporre di un controllo della temperatura;
- presenza controllata di legno o cartoni puliti (ad esempio octabin).

Zona 3: zona di sicurezza

→ Caratterizzata da:

- magazzinaggio di prodotti finiti o alla rinfusa confezionati (surgelati);
- temperature di congelamento del prodotto.

→ Misure di controllo:

- soltanto imballaggi/contenitori chiusi;
- controllo della temperatura (temperatura di congelamento).

In relazione alla separazione delle zone degli impianti di produzione e magazzinaggio, sarà necessario un altro regime di igiene per ciascuna zona, come misure di controllo quali:

- maggiore frequenza delle attività di pulizia e disinfezione;
- maggiori restrizioni in materia di igiene personale per gli operatori;
- uso dedicato di materiali per la produzione (sicuramente dispositivi mobili quali contenitori, bidoni per rifiuti) e/o materiali per la pulizia e la disinfezione in una determinata zona;
- prevenzione di contaminazioni incrociate tra zone soggette a regime di igiene diverso: pensare all'organizzazione dei collegamenti tra le zone igieniche per operatori, materiali, prodotti alimentari, attrezzature e dispositivi (mobili), flusso di aria e acqua → flusso da "zone sicure" e zone soggette a regime "di livello igienico superiore" verso zone soggette a regime di "livello igienico inferiore" e NON viceversa.

Materiali a contatto con alimenti e progettazione igienica di attrezzature, dispositivi e infrastrutture in generale

I materiali destinati a entrare in contatto con alimenti e le attrezzature e infrastrutture che non sono a contatto diretto con gli alimenti dovrebbero essere costruiti con materiali adeguati (quali acciaio inossidabile o materiali plastici approvati per entrare a contatto con alimenti) che siano sostenibili durante l'uso, non siano fabbricati con materiali porosi o assorbenti e non siano sensibili alla corrosione in maniera da evitare la creazione di nicchie. In tali nicchie (come piccole incisioni o crepe), la *L. monocytogenes* può accumularsi, rendendo la parte interessata un sito di annidamento del patogeno. Durante la progettazione di infrastrutture e impianti, è necessario prestare attenzione alla loro progettazione igienica: ad esempio prevedendo superfici lisce, evitando giunzioni taglienti, estremità cieche nelle tubazioni, nessuna connessione incrociata tra il trasporto di prodotti alimentari, attrezzature e dispositivi sufficientemente elevati rispetto ai pavimenti per facilitare la sanificazione ed evitare schizzi dal pavimento, attrezzature facili da pulire (dopo lo smontaggio). I sistemi di cablaggio e tubazione sono sensibili all'accumulo di polvere e, in associazione a condizioni di umidità elevata, possono determinare la creazione di nicchie per agenti patogeni ambientali sugli stessi o intorno ad essi. Occorre assicurare che passerelle e scale con griglia aperta non siano posizionate al di sopra di alimenti e/o acqua esposti. Le superfici non a contatto con alimenti devono essere comprese nelle attività periodiche di pulizia e disinfezione (cfr. sezione 2.1) e, per quanto possibile, occorre evitare costruzioni orizzontali.

Sistemi di ventilazione/flusso d'aria

Si consiglia di controllare il **flusso d'aria** tra le zone soggette a regime di livello igienico superiore e le zone soggette a regime di livello igienico inferiore: l'aria dovrebbe fluire dalle zone pulite verso quelle sporche e si raccomanda quindi di assicurare un flusso d'aria positivo da un regime di livello igienico superiore a un regime di livello igienico inferiore. I sistemi di ventilazione, compresi gli evaporatori nei tunnel di congelamento, devono essere sottoposti a manutenzione e pulizia in funzione delle loro esigenze. Occorre valutare se sono necessari filtri per purificare l'aria. La **fonte d'aria** applicata in ingresso può costituire una potenziale fonte di contaminazione, di conseguenza gli operatori del settore alimentare devono controllare la provenienza dell'aria

(ad esempio evitare l'aspirazione da zone tecniche, zone sporche quali quelle dedicate allo smaltimento di rifiuti). In caso di applicazione di **aria compressa** (ad esempio per la cernita ottica), sono necessari filtri per evitare il deposito di goccioline d'olio provenienti dai sistemi di pompaggio così come la circolazione di microrganismi. I filtri devono essere compresi nel programma di manutenzione periodica (cfr. 2.6) per evitare la formazione di nicchie con *L. monocytogenes*.

Attrezzature mobili

Alcune parti delle apparecchiature sono progettate per essere mobili e possono essere collegate/scollegate alle/dalle linee di trasformazione in funzione del tipo di prodotto (ad esempio ortaggi a foglia oppure ortaggi a tubero), del livello di sporizia delle materie prime (ad esempio presenza di terra, sabbia), della necessità di cernita supplementare o di rimozione di insetti, dei dispositivi di taglio (ad esempio taglio a bastoncini piuttosto che a fette), ecc. Nel caso in cui parti di attrezzature siano collegate o spostate in un'altra zona dello stabilimento, occorre valutarne lo stato di pulizia e il potenziale di contaminazione incrociata (ad esempio attraversamento di zone soggette a regime di livello igienico inferiore e zone soggette a regime di livello igienico superiore, circolazione di persone, materiali) ed è necessario effettuare un controllo preoperativo. I dispositivi (di monitoraggio) di piccole dimensioni (ad esempio termometri, misuratori di ATP) che circolano all'interno di un impianto possono provocare una contaminazione incrociata e devono essere manipolati in modo specifico; ad esempio non devono passare da zone soggette a un regime di livello igienico inferiore a zone soggette a un regime di livello igienico superiore oppure, a titolo di raccomandazione di buone pratiche, devono essere riservati a una particolare zona/area dello stabilimento.

2.6. Manutenzione tecnica

La manutenzione tecnica preventiva, sotto forma di revisione e controllo pianificati delle attrezzature e delle infrastrutture, è della massima importanza nella prevenzione e nel controllo della *L. monocytogenes*. Gli operatori del settore alimentare devono attuare un piano di manutenzione preventiva comprendente:

- descrizione dettagliata del tipo di manutenzione tecnica;
- pianificazione in funzione delle attività di produzione (non va organizzata alcuna manutenzione tecnica durante le attività di produzione per evitare la contaminazione dei prodotti);
- necessità di effettuare un controllo preoperativo in caso di macchine e attrezzature non utilizzate di frequente (ad esempio in caso di produzione stagionale);
- nel piano di manutenzione devono essere inclusi tutti i macchinari e tutte le attrezzature, compresi gli impianti di dimensioni maggiori (tubazioni dell'acqua e sistemi di pompaggio, tunnel di congelamento, ecc.) a contatto diretto o indiretto con prodotti alimentari;
- sostituzione di filtri dell'aria e dell'acqua e controllo della presenza di biopellicole su tali filtri;
- attrezzature di gestione dell'acqua e sistemi di rimozione degli effluenti;
- organizzazione della pulizia di avvio dopo interventi tecnici;
- uniformi e calzature dedicate per tecnici interni ed esterni attivi in zone diverse dell'impianto;
- attrezzature di manutenzione, carrelli o attrezzature mobili dedicati con utensili per tecnici limitati a zone diverse e regimi di igiene diversi nell'impianto di produzione.

È necessario organizzare ispezioni periodiche di igiene (ad esempio 3-4 volte l'anno) al fine di individuare ulteriori punti di contaminazione quali crepe, incisioni, corrosione per i quali è necessario un intervento tecnico.

2.7. Controllo dei rifiuti

Esistono diverse gradazioni dei rifiuti alimentari e fintantoché i flussi di prodotti alimentari rientrano nella catena alimentare/dei mangimi, occorre rispettare il regime adeguato di igiene e sicurezza così come le restrizioni a tale riguardo. Durante l'intera attività di produzione e magazzinaggio, è necessario evitare le contaminazioni incrociate tra "alimenti" e "rifiuti". Spetta all'operatore del settore alimentare stabilire cosa fare nel caso in cui prodotti alimentari finiscano sul pavimento (ad esempio a causa di nastri trasportatori sovraccarichi e prodotti che cadono a terra), in maniera da evitare che la *L. monocytogenes*, annidata negli scarichi o sul pavimento, determini una contaminazione incrociata dei prodotti alimentari. Si raccomanda vivamente di riservare tali prodotti alimentari alla produzione di mangimi e di non impiegarli più come

"alimenti", fatto salvo il caso in cui ciò si sia verificato proprio all'inizio del processo di produzione, ossia nella fase in cui i prodotti provenienti dai campi entrano negli impianti di produzione (in una zona soggetta a regime di livello igienico inferiore).

I bidoni per rifiuti, i contenitori per rifiuti e i sistemi di raccolta su ruote devono essere in buono stato (cfr. sezioni 2.5 e 2.6) ed essere inclusi nel piano di pulizia e disinfezione (cfr. sezione 2.1). Sono compresi nelle prescrizioni per gli operatori nel quadro della metodologia di lavoro al fine di evitare che i bidoni per i rifiuti attraversino zone diverse e diffondano in tal modo la *L. monocytogenes* nell'ambiente di produzione (cfr. sezione 2.9). I contenitori devono essere dedicati per funzione (ad esempio prodotto accettato, rilavorazione, rimozione di alimenti per animali, rifiuti) e distinti in maniera chiara gli uni dagli altri (ad esempio, tramite una codifica a colori, un'etichettatura, cartellini).

2.8. Controllo delle materie prime e selezione dei fornitori

Ridurre al minimo la probabilità che le materie prime (quali gli ortaggi provenienti dai campi), i prodotti semitrasformati (quali ortaggi pre-puliti e pre-lavati) e gli ingredienti (ad esempio riso precotto, pesce o prodotti a base di carne, spezie, ecc.) siano contaminati al momento della consegna costituisce una misura preventiva destinata a diminuire la presenza di *Listeria monocytogenes* nella produzione di ortaggi surgelati.

A seconda della natura dei prodotti in entrata, possono verificarsi diversi tipi di contaminazione:

- **le materie prime provenienti dai campi, come gli ortaggi crudi**, possono contenere *L. monocytogenes* all'arrivo presso lo stabilimento → la presenza di terreno e i contenitori utilizzati per il trasporto possono essere fattori di rischio di contaminazione. Nel caso in cui i prodotti siano raffreddati nei campi o presso l'azienda agricola, può verificarsi una contaminazione legata all'umidità (ad esempio, applicazione di acqua di raffreddamento, goccioline di acqua fredda nebulizzate per ridurre la temperatura dei prodotti);
- **i prodotti semitrasformati (ad esempio materie prime pre-pulite che vengono lavate, pelate, sminuzzate come nel caso di carote e cipolle)** → tali prodotti provengono da altri impianti di trasformazione e possono essere contaminati durante la trasformazione o subire contaminazioni incrociate a causa dei contenitori nei quali vengono trasportati. Il non rispetto della catena del freddo può stimolare la crescita di *L. monocytogenes*;
- **gli ingredienti** (ad esempio ortaggi surgelati, pesce, carne, riso, prodotti essiccati, ecc.) → possono essere contaminati dal fornitore e venire introdotti nel processo di produzione dell'operatore del settore alimentare;
- **i materiali di imballaggio** (ad esempio materiali di imballaggio primario, materiale utilizzato durante il magazzinaggio (quali sacchi di grandi dimensioni, contenitori per materiali alla rinfusa) → sono meno sensibili alla contaminazione da *Listeria monocytogenes*, ma devono essere puliti, privi di polvere e devono essere protetti dalla contaminazione incrociata al loro arrivo;
- **gli ausili tecnici** (esempio agenti per la disinfezione dell'acqua, agenti antischiuma applicati nelle vasche di lavaggio, ecc.) o additivi → sono meno sensibili alla contaminazione da *L. monocytogenes* ma devono essere immagazzinati/distribuiti in serbatoi/contenitori puliti al fine di evitare la contaminazione incrociata verso l'ambiente dello stabilimento;
- **acqua** → cfr. sezione 2.2.

La selezione dei fornitori e la comunicazione ai fornitori in merito alla presenza di *L. monocytogenes* relativa alla materia prima specifica è un passo importante per evitare potenziali contaminazioni. Data la natura delle diverse materie prime sarà tuttavia impossibile avere materie prime "esenti da *Listeria*", poiché la maggior parte delle materie prime applicate in questo settore non è sottoposta a una misura di controllo listericida durante il suo processo di produzione o fabbricazione (come la pastorizzazione, la sterilizzazione). Di conseguenza è necessario disporre di un'accurata selezione del fornitore comprendente le seguenti misure di controllo:

- l'elaborazione di procedure per la selezione e l'approvazione dei fornitori;
- l'instaurazione di relazioni (a lungo termine) con i fornitori;
- la conduzione di audit in loco periodici per garantire che i fornitori dispongano di un solido sistema

di gestione per la sicurezza alimentare e attuino buone pratiche e norme igieniche generali per evitare la contaminazione da *L. monocytogenes*;

- la distinzione tra fornitori UE e fornitori di paesi terzi (nei paesi terzi possono applicarsi normative diverse).

In caso di ortaggi crudi provenienti dai campi, si può essere in presenza di contaminazione ambientale da *Listeria* spp. o eventualmente da *L. monocytogenes*. Tuttavia tali fornitori (della produzione primaria) sono tenuti a controllare la potenziale contaminazione supplementare evitando l'uso di container/scatole/contenitori non puliti, materiali e attrezzature di raccolta non puliti, fonti idriche contaminate, nonché a evitare la formazione di biopellicola nelle zone di magazzinaggio refrigerate e di umidificazione, se del caso. Tutte queste misure devono far parte delle loro buone pratiche agricole ed essere incentrate sulla riduzione al minimo della contaminazione microbiologica nella produzione primaria. Si raccomanda agli agricoltori di operare secondo il documento "Comunicazione della Commissione relativa agli orientamenti per la gestione dei rischi microbiologici nei prodotti ortofrutticoli freschi a livello di produzione primaria mediante una corretta igiene" (Comunicazione della commissione 2017/C 163/01) nel quale è presentata una serie di buone pratiche agricole e di buone prassi in materia di igiene per evitare o ridurre al minimo la contaminazione microbiologica a livello di azienda agricola e durante le prime attività successive alla raccolta.

Effettuare prove su un singolo lotto di materie prime per individuare la presenza di *L. monocytogenes* (= campionamento del lotto) ha un valore limitato ai fini della determinazione dell'accettabilità del lotto in questione e non può sostituire PRP e misure HACCP ulteriori destinati a controllare la *Listeria monocytogenes* nel processo di produzione dell'operatore del settore alimentare (cfr. ulteriori dettagli nella sezione 5.1). Il valore primario delle prove condotte sulle materie prime consiste nella raccolta di dati storici e consente attività di monitoraggio nei confronti dei fornitori nel contesto della loro valutazione/verifica. L'esecuzione di prove sulle materie prime e il controllo di lotti NON costituiscono pertanto una misura di controllo adeguata per la *L. monocytogenes*.

2.9. Metodologia di lavoro

Infine, la metodologia di lavoro, l'organizzazione del processo di produzione e il sistema di gestione attuati presso lo stabilimento saranno di massima importanza nella prevenzione e nel controllo quotidiano della diffusione della *Listeria monocytogenes* e della potenziale formazione di biopellicole/nicchie nell'ambiente di produzione. Gli aspetti che seguono sono di particolare interesse per quanto riguarda la prevenzione e il controllo della *L. monocytogenes*.

Grado di pulizia

Uno stabilimento e il suo ambiente circostante devono essere ordinati e puliti. I prodotti che si trovano lungo la linea di trasformazione (ad esempio su nastri trasportatori, dentro tunnel di congelamento) possono essere rimossi immediatamente e non devono accumularsi fino allo svolgimento delle attività periodiche di pulizia e disinfezione. È importante adottare il principio della "pulizia viva lungo tutto il processo", rimuovendo frequentemente il materiale da nastri trasportatori, attrezzature di lavorazione, pavimenti, ecc., dato che ciò ridurrà il carico complessivo presso tutto il sito.

Impegno e sensibilizzazione della dirigenza e del personale

La dirigenza dell'impianto deve individuare **le posizioni chiave per il personale** nelle diverse aree/zone al fine di attuare e controllare quotidianamente i prerequisiti, i PRP operativi e i CCP necessari (cfr. sezione 3, basata sul piano HACCP). Tutto il personale (compresi i tecnici e il personale temporaneo) deve essere **sensibilizzato e formato** in merito al controllo della *Listeria monocytogenes* (come indicato nella sezione 2.4). La dirigenza deve **allocare risorse** (ossia denaro, tempo, personale, competenze) per il campionamento ambientale, investimenti in infrastrutture e manutenzione, trattamento delle acque ecc. necessari per essere in grado di prevenire e controllare la *Listeria monocytogenes*.

Organizzazione del processo di produzione di ortaggi surgelati

La produzione di ortaggi surgelati dipende fortemente dalla disponibilità stagionale della materia prima. I picchi

di produzione coincidono con la stagione di raccolta del prodotto trasformato. Lo stabilimento deve essere organizzato a far fronte a tale circostanza in termini di:

- disponibilità di dispositivi e attrezzature (per far sì che tutte le attrezzature e le linee di trasformazione necessarie siano pronte e installate);
- tempo assegnato alle interruzioni nella produzione per le attività di pulizia e disinfezione (cfr. sezione 2.1);
- disponibilità di personale;
- disponibilità di acqua;
- ecc.

Possono essere in funzione contemporaneamente più linee e prodotti di trasformazione, circostanza questa che può contribuire a una possibilità maggiore di contaminazione incrociata tra linee, personale e prodotti. Si raccomanda di organizzare bene la produzione in maniera da ridurre al minimo la circolazione di personale e dispositivi tra zone e linee diverse. Occorre introdurre interruzioni intermedie nelle linee di produzione che operano a tempo pieno al fine di consentire le attività intermedie di pulizia e di sanificazione, di svuotamento dell'aria dai tunnel di congelamento per eliminare l'accumulo di prodotti, rimuovere i prodotti rimanenti, ecc.

Il processo di produzione è per lo più un processo continuo, che inizia dalle materie prime fino a prodotti surgelati alla rinfusa. L'applicazione del **criterio della marcia in avanti** dei prodotti non pone generalmente alcun problema. Tuttavia occorre controllare lo spostamento di dispositivi su ruote, personale e attrezzature mobili, in particolare quando si effettuano passaggi da zone a regime di livello igienico inferiore verso zone a regime di livello igienico superiore.

Tutte le fasi del processo di produzione devono disporre di istruzioni specifiche per il personale riguardo alle cose da fare e da non fare in termini di attività di produzione, norme in materia di igiene, fasi di sicurezza alimentare, controlli di qualità da effettuare, ecc. Di conseguenza deve essere in atto un **sistema di documentazione** adeguato dotato di istruzioni e procedure di facile accesso e comprensione.

3. HACCP (Analisi dei pericoli e dei punti critici di controllo)

Negli impianti di produzione e magazzinaggio di ortaggi surgelati non soltanto i PRP, ma anche il piano HACCP deve affrontare la questione della *L. monocytogenes* al fine di individuare in quali punti lungo il processo possono verificarsi la presenza, l'accumulo, la crescita o la riduzione del pericolo. Per il piano HACCP si segue la struttura e la metodologia della comunicazione della Commissione europea sui sistemi di gestione per la sicurezza alimentare (2016/C 278/01). Un diagramma di flusso che descrive le diverse fasi del processo è riportato nelle figure 2, 3 e 4.

Nota 1: questo piano HACCP può essere utilizzato come punto di partenza per il piano HACCP di un'impresa oppure per la revisione del piano in vigore. È importante personalizzare il piano adattandolo in maniera da creare un piano aziendale specifico adeguando fasi di produzione, attrezzature specifiche, informazioni sulla convalida e misurazioni delle linee di produzione, ecc.

Nota 2: l'analisi ha per oggetto l'identificazione dei pericoli, le misure preventive, la valutazione dei pericoli ($P \times E = R$) nonché la definizione dei punti critici di controllo, dei PRP operativi o dei PRP potenziali così come il pericolo rappresentato dalla *Listeria monocytogenes*. Tutte le altre parti del piano HACCP (ossia convalida, verifica, documentazione) non sono ulteriormente trattate nella presente guida. Inoltre altri pericoli (ossia altri pericoli microbiologici, chimici e fisici) non sono inclusi e devono essere ulteriormente analizzati dall'operatori del settore alimentare. Di conseguenza è possibile seguire la comunicazione della Commissione sui sistemi di gestione per la sicurezza alimentare (2016/C 278/01).

Nota 3: i presenti orientamenti riguardano gli ortaggi surgelati considerati come prodotti non pronti al consumo. Gli operatori del settore alimentare che intendono commercializzare ortaggi surgelati come prodotti pronti al consumo dovrebbero adottare ulteriori misure preventive e di controllo per garantire la sicurezza di tali prodotti, che tuttavia non sono comprese nel piano HACCP presentato.

Nella tabella 2 sono individuati i pericoli per fase di processo, sono aggiunte le misure di controllo individuate, sono stimati la probabilità (P) e l'effetto (E) sulla salute umana ed è attribuito un livello di rischio (R). Infine, a seconda del livello di rischio attribuito, viene assegnato un PRP, un PRP operativo o un CCP. La tabella 3 riporta esempi di tabelle di monitoraggio che inseriscono il monitoraggio e le azioni correttive da adottare.

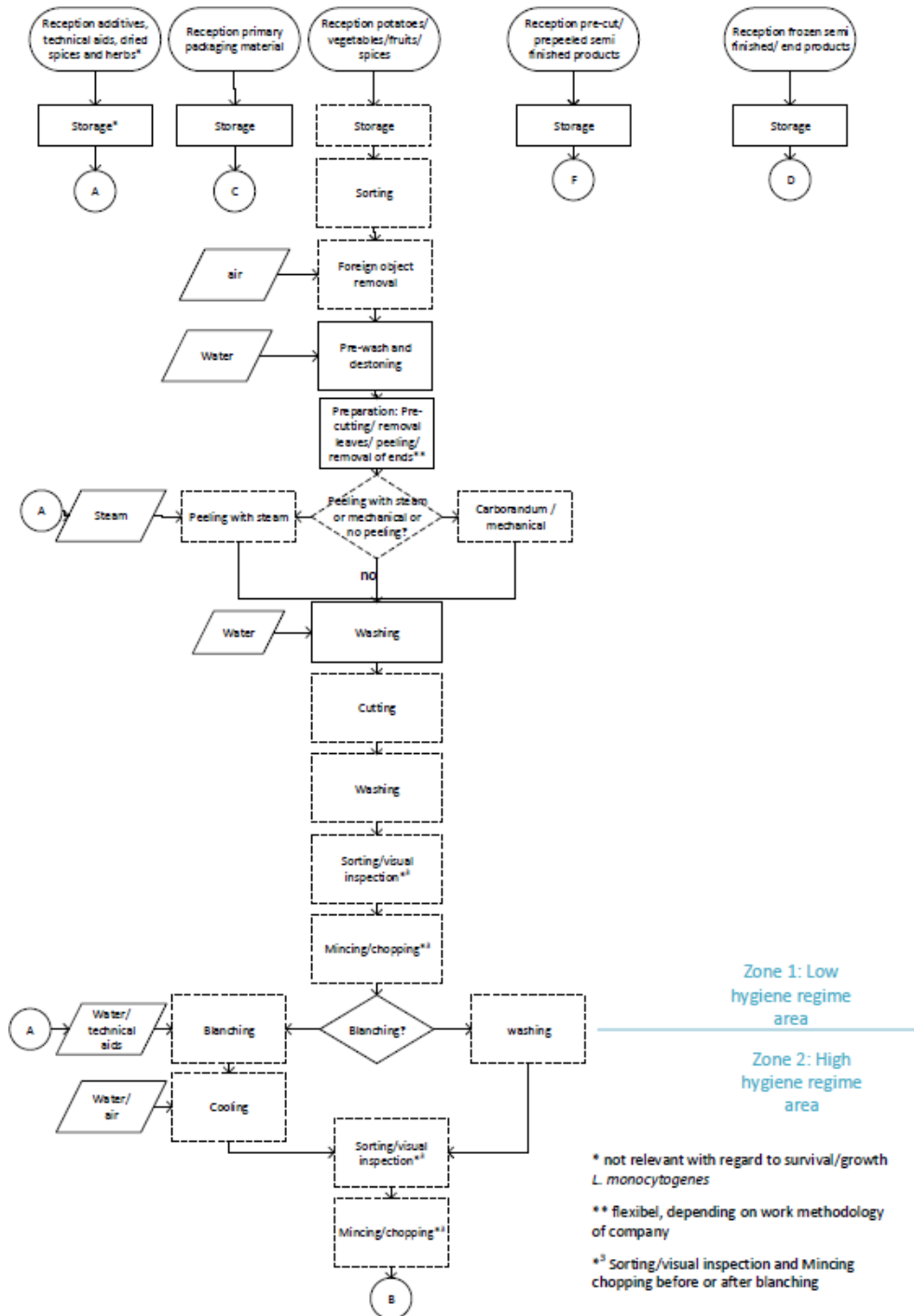


Figura 2. Diagramma di flusso della produzione di ortaggi surgelati – parte 1

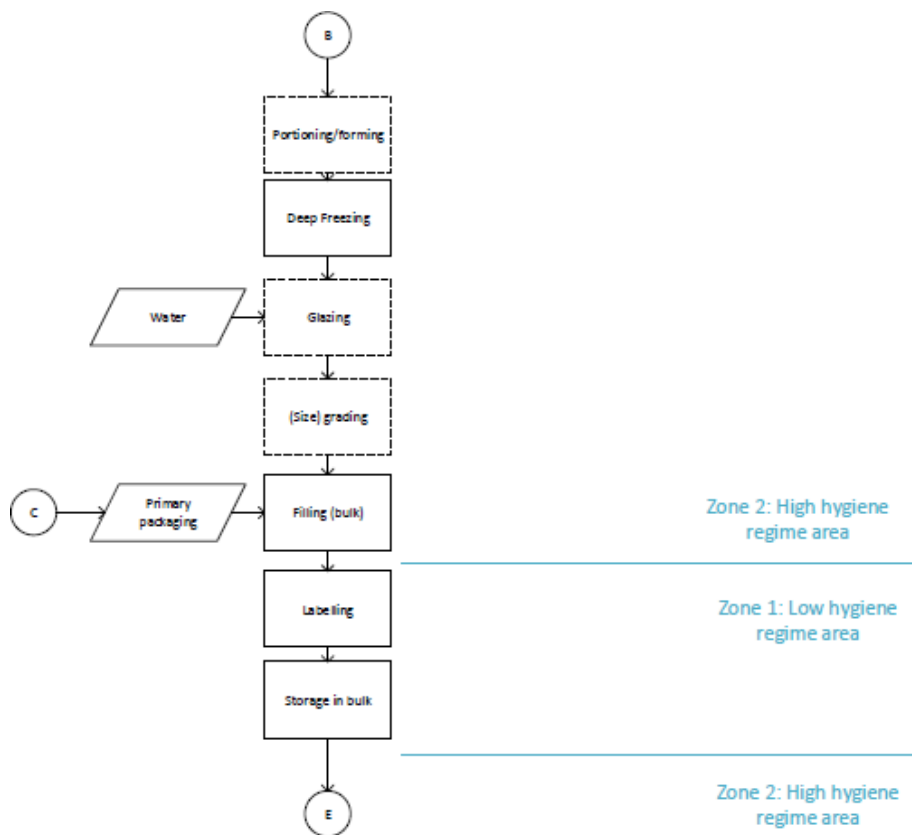


Figura 3. Diagramma di flusso della produzione di ortaggi surgelati – parte 2

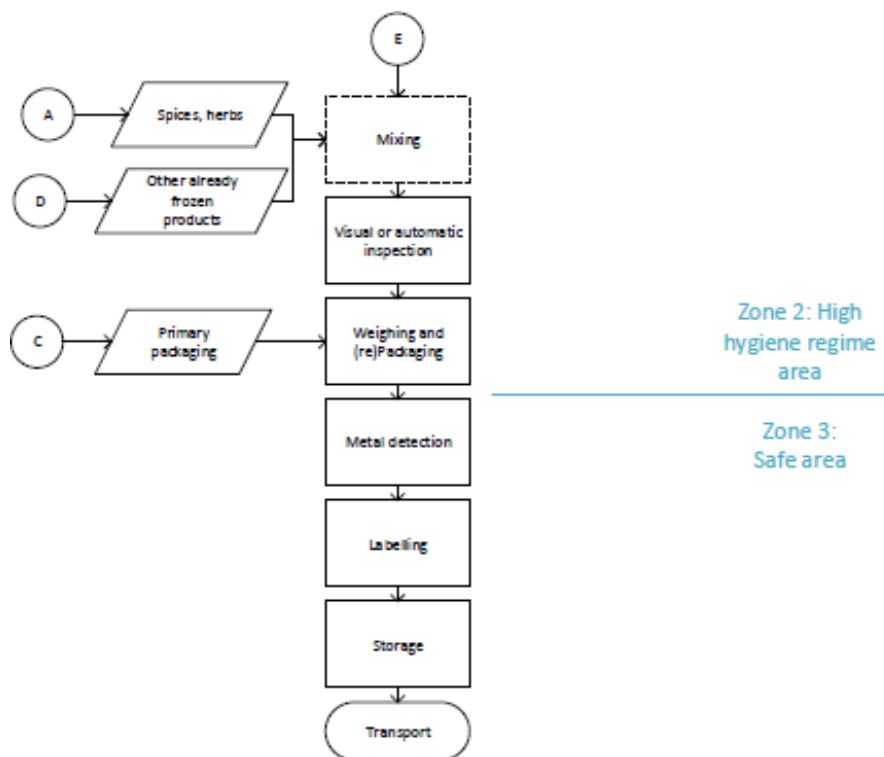


Figura 4. Diagramma di flusso della produzione di ortaggi surgelati – parte 3

Tabella 2: individuazione del pericolo, misure preventive/di controllo, probabilità (P), effetto (E), rischio (R) e attribuzione di PRP, PRP operativi o CCP						
Individuazione del pericolo	Misura preventiva/di controllo	P	E	R	Motivazione	PRP/PRP operativo/CCP
Ricevimento e magazzinaggio di materie prime, prodotti semitrasformati, ingredienti surgelati e acqua (zona 1: zona soggetta a regime di livello igienico inferiore) – fig. 2						
<i>L. monocytogenes</i> presente nelle materie prime provenienti dalla produzione primaria (campo) (ortaggi)	Politica di selezione dei fornitori/acquisto: <ul style="list-style-type: none"> • buone pratiche agricole • pulizia e disinfezione di attrezzature/contenitori • controllo della biopellicola in caso di magazzinaggio refrigerato/umidificazione e di prodotti 	1	3	3		PRP Materie prime (sezione 2.8)
<i>L. monocytogenes</i> presente nei semitrasformati (verdure pre-pulite) e negli ingredienti (prodotti surgelati)	Politica di selezione dei fornitori/acquisto: <ul style="list-style-type: none"> • buone prassi in materia di igiene e HACCP • piano di controllo della <i>Listeria monocytogenes</i> elaborato messo in atto con il fornitore • contenitori puliti all'arrivo • appropriata temperatura refrigerata all'arrivo 	2	3	4		PRP Materie prime (sezione 2.8) PRP Metodologia di lavoro (sezione 2.9): verifica all'arrivo
Acqua contaminata da <i>L. monocytogenes</i>	Selezione di fonti idriche adeguate, controlli periodici della qualità dell'acqua	1	3	3		PRP Acqua (sezione 2.2)

<p>Contaminazione da <i>L. monocytogenes</i> da zone di ricevimento e magazzinaggio</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Controllo della temperatura in caso di magazzinaggio refrigerato o surgelato • principi di controllo dei tempi e FIFO (<i>first in, first out</i>) per i prodotti (refrigerati) • pulizia e disinfezione delle zone/attrezzature di magazzinaggio manutenzione tecnica delle zone di magazzinaggio 	<p>2</p>	<p>3</p>	<p>4</p>		<p>PRP Controllo della temperatura (sezione 2.3)</p> <p>PRP Metodologia di lavoro (sezione 2.9)</p> <p>PRP Pulizia e disinfezione PRP (sezione 2.1)</p> <p>PRP Infrastruttura (sezione 2.5)</p>
<p>Additivi, ausili tecnici, spezie ed erbe essiccate, materiali di imballaggio → nessuna fonte rilevante per <i>L. monocytogenes</i></p>						

Cernita, rimozione di corpi estranei, prelavaggio/denocciolatura, preparazione, fasi di lavaggio, taglio, cernita/ispezione visiva, pelatura, sminuzzatura e tritatura (zona 1: zona soggetta a regime di livello igienico inferiore) - fig. 2						
Contaminazione tramite l'ambiente di produzione, le attrezzature, gli utensili	<ul style="list-style-type: none"> • Programma per la pulizia e la disinfezione • manutenzione tecnica, compresi controlli preoperativi in caso di uso stagionale di dispositivi/attrezzature • infrastruttura 	1	3	3	Si possono formare biopellicole nelle/sulle attrezzature; P=1: zona 1	PRP Pulizia e disinfezione (sezione 2.1) PRP Manutenzione tecnica (sezione 2.6) PRP Infrastruttura (sezione 2.5)
Contaminazione attraverso operatori	<ul style="list-style-type: none"> • Formazione e sensibilizzazione del personale • infrastruttura: bussole d'ingresso igienico tra zone diverse 	1	3	3	P=1, ancora nella zona soggetta a regime di livello igienico inferiore	PRP Personale (sezione 2.3) PRP Infrastruttura (sezione 2.5)
Aria contaminata utilizzata per la rimozione di corpi estranei e/o nelle vasche di lavaggio per creare sistemi di lavaggio "jacuzzi"	<ul style="list-style-type: none"> • Filtri appropriati e pulizia di filtri ed evaporatori • Controllo della provenienza dell'aria 	1	3	3	P=1, ancora nella zona soggetta a regime di livello igienico inferiore	PRP Infrastruttura - controllo dell'aria (sezione 2.5)
Acqua contaminata e formazione di biopellicole nella vasca di lavaggio (per le fasi di lavaggio)	Gestione dell'acqua <ul style="list-style-type: none"> • pulizia e disinfezione del sistema di tubazioni e della vasca di lavaggio (e altre attrezzature di lavaggio quali pale, tamburi rotanti) • rinnovo frequente dell'acqua e/o rabbocco frequente di serbatoi d'acqua • riciclaggio dell'acqua e/o trattamento dell'acqua in caso di necessità 	1	3	3	P=1, ancora nella zona soggetta a regime di livello igienico inferiore	PRP Pulizia e disinfezione (sezione 2.1) PRP Gestione dell'acqua (sezione 2.2)
		2*	3	4	*P = 2, in caso di prodotto non sbianchito (ad esempio porri, cipolle)	PRP operativo 1: contaminazione dell'acqua nei serbatoi di lavaggio in caso di prodotti non sbianchiti

Uso di acqua contaminata per la preparazione del vapore in caso di pelatura mediante vapore	Adeguate trattamento dell'acqua per evitare contaminazioni	1	3	3	P=1, ancora nella zona soggetta a regime di livello igienico inferiore	PRP Pulizia e disinfezione (sezione 2.1) PRP Gestione dell'acqua (sezione 2.2)
---	--	---	---	---	--	---

<p>Sbianchitura (zone 1-2) – fig. 2</p> <p>Nota: nel caso di ortaggi non sottoposti a sbianchitura, questa fase di produzione sarà una fase di lavaggio aggiuntiva, in quanto i prodotti seguono le stesse linee di lavorazione.</p>	<p>La sbianchitura è un trattamento termico e una fase tecnologica finalizzata alla disattivazione enzimatica per stabilizzare gli ortaggi surgelati durante il magazzinaggio prolungato in condizioni di congelamento. Alcuni prodotti vengono sbianchiti, mentre altri no; ciò dipenderà fortemente dalle decisioni dell'operatore del settore alimentare, dai requisiti dei clienti, ecc.</p> <p>La sbianchitura avviene principalmente per immersione dei prodotti in acqua calda o esposizione a vapore. Le temperature possono variare tra 65 °C e 110 °C e vengono mantenute per un tempo specificato (1-10 minuti, a seconda dei prodotti, delle dimensioni dei pezzi di ortaggi, della variabilità stagionale, ecc.) → le combinazioni tempo/temperatura dipendono dal tempo necessario per inattivazione degli enzimi polifenolossidasi e perossidasi. Alcuni prodotti non possono essere sottoposti a sbianchitura in ragione degli effetti negativi sulla qualità del prodotto (ad esempio cipolle o porri).</p> <p>a: la sbianchitura avrà un impatto riducente sulla flora microbica (attualmente denominata anche "microbiota") degli ortaggi, sebbene non miri all'eliminazione di agenti patogeni quali la <i>L. monocytogenes</i> o alla riduzione ad una conta accettabile, secondo le definizioni di un CCP nel quadro dell'HACCP. Di conseguenza la sbianchitura NON è considerata un CCP nell'eliminazione della <i>Listeria monocytogenes</i> e una pastorizzazione completa (ossia riduzione di 6 log di <i>L. monocytogenes</i>)</p>					
<p>Tempo/temperatura di sbianchitura troppo breve/bassa per consentire la proliferazione di <i>Listeria monocytogenes</i> nell'acqua/nel prodotto</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Monitoraggio del tempo e della temperatura della fase di sbianchitura • controllo della distruzione di enzimi mediante prove enzimatiche 	2	3	4	Cfr. a	PRP operativo 2: processo di sbianchitura, tempo/temperatura
<p>Contaminazione tramite l'ambiente di produzione, le attrezzature, gli utensili</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Programma per la pulizia e la disinfezione • manutenzione tecnica • infrastruttura 	2	3	4	P=2, a causa del passaggio a una zona soggetta a regime di livello igienico superiore	PRP Pulizia e disinfezione (sezione 2.1) PRP Manutenzione tecnica (sezione 2.6) PRP Infrastruttura (sezione 2.5)
<p>Contaminazione attraverso operatori</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Formazione e sensibilizzazione del personale • infrastruttura: bussole d'ingresso igienico tra zone diverse 	2	3	4	P=2, a causa del passaggio a una zona soggetta a regime di livello igienico superiore	PRP Personale (sezione 2.3) PRP Infrastruttura (sezione 2.5)

<p>Uso di acqua/vapore contaminata/o – riciclaggio dell'acqua</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Pulizia e disinfezione del sistema di tubazioni • decisione in merito al riciclaggio dell'acqua nelle fasi di sbianchitura • Attività di seguito rispetto alla possibile contaminazione nell'acqua e necessità di disinfezione dell'acqua 	2	3	4	<p>P=2, a causa del passaggio a una zona soggetta a regime di livello igienico superiore</p>	<p>PRP Pulizia e disinfezione (sezione 2.1) PRP Gestione dell'acqua (sezione 2.2)</p>
<p>Raffreddamento (zona 2: regime di livello igienico superiore) - fig. 2</p>						
<p>Crescita della <i>L. monocytogenes</i> quando il raffreddamento è troppo lento (in caso di sopravvivenza dopo la sbianchitura o contaminazione successiva dopo lo sbianchitura)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Monitoraggio del tempo/della temperatura di raffreddamento 	2	3	4	<p>Cfr. b</p>	<p>PRP operativo 3: monitoraggio della temperatura dell'acqua di raffreddamento</p>
	<ul style="list-style-type: none"> • rispettare la capacità di raffreddamento - volume di prodotti che possono passare dalla fase di raffreddamento • esaminare la necessità di una disinfezione dell'acqua per evitare l'accumulo di crescita di batteri nell'acqua di raffreddamento 					
<p>Contaminazione tramite l'ambiente di produzione, le attrezzature, gli utensili</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Programma per la pulizia e la disinfezione • manutenzione tecnica • infrastruttura 	2	3	4	<p>P = 2, zona soggetta a regime di livello igienico superiore</p>	<p>PRP Pulizia e disinfezione (sezione 2.1) PRP Manutenzione tecnica (sezione 2.6) PRP Infrastruttura (sezione 2.5)</p>

Contaminazione attraverso operatori	<ul style="list-style-type: none"> Formazione e sensibilizzazione del personale infrastruttura: bussole di ingresso igienico tra zone diverse 	2	3	4	P = 2, zona soggetta a regime di livello igienico superiore	PRP Personale (sezione 2.3) PRP Infrastruttura (sezione 2.5)
Contaminazione incrociata tramite acqua contaminata	<ul style="list-style-type: none"> Pulizia e disinfezione del sistema di tubazioni dell'acqua valutazione della necessità di aggiungere disinfettante come ausilio tecnologico per mantenere la qualità dell'acqua valutazione del volume di acqua aggiunto nei serbatoi di raffreddamento per rinnovare l'acqua di raffreddamento 	2	3	4	P=2, dato che si tratta di una zona 2	PRP Pulizia e disinfezione (sezione 2.1) PRP Gestione dell'acqua (sezione 2.2)
<p>^b Di norma riduce la temperatura del prodotto portandola sotto a 10 °C in 1 min, con un massimo di 2 min (EFSA, 2018b). Evitare di rimanere a temperature comprese tra 50 °C e 10 °C</p>						
<p>Selezione/ispezione visiva, sminuzzatura/tritatura, porzionatura/formatura – classificazione in base alle dimensioni dopo il congelamento (zona 2: regime di livello igienico superiore) – fig. 2/3</p>						
Contaminazione attraverso l'ambiente di produzione, le attrezzature, gli utensili e i prodotti alimentari selezionati in seguito a cernita ottica/visiva per essere trattati come rifiuti	<ul style="list-style-type: none"> Programma per la pulizia e la disinfezione manutenzione tecnica infrastruttura 	2	3	4	P = 2, zona soggetta a regime di livello igienico superiore	PRP Pulizia e disinfezione (sezione 2.1) PRP Manutenzione tecnica (sezione 2.6) PRP Infrastruttura (sezione 2.5) PRP Rifiuti (sezione 2.7)
	<ul style="list-style-type: none"> Raccolta corretta dei rifiuti o rimozione di prodotti che vengono selezionati 					
Contaminazione attraverso operatori	<ul style="list-style-type: none"> Formazione e sensibilizzazione del personale infrastruttura: bussole di ingresso igienico tra zone diverse 	2	3	4	P = 2, zona soggetta a regime di livello igienico superiore	PRP Personale (sezione 2.3) PRP Infrastruttura (sezione 2.5)

Contaminazione incrociata dalla zona 1	<p>Metodologia di lavoro per evitare la contaminazione incrociata:</p> <ul style="list-style-type: none"> • utensili/attrezzature separati per zone diverse • bidoni per i rifiuti per raccogliere i prodotti alimentari selezionati 	2	3	4	P=2, zona soggetta a regime di livello igienico superiore	PRP Metodologia di lavoro (sezione 2.9)
Surgelazione/ghiacciatura (zona 2: regime di livello igienico superiore) - fig. 3						
Surgelazione troppo lenta o fluttuazioni di temperatura nel surgelatore, con conseguente crescita/contaminazione di <i>L. monocytogenes</i> – a temperature < -18 °C	<ul style="list-style-type: none"> • Convalida e monitoraggio del tempo e della temperatura di surgelazione • Tempo/temperatura/cicli di surgelazione da definire per gruppo di prodotti (a seconda della natura degli ortaggi, delle loro dimensioni, ecc.) 	2	3	4	Cfr. c	PRP operativo 4: tempo/temperatura di surgelazione
Contaminazione dall'interno del tunnel di surgelazione/surgelatore (ad esempio formazione di biopellicola, gocciolamento)	<ul style="list-style-type: none"> • Pulizia e disinfezione del tunnel di congelamento, dei nastri trasportatori, degli impianti • Progettazione igienica (compreso il flusso dell'aria) 	2	3	4	P=2, regime di livello igienico superiore	PRP Pulizia e disinfezione (sezione 2.1) PRP Infrastruttura (sezione 2.5)
Aria contaminata (ad esempio abbattitori di temperatura ad aria)	<ul style="list-style-type: none"> • Controllo dell'origine dell'aria • pulizia e disinfezione, filtri adeguati e pulizia di filtri ed evaporatori 	2	3	4	P=2, regime di livello igienico superiore	PRP Pulizia e disinfezione (sezione 2.1) PRP Infrastruttura (sezione 2.5)
Acqua contaminata utilizzata per la ghiacciatura.	<ul style="list-style-type: none"> • pulizia e disinfezione del sistema di tubazioni/dell'evaporatore /dell'ugello • utilizzo di acqua potabile 	2	3	4	P=2, regime di livello igienico superiore	PRP Pulizia e disinfezione (sezione 2.1) PRP Gestione dell'acqua (sezione 2.2)
c Dato che la <i>L. monocytogenes</i> non viene eliminata completamente durante la sbianchitura e può verificarsi una potenziale contaminazione incrociata, è assolutamente importante che non si verifichi alcuna crescita nel surgelatore						

Riempimento alla rinfusa (zona 2-1: passaggio dal regime di livello igienico superiore a regime di livello igienico inferiore quando gli imballaggi sono chiusi) - fig. 2						
Materiale di imballaggio contaminato	<ul style="list-style-type: none"> • Politica di acquisto • Ambiente di magazzino pulito e secco • In caso di materiali riutilizzabili: sanificazione adeguata 	2	3	4	P=2, regime di livello igienico superiore in ragione del contatto diretto del materiale di imballaggio con un prodotto surgelato	<p>PRP Controllo delle materie prime (sezione 2.8)</p> <p>PRP Infrastruttura (sezione 2.5)</p> <p>PRP Pulizia e disinfezione in caso di materiali riutilizzabili (sezione 2.1)</p>
Contaminazione attraverso l'ambiente di produzione, le attrezzature, gli utensili → utilizzo di contenitori alla rinfusa che vengono trasportati e introdotti in zone soggette a regime di livello igienico superiore	<ul style="list-style-type: none"> • Programma per la pulizia e la disinfezione • infrastruttura • metodologia di lavoro per contenitori alla rinfusa (istruzioni per l'uso) 	2	3	4	P = 2, zona soggetta a regime di livello igienico inferiore	<p>PRP Pulizia e disinfezione (sezione 2.1)</p> <p>PRP Infrastruttura (sezione 2.5)</p> <p>PRP Metodologia di lavoro (sezione 2.9)</p>
Contaminazione attraverso operatori	<ul style="list-style-type: none"> • Formazione e sensibilizzazione del personale • infrastruttura: bussole di ingresso igienico tra zone diverse 	2	3	4	P = 2, zona soggetta a regime di livello igienico superiore	<p>PRP Personale (sezione 2.3)</p> <p>PRP Infrastruttura (sezione 2.5)</p>
Potenziale crescita di <i>L. monocytogenes</i> in caso di fluttuazioni di temperatura dei prodotti oppure in caso di interruzione del flusso verso il magazzino in congelatore a causa del mancato monitoraggio di seguito del controllo della temperatura nella parte dell'impianto	<ul style="list-style-type: none"> • Metodologia di lavoro: istruzione sul trasporto continuo da contenitori alla rinfusa con ortaggi surgelati verso il congelatore; chiusura ermetica dei contenitori alla rinfusa • In caso di interruzioni del lavoro → azioni correttive da intraprendere nei confronti dei prodotti (misurazioni della temperatura, campionamento di prodotti per il rilascio di lotti) 	2	3	4	P = 2, importante per evitare la crescita e la proliferazione	PRP Metodologia di lavoro (sezione 2.9)
Etichettatura e magazzino alla rinfusa (zona 3: zona sicura) – fig. 2						

Data della durata di conservazione/codifica del prodotto non corretta	<ul style="list-style-type: none"> • Metodologia di lavoro: la durata di conservazione sarà importante nel quadro dell'identificazione e della tracciabilità 	1	3	3	Le temperature sono troppo basse per la crescita di <i>L. monocytogenes</i> (surgelazione)	PRP Metodologia di lavoro (sezione 2.9)
Danneggiamento e contaminazione del prodotto con <i>L. monocytogenes</i> durante il magazzinaggio (ad esempio gocciolamento)	<ul style="list-style-type: none"> • Mantenimento in buone condizioni del locale di magazzinaggio • Metodologia di lavoro: nessun imballaggio sul pavimento, nessun imballaggio aperto • Pulizia e disinfezione Periodiche 	1	3	3	Il prodotto viene imballato e surgelato. (zona 3)	PRP Infrastruttura (sezione 2.5) PRP Metodologia di lavoro (sezione 2.9) PPR Pulizia e disinfezione (sezione 2.1)
Crescita di <i>L. monocytogenes</i> in caso di non rispetto della catena del freddo	<ul style="list-style-type: none"> • Monitoraggio della temperatura e del tempo di magazzinaggio • Metodologia di lavoro: principio FIFO 	2	3	4		PRP Controllo della temperatura (sezione 2.4) PRP Metodologia di lavoro (sezione 2.9)
Miscelazione con spezie/erbe/altri prodotti surgelati e ispezione (visiva/automatica) e nuova pesatura/nuovo imballaggio (zona 2: regime di livello igienico superiore) - fig. 4						
Contaminazione durante l'apertura degli imballaggi alla rinfusa	<ul style="list-style-type: none"> • Metodologia di lavoro: aprire gli imballaggi in modo igienico (contenitori alla rinfusa con ortaggi surgelati o contenitori da fornitori con ingredienti) per evitare che polvere o gli strati esterni dei materiali di imballaggio entrino in contatto con ortaggi surgelati 	2	3	4	P=2, regime di livello igienico superiore e apertura di imballaggi	PRP Metodologia di lavoro (sezione 2.9)

Materiale di imballaggio contaminato	<ul style="list-style-type: none"> • Politica di acquisto • Ambiente di magazzino pulito e secco • In caso di materiali riutilizzabili: sanificazione adeguata 	2	3	4	P=2, regime di livello igienico superiore in ragione del contatto diretto del materiale di imballaggio con un prodotto surgelato	<p>PRP Controllo delle materie prime (sezione 2.8)</p> <p>PRP Infrastruttura (sezione 2.5)</p> <p>PRP Pulizia e disinfezione in caso di materiali riutilizzabili (sezione 2.1)</p>
Contaminazione attraverso operatori	<ul style="list-style-type: none"> • Formazione e sensibilizzazione del personale 	2	3	4	P = 2, zona soggetta a regime di livello igienico superiore	<p>PRP Personale (sezione 2.3)</p> <p>PRP Infrastruttura (sezione 2.5)</p>
	<ul style="list-style-type: none"> • infrastruttura: bussole di ingresso igienico tra zone diverse 					
Contaminazione tramite l'ambiente di produzione, le attrezzature, gli utensili	<ul style="list-style-type: none"> • Programma per la pulizia e la disinfezione • manutenzione tecnica • infrastruttura 	2	3	4	P = 2, zona soggetta a regime di livello igienico superiore	<p>PRP Pulizia e disinfezione (sezione 2.1)</p> <p>PRP Manutenzione tecnica (sezione 2.6)</p> <p>PRP Infrastruttura (sezione 2.5)</p>
Tempo trascorso fuori dal surgelatore troppo lungo, temperatura del prodotto troppo elevata che consente la crescita di <i>L. monocytogenes</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Monitoraggio del tempo e della temperatura di tale zona • metodologia di lavoro: prelevare soltanto un numero limitato di contenitori dal magazzino in congelamento per evitare l'aumento della temperatura dei prodotti • in caso di interruzioni della produzione, adottare misure correttive nei confronti del prodotto, ad esempio misurazioni della temperatura e decidere cosa fare con i prodotti (ad 	2	3	4	P = 2, zona soggetta a regime di livello igienico superiore	<p>PRP Controllo della temperatura (sezione 2.4)</p> <p>PRP Metodologia di lavoro (sezione 2.9)</p>

	esempio campionamento per lotti e rilascio positivo)					
Rilevazione di metalli/etichettatura/magazzinaggio/trasporto (zona 3: zona sicura imballaggi chiusi) – fig. 4						
Data della durata di conservazione/codifica del prodotto non corretta	Metodologia di lavoro: la durata di conservazione sarà importante nel quadro dell'individuazione e della tracciabilità	1	3	3	Le temperature sono troppo basse per la crescita di <i>L. monocytogenes</i> (surgelazione)	PRP Metodologia di lavoro (sezione 2.9)
Danneggiamento e contaminazione del prodotto con <i>L. monocytogenes</i> durante il magazzinaggio (ad esempio gocciolamento)	<ul style="list-style-type: none"> Mantenere il locale di magazzinaggio e i modi di trasporto in buone condizioni Metodologia di lavoro: nessun imballaggio sul pavimento, nessun imballaggio aperto sanificazione periodica 	1	3	3	Il prodotto viene imballato e surgelato. (zona 3)	PRP Infrastruttura (sezione 2.5) PRP Metodologia di lavoro (sezione 2.9) PPR Pulizia e disinfezione (sezione 2.1)
Crescita di <i>L. monocytogenes</i> in caso di non rispetto della catena del freddo	<ul style="list-style-type: none"> Monitoraggio della temperatura e del tempo di magazzinaggio (anche durante il trasporto) Metodologia di lavoro: principio FIFO 	2	3	4		PRP Controllo della temperatura (sezione 2.4) PRP Metodologia di lavoro (sezione 2.9)

Tabella 3. monitoraggio e azioni correttive per i PRP operativi individuati nel piano HACCP (tabella 2)

Nota: ogni operatore del settore alimentare deve verificare se questi PRP operativi sono adatti allo scopo e adattarli ulteriormente alla modalità di produzione specifica dell'impresa

PRP operativo o CCP	Fase del processo di produzione	Obiettivo	Convalida	Monitoraggio	Azioni correttive
PRP operativo 1	Acqua contaminata e formazione di biopellicole nella vasca di lavaggio (per le fasi di lavaggio) – in caso di prodotti non sbianchiti	Evitare l'accumulo di <i>L. monocytogenes</i> nelle vasche di lavaggio	<ul style="list-style-type: none"> - Valutare e definire la frequenza e/o il volume d'acqua che è necessario rinnovare nei serbatoi di lavaggio - valutare e definire le condizioni per il riciclaggio dell'acqua e se sia necessario un trattamento dell'acqua 	<ul style="list-style-type: none"> - effettuare un monitoraggio della frequenza definita di rinnovo dell'acqua e/o di rabbocco dei serbatoi d'acqua - effettuare un monitoraggio delle condizioni definite per il riciclaggio e/o il trattamento dell'acqua (compresa la disinfezione dell'acqua) ove necessario 	<ul style="list-style-type: none"> - Rinnovare e rabboccare i serbatoi d'acqua - rivedere le condizioni di riciclaggio e/o trattamento dell'acqua
PRP operativo 2	Sbianchitura di ortaggi	Tempo/temperatura di sbianchitura troppo breve/bassa per consentire la proliferazione di <i>Listeria monocytogenes</i> nell'acqua/nel prodotto	- Valutare e definire se la combinazione temperatura/tempo potrebbe consentire la crescita o la proliferazione di <i>L. monocytogenes</i> durante il processo di sbianchitura prodotti, tagli, stagioni diversi, ecc.	- Effettuare un monitoraggio della combinazione tempo/temperatura di sbianchitura in base alla combinazione tempo/temperatura convalidata per prodotti, tagli, stagioni diversi, ecc.	<ul style="list-style-type: none"> - Se il tempo e la temperatura di sbianchitura non soddisfano i criteri stabiliti, è necessario effettuare una valutazione in merito alla crescita potenziale di <i>L. monocytogenes</i> - in caso di potenziale crescita, occorre provvedere a un rinnovo o al trattamento dell'acqua di sbianchitura così come al campionamento del prodotto al fine di valutare la contaminazione potenziale del prodotto

<p>PRP operativo 3</p>	<p>Raffreddamento dopo la sbianchitura</p>	<p>Crescita di <i>L. monocytogenes</i> quando il raffreddamento è troppo lento (in caso di sopravvivenza dopo la sbianchitura o contaminazione successiva dopo la sbianchitura)</p>	<p>- Valutare e definire se la temperatura/il tempo di raffreddamento possono consentire la crescita o la proliferazione di <i>L. monocytogenes</i> durante il raffreddamento dopo lo sbianchitura</p>	<p>- Effettuare un monitoraggio del tempo e della temperatura di raffreddamento stabiliti nella convalida</p>	<p>- Se il tempo e la temperatura di raffreddamento non soddisfano i criteri stabiliti, occorre effettuare una valutazione della crescita potenziale di <i>L. monocytogenes</i></p>
			<p>- evitare di rimanere in un intervallo di temperatura compreso tra 50 °C e 10 °C durante il monitoraggio della temperatura dell'acqua e/o del flusso del prodotto</p> <p>- valutare e definire se è necessaria una disinfezione dell'acqua di raffreddamento</p>	<p>- di norma ridurre la temperatura del prodotto portandola sotto i 10 °C in 1 min, con un massimo di 2 min. (EFSA, 2018b)</p>	<p>- in caso di potenziale crescita, occorre provvedere a un rinnovo o al trattamento dell'acqua di raffreddamento così come al campionamento del prodotto al fine di valutare la contaminazione potenziale del prodotto</p>
<p>PRP operativo 4</p>	<p>Congelamento di ortaggi in tunnel di congelamento</p>	<p>Congelamento troppo lento o fluttuazioni di temperatura nel congelatore, con conseguente crescita/contaminazione di <i>L. monocytogenes</i> – a temperature < - 18 °C</p>	<p>- Tempo/temperatura/cicli di congelamento da valutare e definire per gruppo di prodotti (a seconda della natura degli ortaggi, delle loro dimensioni, ecc.)</p>	<p>- Monitoraggio della combinazione tempo/temperatura del tunnel di congelamento e della temperatura del prodotto</p> <p>- monitoraggio del fatto che non si verifichi alcun accumulo di prodotti nella galleria di congelamento</p>	<p>- Se il tempo/la temperatura convalidati di un particolare prodotto durante il congelamento non viene rispettato/a, occorre controllare se non si verifica alcun accumulo di prodotto nel tunnel di congelamento.</p> <p>- valutare se la temperatura del prodotto è superiore a - 4 °C (a tali temperature, l'attività microbiologica e la crescita potenziale di <i>Listeria monocytogenes</i> si possono ripresentare)</p> <p>- se ciò accade, occorre organizzare la pulizia/disinfezione del tunnel di congelamento</p>

4. Campionamento ambientale per la verifica del controllo di *Listeria monocytogenes* come patogeno ambientale e la verifica delle misure di prevenzione/controllo condotte

Dato che la *Listeria monocytogenes* è un patogeno ambientale e l'accumulo microbiologico non è rilevabile visivamente, il campionamento ambientale è necessario per vagliare l'ambiente di produzione al fine di individuare possibili punti nei quali si annida la *L. monocytogenes*. Il monitoraggio ambientale ha un triplice obiettivo:

- (1) verificare l'efficacia delle misure preventive e di controllo (prerequisiti e piano HACCP);
- (2) rilevare siti nei quali si annida la *L. monocytogenes* nello stabilimento, se presenti; e
- (3) garantire che le azioni correttive abbiano eliminato la *L. monocytogenes* laddove rilevata presso lo stabilimento.

Riferimenti importanti in materia di campionamento ambientale sono i seguenti:

- a) i principi relativi alla procedura di campionamento per il campionamento ambientale sono descritti nella norma EN ISO 18593:2018;
- b) l'analisi di rilevamento di campioni ambientali per la *L. monocytogenes* è compresa nel metodo di cui alla norma EN ISO 11290 parte 1;
- c) il laboratorio di riferimento dell'Unione europea ha messo a disposizione un documento sulla *L. monocytogenes* che fornisce orientamenti specifici sulle zone di elaborazione del campionamento e sulle attrezzature per la rilevazione della *Listeria monocytogenes* (EURL *L. monocytogenes*, 2012);
- a) assistenza scientifica e tecnica urgente per fornire raccomandazioni per il campionamento e l'analisi negli impianti di trasformazione di ortaggi surgelati al fine di rilevare la *L. monocytogenes* (EFSA, 2018b);
- b) riferimenti a protocolli di screening ambientale sono disponibili anche in Lakshmikanta (2013) e CAC (2007);
- c) Zoellner et al. (2019) hanno presentato un approccio interessante di modellizzazione per determinare il luogo e il momento del campionamento più appropriati in un impianto di produzione di prodotti surgelati.

4.1 *Listeria* spp. o *L. monocytogenes*?

Occorre osservare che in alcune occasioni, i produttori di alimenti preferiscono il monitoraggio ambientale per la *Listeria* spp. non patogena come indicatore per la *L. monocytogenes*. Rivolgere l'attenzione a questo gruppo più ampio, la *Listeria* spp., come organismi indicatori potrebbe portare a una verifica più robusta dell'adeguata sanificazione in termini di condizioni ambientali (e quindi essere un buon indicatore di un'adeguata igiene dei processi) e consentire la correzione di situazioni che portano potenzialmente alla contaminazione da *L. monocytogenes* (CAC, 2007). Tuttavia il ricorso alla *Listeria* spp. come organismo marcatore/indicatore della *L. monocytogenes* è discutibile. La *Listeria* spp. comprende anche altre specie non patogene, che sono anche microrganismi ubiquitari e si riscontrano occasionalmente in prodotti alimentari o in un ambiente di produzione alimentare. Di conseguenza la semplice presenza di *Listeria* spp. non è necessariamente indice della presenza del patogeno *L. monocytogenes*. Secondo l'EFSA (2018b), si raccomanda di effettuare prove direttamente per la *L. monocytogenes* seguendo il protocollo di cui alla norma EN ISO 11290, parte 1 (rilevamento), e in caso di risultato positivo, si raccomanda vivamente di inviare gli isolati, che vengono confermati essere interessati da *L. monocytogenes*, a un laboratorio nazionale di riferimento o al laboratorio di riferimento dell'Unione europea per un'ulteriore caratterizzazione (tipizzazione). Sicuramente, in caso di indagini su focolai di listeriosi volte a tracciare la fonte potenziale di *Listeria monocytogenes*, è necessario effettuare prove per la *L. monocytogenes* (EFSA, 2018b).

4.2 Punti di campionamento

Il piano di monitoraggio ambientale deve comprendere punti di campionamento selezionati in base al potenziale di contaminazione del sito rispetto alla *Listeria monocytogenes*. Spetta all'operatore del settore alimentare sviluppare informazioni storiche sui risultati delle prove di tale screening, in maniera da individuare

zone critiche nell'ambiente di produzione, ad esempio determinate attrezzature (a contatto diretto o indiretto), determinati periodi dell'anno, la produzione di determinati prodotti, ecc. Un operatore del settore alimentare può generare un lungo elenco di siti di campionamento (comprensivo di superfici a contatto con alimenti e quelle non a contatto con alimenti) dai quali vengono prelevati campioni in maniera casuale caso; tuttavia, si raccomanda di sottoporre a prova tutti questi siti di prelievo di campioni durante un certo periodo di tempo. Si raccomanda di effettuare una differenziazione tra i punti di campionamento in base al loro potenziale di contaminazione incrociata da *Listeria monocytogenes* in relazione ai prodotti alimentari e all'annidamento dell'organismo. Un esempio di differenziazione è riportato nella tabella 4. Un lungo elenco di punti potenziali di campionamento è riportato in un documento dell'EFSA (2018b). Si consiglia di disporre di punti di campionamento fissi e di punti di campionamento a rotazione, che variano in ciascun periodo di campionamento secondo una proporzione pari a 70/30, il che significa che il 70 % dei punti è fisso e il 30 % è alternato per ogni ciclo di campionamento.

Tabella 4. Panoramica dei tipi di superfici a contatto con alimenti e non a contatto con alimenti, punti potenziali di campionamento e frequenza di campionamento proposta (sulla base della tabella 1)

Tipo	Descrizione	Esempi di punti di campionamento	Frequenza proposta di campionamento
1	Superfici a contatto diretto con gli alimenti	Superfici interne di serbatoi, imballaggi e nastri trasportatori, tramogge, superfici interne di tubazioni	Ogni settimana
2	Superfici non a contatto con alimenti nelle immediate vicinanze di superfici a contatto con alimenti	Struttura di alloggiamento delle attrezzature, pareti, pavimenti o scarichi nelle immediate vicinanze di superfici a contatto con Alimenti	Ogni mese
3	Superfici non a contatto con alimenti più remote che potrebbero eventualmente determinare una contaminazione	Carrelli elevatori, ruote di bidoni/dispositivi per la raccolta di rifiuti, lavasuole a disposizione del personale, pavimenti e scarichi non a contatto diretto con superfici a contatto con alimenti	Ogni 6 mesi
4	Superfici non a contatto con alimenti e zone distanti dall'ambiente di trasformazione	Disimpegni situati al di fuori della zona di produzione, zone nelle quali sono immagazzinate materie prime o prodotti finiti. Struttura di alloggiamento delle attrezzature, pareti, pavimenti o scarichi NON nelle immediate di superfici a contatto con alimenti	Ogni 6 mesi

4.3 Frequenza, periodo di tempo, superficie e tecniche di campionamento

La **frequenza del campionamento** deve essere più intensa nelle zone nelle quali è necessario disporre di un regime di livello igienico superiore (cfr. sezione Infrastruttura 2.5) e per quei punti di campionamento appartenenti al tipo 1 > 2 > 3 e 4. In caso di indagini sui focolai, occorre seguire un piano di campionamento più conciso presentato dall'EFSA (EFSA, 2018b).

Oltre ai punti e alle frequenze di campionamento, può essere specificato anche il **periodo di tempo di campionamento** appropriato durante il quale verranno raccolti i campioni ambientali. Il periodo di tempo più importante per raccogliere tali campioni si estende per diverse ore durante la produzione (ad esempio da 3 a 4 ore) oppure preferibilmente appena prima della pulizia, perché consente alla *L. monocytogenes* (se rilevata) di uscire dai siti di annidamento e contaminare l'ambiente di produzione. Occorre prevedere una rotazione in termini di giorno e orario del campionamento al fine di ottenere un diagramma completo a dispersione delle contaminazioni potenziali. Se i campioni vengono prelevati in orari troppo vicini alla conclusione della disinfezione, l'agente di disinfezione può non essere stato adeguatamente neutralizzato e potrebbe interferire con l'analisi. Maggiori informazioni sono disponibili dall'EFSA (2018b). Come menzionato nella sezione 3.1,

L'obiettivo di tale campionamento ambientale non è quello di verificare se le attività di pulizia e disinfezione svolte sono efficaci, quanto piuttosto di ottenere una verifica completa delle misure preventive e correttive attuate nel contesto del controllo della *L. monocytogenes*.

Varie tecniche di campionamento e zone di campionamento sono descritte in maniera generale nella norma EN ISO 18593:2018 e specificate negli orientamenti del laboratorio di riferimento dell'Unione europea in materia di campionamento nella zona e sulle attrezzature di trasformazione per la rilevazione della *Listeria monocytogenes* (EURL per *Listeria monocytogenes*, 2012). Riepilogando:

- per il campionamento **di zone e crepe difficili da raggiungere, piccole/strette**, vengono utilizzati tamponi a bastoncino;
campione: solitamente viene campionato $\leq 100 \text{ cm}^2$ (ad esempio fessure strette campionate su più metri);
- per il campionamento di **ampie superfici** vengono impiegati panni o spugne sterili; di norma $> 100 \text{ cm}^2$ - la superficie totale sottoposta a campionamento deve essere la più ampia possibile in maniera da aumentare la probabilità di rilevare la *Listeria monocytogenes*. Si raccomanda di campionare tra 1 000 e 3 000 cm^2 .

4.4 Elaborazione dei dati e analisi/osservazione delle tendenze

Sulla base dei risultati dell'analisi, è possibile creare una banca dati e sviluppare conoscenze storiche. Le informazioni che seguono possono essere recuperate per ottenere informazioni sulle potenziali vie di contaminazione come parte dell'osservazione delle tendenze: sensibilità del punto di campionamento, prodotto coinvolto, periodo dell'anno (variabilità stagionale), personale coinvolto e altre questioni che possono incidere sulla contaminazione, ad esempio manutenzione tecnica, variazioni del personale, variazione di attrezzature, uso stagionale di attrezzature, ecc. Tale osservazione delle tendenze può contribuire durante il percorso di apprendimento dell'operatore del settore alimentare allo sviluppo di una comprensione del momento in cui il suo ambiente di stabilimento può essere più sensibile alla contaminazione da *L. monocytogenes*. Una mappa dell'impianto con l'identificazione dei punti critici sensibili alla contaminazione può facilitare la comunicazione. I programmi di monitoraggio ambientale devono essere adattati in maniera da acquisire nuove conoscenze in seguito all'esame delle tendenze e dei dati.

4.5 Azioni correttive

Nel caso in cui una prova di monitoraggio dia esito positivo per la *L. monocytogenes*, è necessario effettuare uno screening maggiormente dedicato sui punti di campionamento positivi e sulla loro zona circostante più ampia e devono essere intraprese ulteriori azioni correttive. Occorre adottare le seguenti azioni per l'analisi delle cause profonde ed evitare problemi futuri:

- a) in caso di rilevazione della *L. monocytogenes* nelle prove ambientali, si consiglia vivamente di conservare gli isolati nel caso in cui l'operatore del settore alimentare richieda ulteriori indagini (interne). Ulteriori indagini possono consistere nella caratterizzazione del ceppo, ad esempio genotipizzazione per consentire il tracciamento microbico delle fonti. In caso di risultati positivi ricorrenti delle prove per la *L. monocytogenes*, la genotipizzazione degli isolati raccolti può ad esempio fornire informazioni sul fatto che la ricorrenza della *L. monocytogenes* sia legata o meno a un particolare ceppo "interno" persistente della stessa. Tale raccomandazione è importante inoltre in caso di rilevazione positiva del campione di prodotto (cfr. sezione 5.1);
- b) occorre effettuare una pulizia e una disinfezione intensive della zona di campionamento, seguite da un monitoraggio di seguito più intensivo fino alla risoluzione della contaminazione;
- c) al fine di valutare la contaminazione potenziale degli alimenti trasformati è necessario stabilire un collegamento con i lotti di prodotti surgelati ottenuti nello stesso periodo di contaminazione ambientale positiva:
 - c1) è necessario effettuare una valutazione ben documentata dei rischi e un'osservazione/un'analisi delle tendenze in relazione ai lotti che sono stati trasformati durante

l'evento di contaminazione, tenendo conto di qualsiasi altro dato storico di contaminazione da *L. monocytogenes* sui lotti di prodotto o di prove ambientali che erano stati annotati prima dell'ultima incidenza di *L. monocytogenes* presente in azienda. Tale valutazione del rischio può comprendere, ad esempio, l'individuazione di possibili vie di contaminazione dall'ambiente di produzione verso gli alimenti, il tipo di materie prime o ingredienti utilizzati e le informazioni relative ai fornitori, eventuali attività insolite verificatesi in azienda (ad esempio, variazione del personale, lavori di costruzione in corso, variazione delle procedure di pulizia e disinfezione, uso di attrezzature stagionali, parametri diversi di processo, ecc.) e deve essere corroborata da dati relativi a prove storiche su prodotti e sull'ambiente;

c2) in assenza di risultati delle prove sul prodotto finito (dati storici) e laddove una valutazione del rischio indichi una maggiore probabilità di contaminazione dei lotti surgelati durante il periodo di rilevazione della contaminazione ambientale, si raccomanda di campionare i lotti coinvolti per confermare se il lotto o i lotti di prodotti finiti risultanti dalla fase di produzione sono risultati essere contaminati e devono essere considerati inaccettabili (si raccomanda di analizzare almeno n = 5 unità campione per lotto per la rilevazione di *L. monocytogenes* in 25 g).

In sintesi i dati storici disponibili (cfr. c1) associati a quelli di campionamento del prodotto finito temporaneamente intensificato (se necessario, cfr. c2) sui lotti di prodotti surgelati prodotti nello stesso lasso di tempo delle prove di monitoraggio ambientale che sono risultati positivi per la *L. monocytogenes*, devono dimostrare che il prodotto finito è conforme al limite intermedio stabilito per il prodotto (preferibilmente *L. monocytogenes* non rilevata in 25 g e sempre < 10 CFU/g o qualsiasi altro limite intermedio fissato, cfr. sezione 5.1). Di conseguenza è necessario disporre di una valutazione del rischio ben documentata così come di un'osservazione/un'analisi dettagliata delle tendenze che consenta di collegare i risultati del campionamento ambientale con i campioni di prodotto al fine di elaborare dati storici;

- d) è necessario valutare l'eventuale formazione di biopellicola, individuare la fonte della contaminazione e considerare azioni specifiche per la rimozione delle biopellicole;
- e) occorre adattare il programma di monitoraggio (ossia altri siti di campionamento, modifica della frequenza) al fine di garantire un monitoraggio di seguito migliore in futuro;
- f) nonché organizzare una comunicazione chiara in merito alla contaminazione riscontrata nei confronti delle persone coinvolte e competenti per la pulizia e la disinfezione, la manutenzione e le attività operative.

4.6 Procedura di screening ambientale per la *L. monocytogenes*

L'operatore del settore alimentare deve stabilire una procedura di screening ambientale che comprenda quanto segue:

- 1) identificazione dei punti di campionamento;
- 2) determinazione della superficie di campionamento (cm² da sottoporre a tampone);
- 3) definizione della frequenza del campionamento (tenendo conto dei diversi regimi di igiene e del tipo di punti di campionamento, cfr. tabella 4) nonché dei periodi di tempo di campionamento;
- 4) protocollo utilizzato per la rilevazione di *Listeria* spp. o *L. monocytogenes* in campioni ambientali in un laboratorio di controllo della qualità (cfr. EFSA, 2018b);
- 5) metodo di campionamento (tampone o altro) e trasporto dei campioni al laboratorio;
- 6) analisi delle tendenze dei risultati ottenuti al fine di individuare eventuali ulteriori misure correttive o preventive che devono essere adottate nel contesto dell'azione correttiva;
- 7) previsione di un riesame annuale della procedura di screening ambientale per gli aggiornamenti in funzione delle nuove evoluzioni nelle zone di produzione (ad esempio nuove attrezzature, suddivisione in zone funzionali diverse, ecc.), dei nuovi elementi dei metodi di produzione, ecc., al fine di mantenere aggiornata la procedura;
- 8) indicazione di una persona responsabile per l'elaborazione di tale procedura, il monitoraggio di seguito e l'adozione di azioni in caso di contaminazione potenziale;
- 9) definizione di un canale di comunicazione nell'organizzazione nel caso in cui si rilevi un risultato positivo e siano necessarie azioni correttive.

5. Specifiche per il prodotto finito e comunicazione dei rischi agli utilizzatori di ortaggi surgelati

È evidente che sebbene si disponga di PRP, un piano HACCP e un sistema di gestione per la sicurezza alimentare ben attuato, non si può escludere che alcuni prodotti surgelati in alcune occasioni possano essere contaminati da bassi livelli di *L. monocytogenes* (rilevata per 25 g ma solitamente < 10 CFU/g). La presenza di *L. monocytogenes* può verificarsi poiché il processo di produzione non prevede alcuna fase di inattivazione termica completa (la sbianchitura è concepita come trattamento termico tecnologico e non necessariamente convalidata per fornire una riduzione di 6 log di *L. monocytogenes* – cfr. piano HACCP sezione 3). Inoltre il processo di congelamento rapido è collocato dopo la sbianchitura ed è un processo aperto e di conseguenza, anche se si aderisce a un PRP rigoroso, la contaminazione con *L. monocytogenes* non può essere completamente evitata nei processi di produzione tipici e nelle infrastrutture impiegate in questo settore della produzione di ortaggi surgelati (cfr. piano HACCP sezione 3). I presenti orientamenti riguardano gli ortaggi surgelati considerati prodotti non pronti al consumo.

Di conseguenza è importante attuare una **strategia di comunicazione chiara** per informare gli utilizzatori in merito agli ortaggi surgelati siano essi soggetti B2B (come l'industria alimentare, le mense di istituzioni o attività alberghiere e di ristorazione) o B2C (ortaggi surgelati ulteriormente distribuiti ai consumatori tramite attività di vendita al dettaglio). Tale comunicazione dovrebbe avvenire non soltanto attraverso l'etichettatura o specifiche tecniche relative ai prodotti finiti, ma anche attraverso altri canali di comunicazione quali siti web, ricette, opuscoli informativi, media sociali, ecc. La comunicazione deve essere coerente per evitare fraintendimenti in merito a come conservare, scongelare e preparare o utilizzare in maniera appropriata tali verdure surgelate.

La presente sezione propone ulteriormente principi per il piano di campionamento per le prove sui prodotti finiti, i disciplinari dei prodotti finiti e le strategie di comunicazione del rischio, sulla base di prove di provocazione (allegato III) e del parere dell'EFSA (EFSA, 2020).

5.1 Prove rispetto a un limite intermedio fissato per la *L. monocytogenes* al fine di verificare il sistema di gestione per la sicurezza alimentare (FSMS)

È possibile individuare diverse strategie di campionamento dei **prodotti finiti (B2B o B2C)** (ad esempio campionamento in lotti per il rilascio dei lotti, monitoraggio volto a rilevare un tasso di prevalenza di patogeni negli alimenti sulla base di approcci statistici).

Tuttavia il campionamento è uno strumento nel contesto della **verifica del FSMS**, per ottenere informazioni sulla sicurezza degli alimenti prodotti con il processo di produzione in atto e il sistema di gestione per la sicurezza alimentare attuato. Le prove sul prodotto finito riflettono l'integrazione efficace di tutte le fasi di prevenzione e controllo nella formulazione e nella fabbricazione dell'alimento immesso sul mercato (Zwietering et al., 2016). Un **campionamento condotto durante tutto l'anno** nel contesto della verifica consentirà all'operatore del settore alimentare di ottenere informazioni sulla variabilità della contaminazione e consentirà l'osservazione/l'analisi delle tendenze (ad esempio in quale periodo dell'anno o per quale tipo di ortaggi surgelati si riscontrano maggiori problemi e quale potrebbe esserne la ragione?). Le dimensioni effettive del campione (o il numero di campioni) per le prove sul prodotto finito nel contesto di una verifica del sistema di gestione per la sicurezza alimentare sono spesso determinate dal punto di vista di ciò che è economicamente fattibile e/o delle esigenze dei clienti. Tali **piani di campionamento casuale di convenienza** sono noti anche come piani di campionamento pragmatici o empirici (CAC, 2004). Il numero e il tipo di campioni sono selezionati per lo più intuitivamente, sulla base dell'esperienza e delle conoscenze del responsabile della qualità o del responsabile delle operazioni presso il sito di produzione in merito ai luoghi e ai tempi di campionamento (Uyttendaele et al., 2018).

Nella produzione e nella commercializzazione di ortaggi surgelati, gli operatori del settore alimentare attivi nella produzione di ortaggi surgelati devono elaborare un **piano di campionamento del prodotto finito da svolgere durante tutto l'anno nel contesto della verifica del sistema di gestione per la sicurezza alimentare** con l'obiettivo di verificare le misure di prevenzione e controllo attuate nel controllo di *L. monocytogenes* (figura 1). Nel piano di campionamento occorre stabilire il numero di campioni di prodotto finito prelevati annualmente per ortaggi surgelati diversi come prodotti finiti (B2B o B2C) così come la frequenza di campionamento (o l'intervallo tra i campionamenti), tenendo conto dei seguenti aspetti:

- categorie diverse di prodotti surgelati (tipo di ortaggi, prodotti singoli o misti);
- tipo di processo di produzione (sbianchito/non sbianchito);
- volume di produzione;
- potenziale sensibilità in relazione alla presenza di *L. monocytogenes*;
- stagionalità della produzione;
- potenziale in termini di sostegno alla crescita o crescita inesistente (cfr. punto 4.1);
- ecc.

Per un piano di campionamento di verifica da condurre durante tutto l'anno, i campioni vengono analizzati per stabilire la rilevazione o meno di *L. monocytogenes* in 25 g. Se la *L. monocytogenes* viene rilevata in 25 g, è necessario effettuare un ulteriore conteggio, sugli stessi campioni, per verificare se i limiti intermedi fissati vengono raggiunti (< 10 CFU/g). Tuttavia è probabile che a causa della distribuzione eterogenea di una contaminazione da *Listeria monocytogenes* in un lotto, alcuni prodotti siano contaminati mentre altri no. Di conseguenza è possibile che si ottengano risultati diversi analizzando nuovamente lo stesso campione. Nel piano di campionamento da attuare durante tutto l'anno, si consiglia pertanto di eseguire di tanto in tanto il conteggio diretto della *Listeria monocytogenes* (ad esempio, ogni x campioni, conteggio diretto della *L. monocytogenes* per dimostrare che il limite intermedio di < 10 CFU/g non viene superato). I protocolli analitici di riferimento sono la norma EN ISO 11290 parte 1 (rilevazione di *L. monocytogenes* negli alimenti) e parte 2 (conteggio della *L. monocytogenes* negli alimenti) oppure metodi rapidi equivalenti (convalidati conformemente alla norma ISO 16140). In caso di esito positivo della rilevazione, può essere utile fare

caratterizzare ulteriormente gli isolati (tipizzazione) da parte di un laboratorio nazionale di riferimento riconosciuto oppure dal laboratorio di riferimento dell'Unione europea per la *L. monocytogenes* (EURL *L. monocytogenes*) (EFSA, 2018b). In caso di risultati positivi ricorrenti delle prove per la *L. monocytogenes*, la genotipizzazione degli isolati raccolti può ad esempio fornire informazioni sul fatto che la ricorrenza della *L. monocytogenes* sia legata o meno a un particolare ceppo "interno" persistente della stessa (cfr. anche azioni correttive: per il monitoraggio ambientale, parte 4.5). Inoltre, sulla base del campionamento sul prodotto finito, è possibile elaborare **un'analisi/un'osservazione delle tendenze** per ottenere approfondimenti sulle potenziali contaminazioni dei prodotti e sulle fonti di contaminazione per i fattori di cui sopra.

5.2. Specifiche per il prodotto finito e comunicazione del rischio

I presenti orientamenti riguardano gli ortaggi surgelati considerati prodotti non pronti al consumo. Tuttavia PROFEL considera che alcuni consumatori (professionisti o meno) potrebbero non leggere l'etichetta e tiene conto dell'"uso improprio ragionevolmente prevedibile", cioè che alcuni di tali ortaggi surgelati vengano utilizzati come prodotti pronti al consumo e non vengano cotti prima del consumo. Inoltre il settore tiene conto degli "usi impropri ragionevolmente prevedibili" di alcuni consumatori che non scongelano adeguatamente gli alimenti o non li riscaldano a fondo (meno di 2 minuti a 70 °C).

Il settore mira pertanto a prevenire, mediante le migliori pratiche stabilite negli orientamenti, la contaminazione degli alimenti surgelati con *L. monocytogenes* (cioè non si registra il valore obiettivo in 25 g) e, sulla base di prove di provocazione (cfr. allegato III), compreso l'uso improprio ragionevolmente prevedibile nello scongelamento in condizioni di refrigerazione (prove di provocazione effettuate in frigorifero a 9 ± 1 °C, ossia a una temperatura superiore a quella raccomandata sull'etichetta, e utilizzando un isolato di *L. monocytogenes* a crescita rapida recuperato dall'evento focolaio di mais dolce surgelato del 2018), ha fissato un limite intermedio pari a < 10 CFU/g.

Occorre osservare che la possibilità di ottenere risultati falsi positivi è bassa adottando tanto il metodo di rilevazione di *L. monocytogenes* (ISO 11290-1) quanto quello del conteggio *L. monocytogenes* (ISO 11290-2) oppure metodi di rilevazione rapida convalidati (ISO 16140) equivalenti, ma che, in effetti, una distribuzione batterica non omogenea potrebbe ben spiegare la discordanza tra i risultati se si esegue il conteggio e la rilevazione su un sottocampione diverso del lotto, in particolare per i conteggi bassi. Va inoltre osservato che il campionamento e l'analisi sono soggetti a restrizioni per garantire la sicurezza alimentare di una partita di alimenti (maggiori informazioni: sito web ICMSF, <http://www.icmsf.org/>).

Sulla base delle prove di provocazione (cfr. allegato III), del parere dell'EFSA (2020) e della discussione di esperti nel quadro dell'elaborazione dei presenti orientamenti in materia di igiene, **per gli ortaggi surgelati (in qualità di prodotti non pronti al consumo) si propongono le seguenti specifiche per il prodotto finito, associate all'etichetta del prodotto e alla comunicazione del rischio:**

	Valore obiettivo – dopo la produzione	Limite intermedio – dopo la produzione	Per tutta la durata di conservazione durante il magazzinaggio congelato e lo scongelamento/ conservazione in frigorifero
<i>L. monocytogenes</i>	Non rilevabile in 25 g a)	< 10 CFU/g b)	≤ 100 CFU/g c)

¹Si osservi che gli ortaggi surgelati sono considerati alimenti non pronti al consumo.

- a) obiettivo in caso di rispetto degli orientamenti in materia di igiene a livello di settore proposti per la produzione di ortaggi surgelati nel contesto del controllo della *L. monocytogenes*;
- b) anche in presenza di PRP, di un piano HACCP e di un sistema di gestione per la sicurezza alimentare ben attuato, non si può escludere che occasionalmente gli ortaggi surgelati siano contaminati con livelli bassi di *L. monocytogenes*, pertanto il limite intermedio può essere fissato a < 10 CFU/g;

- c) obiettivo di sicurezza alimentare per la *L. monocytogenes* al fine di garantire alimenti sicuri ai consumatori (per il gruppo di popolazione non sensibile: per la definizione si rimanda alla sezione 5.2.2).

5.2.1. Comunicazione del rischio mediante l'etichetta del prodotto

Tenendo conto dei risultati delle prove di provocazione per la *L. monocytogenes* per valutare il comportamento del patogeno durante lo scongelamento/la conservazione in frigorifero di ortaggi congelati in condizioni ragionevolmente prevedibili a casa del consumatore (cfr. allegato III), si raccomandano ulteriori attività di comunicazione del rischio e informazione a favore degli utilizzatori sull'etichetta del prodotto, tramite specifiche tecniche, informazioni sul sito web e nei media sociali, ecc. Sulla base dei risultati e del diverso potenziale di crescita della *L. monocytogenes* ottenuti dalle prove di provocazione (allegato III) e dalla modellizzazione della crescita eseguita dall'EFSA (EFSA, 2020), si raccomanda di utilizzare una comunicazione del rischio diversa per il granturco dolce surgelato e le patate dolci surgelate rispetto ad altri ortaggi surgelati.

1) Per il granturco dolce e le patate dolci surgelati:

dato il potenziale di crescita stabilito per la *L. monocytogenes* è superiore a 1 log₁₀ entro le 24 ore del periodo di scongelamento/conservazione in frigorifero, il granturco dolce e le patate dolci surgelati dovrebbero essere considerati alimenti surgelati non pronti al consumo.

Si raccomanda pertanto di effettuare una comunicazione coerente e a livello di settore rivolta al consumatore attraverso l'etichetta dell'imballaggio per la rivendita al dettaglio. L'etichetta dei prodotti finiti imballati in caso di imballaggi B2B o B2C deve indicare chiaramente:

- (1) le condizioni per un'adeguata conservazione nel congelatore (tempo/temperatura) a - 18 °C e - 12 °C;
- (2) consigli sull'uso dei prodotti:
 - a. *la necessità di cottura (prodotto non pronto al consumo) e istruzioni di cottura (ad esempio modalità, tempo e temperatura)*;*
 - b. *"non scongelare prima della cottura" (non si consiglia lo scongelamento e la conservazione in frigorifero preventivo/non consumare in assenza di riscaldamento completo, cioè per almeno 2 minuti a una temperatura superiore a 70 °C).*

* Inoltre il consumo di ortaggi surgelati come alimenti pronti da parte degli utilizzatori finali può essere scoraggiato richiamando le istruzioni per la preparazione (suggerimenti vari di trattamento termico) sull'etichetta.

2) Altri ortaggi surgelati:

dato che il potenziale di crescita stabilito per la *L. monocytogenes* è inferiore a 1 log₁₀ entro le 24 ore del periodo di scongelamento/conservazione in frigorifero, gli altri ortaggi sottoposti a prove di provocazione (piselli, pastinaca, cavolo bianco) e gli altri ortaggi surgelati inclusi nella categorizzazione degli ortaggi surgelati e che hanno ottenuto un punteggio che ne attesta un rischio inferiore rispetto ai cinque ortaggi surgelati selezionati che hanno fatto parte delle prove di provocazione per la *L. monocytogenes* (cfr. allegato III) non devono essere scongelati o sottoposti a conservazione in frigorifero per più di 24 ore. Anche questi ortaggi sono utilizzati come alimenti non pronti al consumo.

Si raccomanda di effettuare la seguente comunicazione coerente e a livello di settore rivolta al consumatore attraverso l'etichetta dell'imballaggio per la rivendita al dettaglio. L'etichetta dei prodotti finiti imballati in caso di imballaggi B2B o B2C deve indicare chiaramente:

- (2) le condizioni per un adeguato magazzinaggio congelato (tempo/temperatura) a - 18 °C e - 12 °C;
- (3) consigli sull'uso dei prodotti:
 - a. *la necessità di cottura (prodotto non pronto al consumo) e istruzioni di cottura (ad esempio modalità, tempo e temperatura)*;*
 - b. *istruzioni di scongelamento (se necessario);*

- c. *limitazione dello scongelamento e del magazzinaggio refrigerato fino a un massimo di 24 ore a 5-7 °C**.*

* Inoltre il consumo di ortaggi surgelati come alimenti pronti da parte degli utilizzatori finali può essere scoraggiato richiamando le istruzioni per la preparazione (suggerimenti vari di trattamento termico) sull'etichetta.

** La temperatura di refrigerazione compresa tra 5 °C e 7 °C o su specifica dell'autorità nazionale competente, dato che la legislazione nazionale in materia di temperatura del prodotto può differire tra gli Stati membri dell'UE.

5.2.2. Comunicazione del rischio a gruppi sensibili

Nel caso in cui gli ortaggi surgelati siano destinati alla ristorazione collettiva o a servizi destinati a consumatori sensibili, tali ortaggi surgelati devono essere considerati prodotti non pronti al consumo ed è pertanto obbligatorio un trattamento termico adeguato durante la preparazione, che deve essere comunicato in modo chiaro al responsabile della ristorazione collettiva o al gruppo sensibile alla listeriosi, in particolare a donne in gravidanza, anziani di età superiore ai 74 anni e pazienti immunocompromessi, ossia quelli affetti da malattie soggiacenti riconosciute quali malattie epatiche, cancro, diabete o sottoposti a trapianto di organi. Tali gruppi di persone le cui condizioni di base erano associate all'incidenza più elevata di listeriosi rappresentano circa l'1 % della popolazione totale (in Francia), ma rappresentavano il 43 % dei casi e il 55 % dei decessi (Goulet et al., 2012). Aniché rivolgersi direttamente a tali persone, potrebbe altresì essere utile informare chiaramente il personale medico, gli operatori sanitari, coloro che li assistono o coloro che forniscono indicazioni dietetiche a tali persone in merito alla necessità di condizioni di scongelamento appropriate ("*Limitazione dello scongelamento e del magazzinaggio refrigerato fino a un massimo di 24 ore a 5-7 °C*") e per tutti gli ortaggi surgelati sottolineare la "*necessità di cuocere bene per almeno 2 minuti a temperature superiori di 70 °C*" prima del consumo.

La comunicazione rivolta a tali gruppi di consumatori sensibili è un'iniziativa che deve essere intrapresa anche dalle agenzie sanitarie pubbliche, dalle autorità preposte alla sicurezza alimentare o dalle organizzazioni non governative attive in questo settore dell'assistenza sanitaria. Tuttavia è anche una responsabilità condivisa con altri portatori di interessi della catena alimentare: in particolare, quando gli ortaggi surgelati vengono venduti in contesti B2B a servizi di ristorazione che servono ospedali o strutture di assistenza residenziale, occorre prendere in considerazione questo tipo di comunicazione del rischio.

In ogni caso gli ortaggi surgelati rimangono l'alternativa migliore (e unica), se adeguatamente trattati termicamente prima del consumo, per le persone con condizioni sottostanti riconosciute o malattie che compromettono l'immunità cellulo-mediata nonché per le donne in gravidanza per mangiare ortaggi (nell'ambito di una dieta sana) dato che il consumo di prodotti freschi per questo tipo di gruppi sensibili che necessitano di una dieta a bassa carica microbica (neutropenica) non è raccomandato.

Alcuni orientamenti per queste persone/operatori socio-sanitari sono disponibili consultando i seguenti collegamenti:

- <https://www.health.belgium.be/nl/advies-9311-listeriose> e l'allegato presente in tale documento scaricabile (in lingua neerlandese e francese) che contiene numerosi collegamenti a raccomandazioni in vari paesi;
- <https://www.food.gov.uk/research/research-projects/development-of-an-initial-report-for-reducing-the-risk-of-vulnerable-groups-contracting-listeriosis> o <https://www.food.gov.uk/sites/default/files/media/document/listeria-guidance-june2016-rev.pdf>.

Annex I: legal references

Commission Notice C278/2016. Commission notice on the implementation of food safety management systems covering prerequisite programs (PRPs) and procedures based on the HACCP principles, including the facilitation/flexibility of the implementation in certain food businesses (2016/C 278/01). Official Journal of the European Union: C 278/271-C 278/232.

Commission Notice C163/2017. Commission notice on guidance document on addressing microbiological risks in fresh fruits and vegetables at primary production through good hygiene (2017/C 163/01). Official Journal of the European Union: C 163/1

Directive (EC) 89/109. Council Directive 89/108/EEC of 21 December 1988 on the approximation of the laws of the Member States relating to quick-frozen foodstuffs for human consumption

Regulation (EC) No 178/2002 Regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety. OJ L 31, 1.2.2002, p. 1–24

Regulation (EC) No 852/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on the hygiene of foodstuffs. OJ L 139, 30.4.2004, p. 1–54

Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. OJ L 338, 22.12.2005, p. 1–26
Regulation (EC) No 528/2012 of 22 May 2012 concerning the making available on the market and use of biocidal products.

Annex II: other references

AFFI (American frozen food institute). *Listeria* control Plan. www.affifoodsafety.org.

Buchanan, R. L., Gorris, L. G. M., Hayman, M. M., Jackson, T. C., & Whiting, R. C. (2017). A review of *Listeria monocytogenes*: an update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. *Food Control*, 75, 1–13.

CAC (1976). Code of Practice for the processing and handling of quick-frozen foods (CAC/RCP 8-1976).

CAC (2004). CAC/GL 50-2004 General guidelines on sampling.

CAC (2007). Guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of *Listeria monocytogenes* in foods. CAC/GL 61 - 2007

CAC (2015). Standard for quick-frozen vegetables CXS 320-2015

Devlieghere, F., Rajkovic, A., Samapundo, S., Uyttendaele, M., Vermeulen, A., Jacxsens, L., Debevere, J. (2013). Food microbiology and analysis. Laboratory of Food Microbiology and Food Preservation, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University.

ECDC (2016). https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/AER_for_2016-listeriosis.pdf

EFSA (2018a). Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* serogroup IVb, multi-locus sequence type 6, infections linked to frozen corn and possibly to other frozen vegetables – first update. doi:10.2903/sp.efsa.2018.EN-1448

EFSA (2018b). Urgent scientific and technical assistance to provide recommendations for sampling and testing in the processing plants of frozen vegetables aiming at detecting *Listeria monocytogenes*. EFSA-2018-0141. EFSA Journal.

EFSA and ECDC (2018). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. EFSA Journal 2018;16(12):5500, 262 pp

EFSA (2020). The public health risk posed by *Listeria monocytogenes* in frozen fruit and vegetables including herbs, blanched during processing. EFSA Journal 2020;18(4):6092. doi: 10.2903/j.efsa.2020.6092

EN ISO 11290 part 1 (2017). Microbiology of the food chain – horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. – part 1: detection method. International organization for standardization, Geneva.

EN ISO 11290 part 2 (2017). Microbiology of the food chain – horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. – part 2 : enumeration method. International organization for standardization, Geneva.

EN ISO 18593 (2018). Microbiology of the food chain – Horizontal methods for surface sampling. International organization for standardization, Geneva.

EURL-*L. monocytogenes* (2012). Guidelines on sampling the food processing area and equipment for the detection of *L. monocytogenes*. Version 3 – 20/08/2002.

EURL – *L. monocytogenes* (2019). Technical guidance document for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Version 3 of 6 June 2015 - Amendment 1 of 21 February 2019.

Goulet V, Hebert M, Hedberg C, Laurent E, Vaillant V, De Valk H, Desenclos JC. (2012). Incidence of listeriosis and related mortality among groups at risk of acquiring listeriosis. Clin Infect Dis. 1;54(5):652-60.

ICMSF : <http://www.icmsf.org/>

Lakshmikantha, C. (2013). Environmental Monitoring Program: An Early Warning System for Microbiological Hazards. *Quality Assurance and Food Safety*. <https://www.qualityassurancemag.com/article/aib1213-environmental-monitoring-program>

McLauchlin, J., Mitchell, R. T., Smerdon, W. J., & Jewell, K. (2004). *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. *International Journal of Food Microbiology*, 92(1), 15–33.

Pocheville, A.(2015).The Ecological Niche: History and Recent Controversies. In Heams, Thomas; Huneman, Philippe; Lecointre, Guillaume; et al. (eds.). Handbook of Evolutionary Thinking in the Sciences. Dordrecht: Springer. pp. 547–586. ISBN 978-94-017-9014-7.

Turner, D.E., Daugherty, E.K., Altier, C. and Maurer K.J. (2010). Efficacy and Limitations of an ATP-Based Monitoring System. J Am Assoc Lab Anim Sci. 2010 Mar; 49(2): 190–195.

Uyttendaele, M., De Loy-Hendrickx, A., Vermeulen, A., Jacxsens, L., Debevere, J. en Devlieghere, F. (2018). Microbiological guidelines : support for interpretation of microbiological test results of foods. Die Keure, ISBN978 2 87403 503 6.

Van Walle I., Björkman J.T., Cormican M., Dallman T., Mossong J., Moura A., Pietzka A., Ruppitsch W., Takkinen J., European *Listeria* WGS typing group. Retrospective validation of whole genome sequencing-enhanced surveillance of listeriosis in Europe, 2010 to 2015. Euro Surveill. 2018;23(33) via <https://ecdc.europa.eu/en/listeriosis/microbiology>

Zoellner, C., Jennings, R., Wiedmann, M. and Ivanek, R. (2019). EnABLE: an agent-based model to understand *Listeria* dynamics in food processing facilities. Nature Scientific reports (www.nature.com/scientific reports), <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30679513>

Zwietering, M.H., Jacxsens, L., Membre, J.M., Nauta, M. and Peterz, M. (2016). Relevance of microbial finished product testing in food safety management. *Food Control*, 60, 31-43.

Annex III: Technical report on challenge testing to assess behaviour of *Listeria monocytogenes* during defrosting/refrigerated storage of frozen vegetables under reasonably foreseen conditions at consumer's home

1) Set-up of the *L. monocytogenes* challenge testing

- i. Categorization of vegetables: To identify the most relevant products for the challenge tests, a categorization of frozen vegetables was made based on characteristics such as pH, sugar content, anti-bacterial compounds, nutrient level, structure/texture of the product.
- ii. Refrigeration time: after discussion, it was agreed that tests should not be performed in ambient temperature; this falls out of the responsibility of the producer. The tests should focus on growth potential during shelf life (meaning up to 24h in the fridge). In order to evaluate one step further, it was agreed to make an analysis also after 48h in the fridge.
- iii. Refrigeration temperature: It was agreed to use a temperature of 9°C (as accepted/recommended temperature for *L. monocytogenes* challenge testing in Belgium (by FASFC) & the Netherlands (NVWA) and supported by the data presented by Roccatto et al. (2017) as published in the peer reviewed journal of Food Research International (2017: 96, 171–181) to mimic reasonably foreseen abuse both for countries of the South and North of EU.
- iv. Batches: it was agreed to work with 3 batches of the selected frozen vegetable from 3 different producers, if possible. The first batch was delivered to the lab/subjected to testing in March, the 2nd batch was delivered to the lab/subjected to testing in April-May; the 3rd batch was delivered to the lab/subjected to testing in July-August 2019;
- v. Sample size: it was agreed to use samples of 200g, the equivalent of a consumer portion of frozen vegetables (per sampling time a single pack of 200g was prepared and inoculated; a minimum of 150g is required for all the analyses scheduled).
- vi. *L. monocytogenes* strains: The challenge test was performed by the academic service laboratory of the Food Microbiology and Food Preservation research unit at Ghent University (FMFP-UGent) which has a track record of elaborating challenge testing using a cocktail of 3 *L. monocytogenes* strains (LMG 23194, LMG 23192, LMG 26484; for more information on the strains refer to www.bccm.belspo.be/catalogues/lmg-catalogue-search). In addition to these 3 strains, a fourth *L. monocytogenes* strain was added to the cocktail: *L. monocytogenes* ST6 strain, isolated from frozen vegetables/production environment related to the outbreak as described in EFSA/ECDC (2018) (Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* serogroup IVb, multi-locus sequence type 6, infections linked to frozen corn and possibly to other frozen vegetables – first update. EFSA supporting publication 2018:EN-1448. 19 pp. doi:10.2903/sp.efsa.2018.EN-1448)
- vii. Inoculum level: in accordance to the Technical guidance document on shelf-life studies for *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods” (EU-RL *Listeria*, June 2014) an inoculum of ca. 100 CFU/g was used (inoculum range from 30-300 CFU/g).
- viii. Inoculation procedure: frozen vegetables (large packs) were delivered by the frozen vegetable company to the lab and stored at -18°C. Shortly after arrival, from the large frozen packs, (without defrosting) individual frozen packs of 200g were pre-weighted and packed under air in a high barrier foil and stored frozen for maximum 2 weeks before inoculation. Next, these individual pre-weighted (200 g) frozen packs were thawed overnight (in a refrigerator of 4°C) and were inoculated with 400 µl of an inoculum (ca. 1×10^5 CFU/ml) of a cocktail of the 4 selected *Listeria monocytogenes* strains (LMG 23194, LMG 23192, LMG 26484 and LFMFP 1049) to obtain an inoculum of approximately 100 CFU/g. Strains were separately cultured: first 24 hours at 37°C followed by a subculture in fresh medium incubated for 3 days at 7°C for strain LFMFP 1049 (the ST 6 strain)

isolated from frozen vegetables/production environment during the 2018 EU outbreak) and for 4 days at 7°C for the other 3 strains (during prior trial characterizing growth characteristics of the ST6 outbreak strain, it was shown to grow faster than the other 3 strains). Inoculation was performed by dripping the culture suspension on the semi-thawed (overnight at 4°C) vegetable packs. Immediately after inoculation, the inoculated 200g semi-thawed vegetable packs were closed/sealed and again put at -18°C for 14 days.

ix. **Sampling and testing:** The frozen packages were taken from the freezer and put in a refrigerator at 9°C for 24 hours to defrost (refer to temperature profile in results section). Three replicate samples were tested in parallel (test 1, test 2 and test 3). For all replicate samples (test 1, 2, 3) enumeration of *L. monocytogenes* was performed after 14 days at -18°C (day 0) and after 1 and 2 days of defrosting (24 and 48h storage in a 9±1°C refrigerator). The enumeration of *L. monocytogenes* was performed under ISO 17025 accreditation.

Note: For one of the replicate samples (test 1) the total aerobic count, lactic acid bacteria and pH were determined before inoculation, after 14 days storage at -18°C and after 1 and 2 days of defrosting (24 and 48 hours at 9°C). For all replicate samples (test 1, 2, 3) *Listeria monocytogenes* detection (presence or absence per 25g) and pH and a_w was measured on the blank sample before inoculation. The blank samples were inoculated with 400 µl diluent (Physiological saline solution).

2) Results on the categorization of vegetables

The following food characteristics were taken into account:

- Specific vegetable category
- pH (minimum and maximum)
- sugar and starch content
- Presence of anti-*Listeria* component
- Blanching
- Cut surface

pH, sugar and starch content were used to group the various specific vegetable categories in main groups. Furthermore, all products containing anti-*Listeria* components were classified in a separate group. The other characteristics such as blanching and cut surface were used to determine which vegetable type will be selected in due time for challenge testing to assess the growth potential of *L. monocytogenes* within these (main) groups.

i. Specific vegetable categories

Products were classified in eleven different categories based on the EFSA Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin Part 1 (outbreak data analysis and risk ranking of food/pathogen combinations) (EFSA Journal 2013, 11, 3025). Products were classified according to the 'General commodity category'. Only in a few cases was this category further split into the mentioned specific categories.

ii. Classification according to pH

pH values were obtained from a list published on PickYourOwn.org and uses following references:

- a. Anon. 1962. pH values of food products. Food Eng. 34(3): 98-99.
- b. Bridges, M. A., and Mattice, M.R. 1939. Over two thousand estimations of the pH of representative foods, American J. Digestive Diseases, 9:440-449.
- c. Warren L. Landry and et al. 1995. Examination of canned foods. FDA Bacteriological Analytical Manual, 8th Ed. Chapter 21, Table 11, AOAC International, Gaithersburg, MD 20877
- d. Grahn M.A. 1984. Acidified and low acid foods from Southeast Asia. FDA-LIB

Based on the reported maximum pH of the vegetable, they were classified as follows:

- pH < 4.4: not relevant as pH is lower than the pH_{min} for challenge test according to EU Reg. 2073/2005
- 4.4 < pH < 5.0: low risk

- 5.0 < pH < 6.0: medium risk
- pH > 6.0: high risk

iii. Classification according to sugar and starch content

Sugar and starch content were based on the Belgian nutrition table (Nubel). All values were based on fresh products since for most of the vegetables, no data on nutritional composition of their frozen forms were present. Products were classified for sugar and starch content in three categories:

- Low content: < 1%
- Medium content: between 1 and 4% for sugar; between 1 and 5% for starch
- High content: more than 4% for sugar; more than 5% for starch

iv. Classification according to presence of anti-*Listeria* component

It has been reported that *Allium* species from the *Alliaceae* family contain allicin derivative products and sulfur components which have shown antimicrobial activity (Mnayer et al., 2014). Also, carrots are reported to contain anti-*Listeria* components which have shown reduction of *L. monocytogenes* in ready-to-eat carrots during refrigerated storage (Sant' Ana et al. 2012). Products were only divided into either "no reports found" or "reports published on presence of anti-*Listeria* components" (no detailed information on the concentration of these components is known).

v. Blanching as a risk factor

Products are classified in three groups: blanched (yes), not blanched (no) or both (multiple).

Note that blanching is a technological heat treatment, the main objective being to inactivate enzymes that cause product degradation with quality loss. However, blanching can also accomplish some microbiological inactivation. The exact level of *Listeria monocytogenes* reduction will depend on the process conditions applied (time/temperature). Although blanching may cause inactivation of the pathogen, as a technological treatment, it may cause loss of texture and soften the vegetable which might facilitate growth of *L. monocytogenes* (if only mild heat treatment was used and/or the blanched product was prone to post-contamination). After discussion with the expert group, 'blanching' was not taken into account to classify the products in the different main categories because the use of a blanching step might vary for the same vegetable type across product varieties batches/producing companies

vi. Cut surface as a risk factor

Products were classified in different groups:

- Absent: intact
- Low: only one cut surface
- Medium: more than one cut surface (e.g. after peeling)
- High: shredded

If the vegetable food type appeared in more than one variety, the cut surface was classified as 'multiple'. After discussion with the expert group, these differences in cut surface were not taken into account to classify the products in the different main categories because they might vary for the same vegetable type across product varieties batches/producing companies, but this factor was used to define within one (main) group which product type to be used to perform the challenge test.

Conclusion: 4 main risk groups and selection of frozen vegetables subjected to *L. monocytogenes* challenge testing

Based on the attribution of risk classification (based upon pH, sugar & starch content and presence of anti-Listeria components) to the various specific categories; four main risk groups could be established

4 main groups

1.	Score 0 (contain anti-Listeria component)
2.	Score < 0.2
3.	Score 0.2 to < 0.35
4.	Score ≥ 0.35

The result of the scoring for the main frozen vegetables being set to the EU market is as follows.

Based on the scoring, the following frozen vegetables which belonged to the main category with the highest score (> 0.35) were selected for further *L. monocytogenes* challenge testing:

- o Sweet corn Kernels
- o Sweet Potatoes
- o Peas
- o Parsnips

In addition

- o white cabbage

was taken up for *L. monocytogenes* challenge testing. White cabbage was added to include a frozen vegetable in the 'leafy green' group and also considering the history of implication of cabbage in a *L. monocytogenes* outbreak. (Cabbage also belonged to the one but highest scoring group (Score 0.2 to < 0.35).

3) Results of growth potential of *L. monocytogenes* in frozen vegetables: the EU-RL Guideline interpretation

The growth potential of *L. monocytogenes* in three batches of the five selected vegetables defrosted at 24h & 48h at 9°C after freezing at -18°C for 14 days is shown in Table 1. It is to be noted that Day 0 is not the day of *L. monocytogenes* inoculation (this was done at day -14). Day 0 rather represents the start of defrosting, when the 200 g packs of prior *L. monocytogenes*-inoculated frozen vegetables were transferred to the refrigerator. For temperature profile during defrosting/refrigerated storage, refer to section 4.

Calculating the growth potential

According to the EU RL technical guidance document (EURL, 2019) the growth potential (log CFU/g) is defined as the difference between the median of results (three replicates) at the end of the challenge test and the median of the results at the beginning of the challenge test (three replicates). It should be noted that in some EU Member States, the national competent authorities (e.g. NVWA in the Netherlands) have decided that if the maximum difference between the three replicates at the end of shelf life is higher than 0.5 log CFU/g, not the median but the highest value of the three replicates should be taken.

Interpretation of the test results of a challenge test to assess growth potential

According to the EU RL technical guidance document (EURL, 2019), a growth potential higher than 0.5 log CFU/g indicates that the food is able to support the growth of *L. monocytogenes* during the shelf-life according to used time-temperature profile. The target value at the end of the manufacturing process should always remain 'absence in 25 g'. Depending on the growth potential that was established during challenge testing, a certain intermediate limit can be obtained (Table 2).

Table 2 Intermediate limit at the end of the manufacturing process in relation to the calculated growth potential.

Growth potential (log CFU/g) during shelf life, when products are set to the market, as determined by challenge testing	Intermediate limit at the end of the manufacturing process to prevent the pathogen exceeding 100 CFU/g at the end of shelf life
Negative or Between 0.00 and 0.49	< 100 CFU/g
Between 0.50 and 0.99	< 10 CFU/g
Between 1.00 and 1.99	< 1 CFU/g or absence per g
Between 2.00 and 2.99	Absence in 10 g
More than 3.00	Absence per 25 g

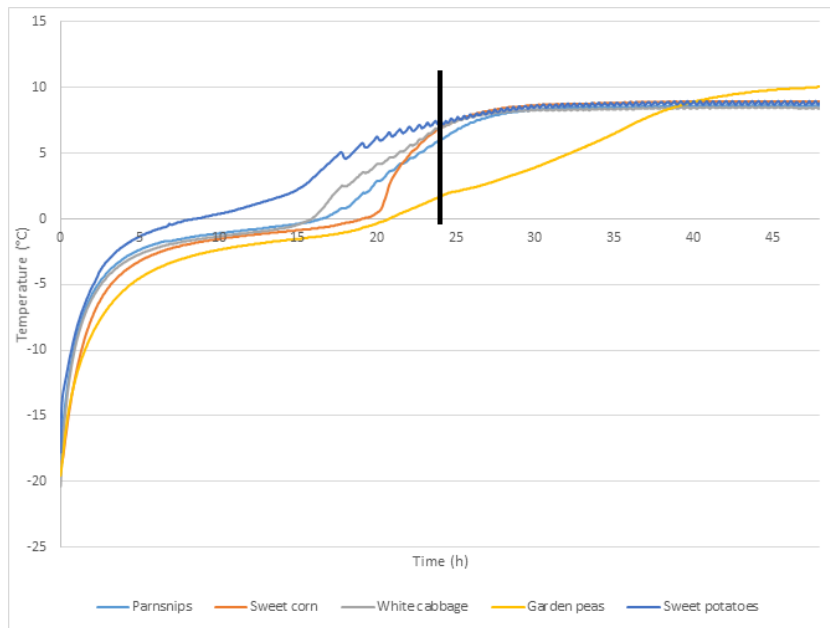
Table 1 *L. monocytogenes* growth potential after 24h & 48h defrosting in a refrigerator at 9°C

Batch 1							Growth potential Day 1		Growth potential Day 2	
vegetable	Batch	replicate	pH	Day 0	Day 1	Day 2	EU	NVWA	EU	NVWA
Garden peas	1	1	6,42	1,78	2,52	3,28	0,62	0,62	1,26	1,26
		2	6,44	2,18	2,4	3,04				
		3	6,48	1,6	2,2	2,88				
Parsnip	1	1	6,2	2,15	2,28	2,98	0,13	0,13	0,96	0,96
		2	6,11	2,28	2,23	3,11				
		3	6,12	1,7	2,32	3,11				
Sweetcorn	1	1	6,69	2	2,74	3,43	0,69	0,69	1,37	1,89
		2	6,76	2,08	2,88	3,45				
		3	6,76	2,46	2,77	3,97				
Sweet potatoes	1	1	6,09	1,6	2	3	0,89	0,97	1,76	1,97
		2	6,09	1	2,49	3,36				
		3	5,88	2,15	2,57	3,57				
White cabbage	1	1	6,04	1,6	2,04	1,6	0,44	0,44	0	0
		2	6,01	1,95	2	1,7				
		3	6,01	1,48	2,08	1,6				
Batch 2							Growth potential Day 1		Growth potential Day 2	
vegetable	Batch	replicate	pH	Day 0	Day 1	Day 2	EU	NVWA	EU	NVWA
Garden peas	2	1	6,86	1,70	3,04	2,97	0,70	0,70	0,85	0,85
		2	6,91	2,11	2,81	3,04				
		3	6,95	2,34	2,76	2,87				
Parsnip	2	1	6,27	1,60	2,76	3,71	0,85	0,85	1,71	1,71
		2	6,16	1,90	2,83	3,61				
		3	6,16	2,15	2,62	3,53				
Sweetcorn	2	1	7,4	1,60	2,88	4,20	1,10	1,10	2,35	2,38
		2	7,4	2,32	3,04	4,00				
		3	7,49	1,85	2,95	4,23				
Sweet potatoes	2	1	6,2	2,00	3,34	3,63	0,71	1,26	1,58	1,61
		2	6,21	2,20	2,78	3,69				
		3	6,14	2,08	2,79	3,66				
White cabbage	2	1	6,4	1,48	2,54	3,53	0,59	0,59	1,79	1,79
		2	6,46	2,04	2,57	4,00				
		3	6,5	1,95	2,52	3,74				
Batch 3							Growth potential Day 1		Growth potential Day 2	
vegetable	Batch	replicate	pH	Day 0	Day 1	Day 2	EU	NVWA	EU	NVWA
Garden peas	3	1	6,85	1,60	2,43	3,66	0,73	0,73	2,16	2,16
		2	6,86	1,90	2,67	3,86				
		3	6,83	1,70	2,40	3,86				
Parsnip	3	1	6,31	2,26	2,68	3,81	0,33	0,33	1,73	1,73
		2	6,3	1,85	2,41	3,99				
		3	6,33	2,08	2,41	3,81				
Sweetcorn	3	1	7,22	1,70	3,00	3,57	1,28	1,28	1,87	2,02
		2	7,25	1,70	2,98	3,51				
		3	7,23	1,85	2,94	3,72				
Sweet potatoes	3	1	6,08	1,85	2,73	3,23	0,23	0,55	1,08	1,12
		2	6,19	2,34	2,41	3,26				
		3	6,08	2,18	2,40	3,30				
White cabbage	2	1	6,41	2,04	2,54	2,93	0,50	0,50	0,80	0,80
		2	6,38	2,04	2,65	2,84				
		3	6,41	2,41	2,36	2,84				

4) Time-Temperature profiles of frozen vegetables during defrosting

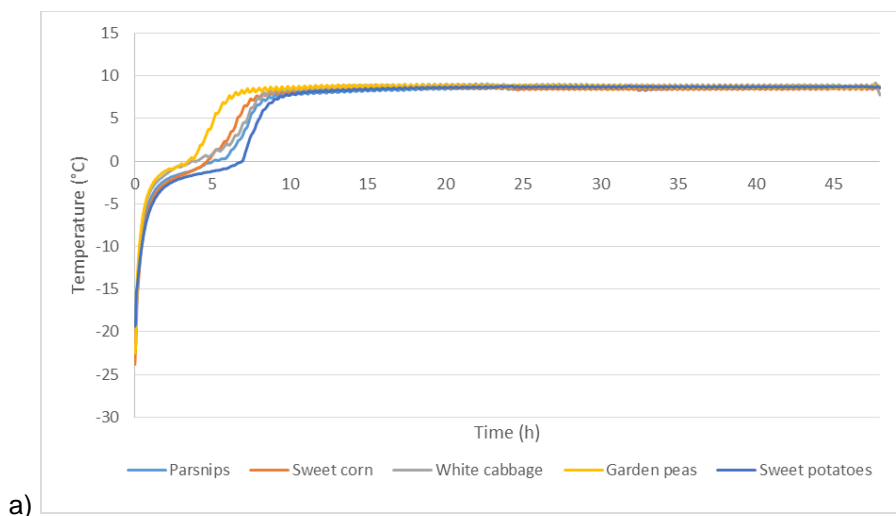
Batch 1: temperature profile (high volume loading : 11-7 kg; 5 frozen vegetables in 1 set-up)

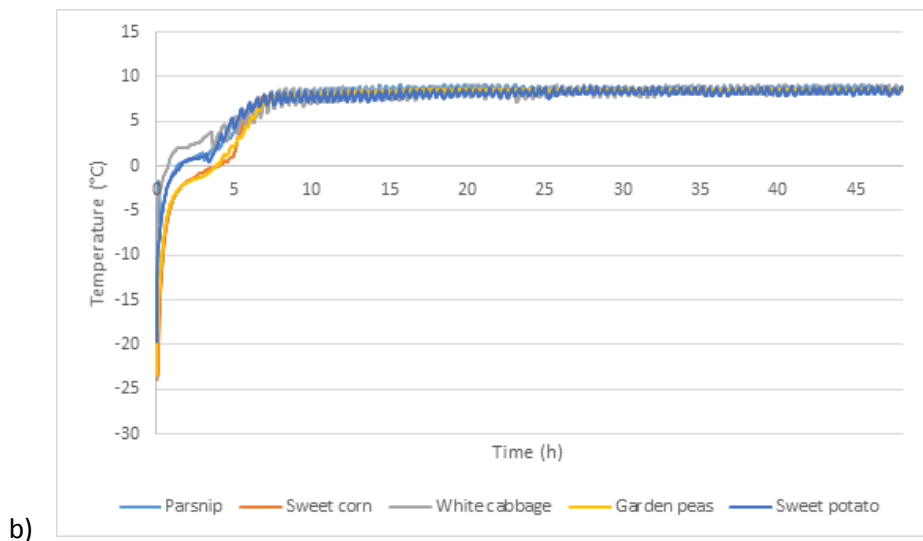
Figure 1. Measured temperature profile of a 1 x 200g pack for each type of frozen pre-cut vegetable transferred from the freezer (-18°C) to a refrigerator at 9°C during 48h residence time (Temperature recorded with i-button temperature loggers (Maxim Integrated, California, USA) (Refrigerator 331 L volume – holding in total 35-55 x 200 g packs of frozen pre-cut vegetables) = scenario 1 (high volume loading simulating defrosting in catering or business to business refrigerator scenario)



Batch 2 and 3 : temperature profile (low volume loading : 1,4-2,2 kg; 1 set-up per frozen vegetable type)

Figure 2. Measured temperature profile of a 1 x 200g pack for each type of frozen pre-cut vegetable transferred from the freezer (-18°C) to a refrigerator at 9°C during 48h residence time (Temperature recorded with ibutton temperature loggers (Maxim Integrated, California, USA) a) Batch 2 temperature profiles and b) Batch 3 temperature profiles (Refrigerator 331 L volume – holding in total 7-11 x 200 g packs of frozen pre-cut vegetables) = scenario 2 (low volume loading simulating defrosting in household refrigerators scenario)





Focus on temperature profile (time (t)-temperature (T) recordings for (uninoculated) sweet corn in two conditions of defrosting (high volume loading versus low volume loading))

As it was noted that it took a prolonged time to defrost the frozen vegetable packs upon high volume loading (batch 1) (temperatures > 0°C achieved after > 18h) the temperature profile of an alternative scenario of defrosting (low volume loading) was explored, which was considered more representative of ‘household’ defrosting/refrigeration condition. In this alternative scenario, a total 10 frozen (-18°C) packs of 200g were taken from the freezer and put into a hitherto empty refrigerator at 9°C (2 pack per refrigerator ‘level’ i.e. top, intermediate-above, middle, intermediate-under, under). A 10-pack loading in one refrigerator allowed individual packs of all replicates (and blanks) that were part of a one batch *L. monocytogenes* challenge test of one selected food category to be put together. The recorded temperature profile for 9 of these 10 packs (200g each = 2 kg of defrosting frozen sweet corn) in the refrigerator is shown in Figure3.

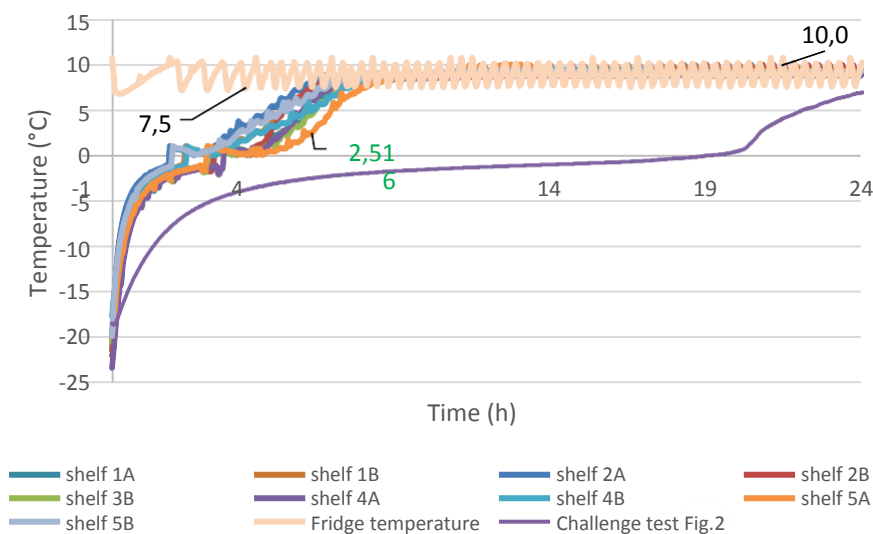


Figure 3. Measured temperature profile of 9 out of 10 x 200g defrosting frozen packs of sweet corn (2 kg or 2000 g of defrosting frozen sweet corn in total) transferred from the freezer (-18°C) into an (otherwise empty) refrigerator at 9°C during 48h residence time (Temperature recorded with i-button temperature loggers (Maxim Integrated, California, USA) (Refrigerator 331 L volume – holding in total 10 x 200 g packs of frozen sweet corn) (the yellow line labelled ‘Challenge test’ refers to Batch 1 scenario 1 high volume loading temperature profile)

These time-temperature profiles show that this type of '*L. monocytogenes* challenge testing' to assess the behaviour of *L. monocytogenes* during defrosting/refrigerated storage of frozen vegetables under reasonably foreseen conditions at consumer's home does not correspond to a 'standard' Challenge test for *L. monocytogenes*' as described in the EU-RL Guidance for challenge testing (EURL Lm Version 3 – Amd 1 dd 21 February 2019).

The EU-RL guidance was originally set-up for *L. monocytogenes*' challenge testing of pre-packed refrigerated foods with a prolonged shelf life (> 5 days) under refrigeration (the main @risk products for *L. monocytogenes*) i.e. the type of foods which are produced and set on the market as 'refrigerated' foods (e.g. refer to the foods analysed in the EU-wide Baseline study of *L. monocytogenes* in foods namely smoked fish, cooked meat products, (soft) cheese or also deli-salads etc).

The findings of the present study on *L. monocytogenes* challenge testing in defrosting vegetables deviates from the 'standard' Challenge test for *L. monocytogenes*' as described in the EU-RL Guidance because

- 1) there is no 'uniform' product temperature BUT a 'variable' temperature profile, which will be impacted by :
 - i) the type/volume of refrigerator (and possibly also the remaining load of the refrigerator with other cold foods) and
 - ii) the 'amount' of 'defrosting food' (N° of packs and possibly also the 'weight' of the individual defrosting packs, position in the refrigerator etc.)
- 2) there is no 'prolonged' shelf life testing but a reasonably to foreseen 'consumer handling' testing of defrosting (up to 24h to max. 48h) in a refrigerator (at 'reasonably to foreseen' temperature abuse i.e. set at 9°C whereas usual food safety agencies or competent authorities throughout EU recommend consumer refrigerators to be set at max. 5°C) (e.g. refer to <https://www.food.gov.uk/safety-hygiene/chilling>)

5) Discussion of *L. monocytogenes* growth potential during defrosting/refrigerated storage of frozen vegetables

It is clear that although PRPs, HACCP and a well implemented FSMS is in place – as stipulated by the PROFEL hygiene guidelines – it can be expected that for this type of production process of quick-frozen vegetables an occasional (post-)contamination can still occur and thus it cannot be excluded, and it has been noted from sector-wide microbiological analysis of quick-frozen vegetables, that some quick-frozen products set to the retail market as frozen foods might be occasionally contaminated with low levels of *L. monocytogenes* (< 10 CFU/g).

Although the majority of the frozen vegetables is not meant to and is not used as ready-to-eat (RTE), in order to ensure the *L. monocytogenes* safety limit of max. 100 CFU/g at the time of consumption for (RTE) foods on the market, the time for defrosting (in a refrigerator) or refrigerated storage of frozen vegetable packs should not support more than 1 log₁₀ unit as otherwise an accidental low level *L. monocytogenes* contamination (of < 10 CFU/g) could exceed 100 CFU/g at the time of use and consumption of these frozen vegetables by the consumer.

Overall the *L. monocytogenes* growth potential observed after 24h is restricted to less than 1 log₁₀ , except for frozen corn (Batch 2 and Batch 3) and except for one of the replicates (of Batch 2) of frozen sweet potatoes.

If refrigerated storage is prolonged with an additional 24h (up to 48h thus), often the outgrowth of *L. monocytogenes* on the defrosted refrigerated vegetables exceeds more than 1 log₁₀ and quite some variability in the extent of *L. monocytogenes* is observed between the batch. This observed inter-batch variability (and also noted intra-batch variability) can be attributed to several factors. Indeed, they were different batches (derived from different producing companies as well) from the same type of frozen vegetable which can differ slightly in product characteristics. Furthermore, variability was noted in the measured 'temperature profile recorded' (e.g. Figure 3 in multiple blank samples of sweet corn) and hence some variable temperature profile between packs simultaneously defrosting in a single refrigerator was expected to occur as well. This might also affect to some extent the outgrowth and thus the observed growth potential of *L. monocytogenes* inter-batch and intra-batch.

As mentioned above, from the results of the *L. monocytogenes* section shown in Table 1 (section 3) it became clear that sweet corn is the most susceptible to support growth of *L. monocytogenes*, and also may support outgrowth of more than 1 log₁₀ within the 24h defrosting/storage time in the most facilitating conditions (reaching temperatures > 0°C in 2-5h) as was observed in Batch 2 and 3 (refer to Table 3 for a summary of *L. monocytogenes* growth potential on sweet corn). It was noted in a preliminary trial to characterise the growth of LFMFP 1049 (the ST 6 strain isolated from frozen vegetables/production environment during the 2018 EU outbreak) that this latter strain grew faster than the other 3 strains at 7°C. Therefore, an extra challenge test was performed for Batch 3 of sweet corn using now a cocktail of the standard three *L. monocytogenes* strains (and thus without the expected faster growing ST6 strain). It was noted (refer to Table 3) that the *L. monocytogenes* growth potential as determined in the latter case was indeed restricted to less than 1 log₁₀ unit within the first 24h storage at 9°C. Thus, the inclusion of the ST 6 strain isolated from frozen vegetables/production environment during the 2018 EU outbreak might also explain to some extent the noted increased (more than 1 log₁₀ within the 24h defrosting/storage time) growth of *L. monocytogenes* in the sweet corn.

Table 3: Summarized results of of *L. monocytogenes* growth potential on sweet corn

vegetable	Batch	EU	NVWA	EU	
	NVWA Swc	0,69	0,69	1,37	1,89
Sweetcorn	2*	1,10	1,10	2,35	2,38
Sweetcorn	3*	1,28	1,28	1,87	2,02

*challenge test performed with 4 *L. monocytogenes* strains (in batch 1-2-3)

i.e. including the *L. monocytogenes* ST6 strains isolated from the EU 2018 frozen corn outbreak

° temperature profile in Batch 1 deviated (during defrosting longer time to reach > 0°C)

vegetable	Batch	Growth potential Day 1		Growth potential Day 2	
		EU	NVWA	EU	NVWA
Sweet corn	3**	0,62	0,62	1,33	1,33

**challenge test performed using Batch 3 but with 3 *L. monocytogenes* strains instead of 4 test strains

i.e. without the *L. monocytogenes* ST6 strains isolated from the EU 2018 frozen corn outbreak

In conclusion, the knowledge established by challenge testing as described above on the behaviour and growth potential of *L. monocytogenes* during defrosting/refrigerated storage of frozen vegetables was used as an input to 1) establish *L. monocytogenes* end product specification and 2) develop appropriate risk communication to consumers via the label as described in the hygiene guidance in Section 5.2.

References for Annex III :

Mnayer, D., Fabiano-Tixier, A.-S., Petitcola, E., Hamieh, T., Nehme, N., Ferrant, C., Fernandez, X. and Chemat, F. (2014). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essential oils from the Alliaceae Family. *Molecules*, 19, 20034-20053.

Noriega, E., Newman, J., Siggers, E., Robertson, J., Laca, A., Diaz, M., Brocklehurst, T.F. (2010). Anti-Listerial activity of carrots: effect of temperature and properties of different carrot fractions. *Food Research International*, 43, 2425-2431.

Sant'Ana, A.S., Barbosa, M.S., Destro, M.T., Landgraf, M., Franco, B.D.G.M. (2012). Growth potential of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in nine types of ready-to-eat vegetables stored at variable temperature conditions during shelf-life. *International Journal of Food Microbiology* 157,52-58.