

Orientações de higiene para o controlo da *Listeria monocytogenes* na produção de produtos hortícolas ultracongelados

Resumo:

Recomenda-se uma abordagem multidisciplinar para controlar o patogénico ambiental *Listeria monocytogenes* na produção de produtos hortícolas ultracongelados. É necessário que o foco do sistema de gestão da segurança alimentar baseado em programas de pré-requisitos (PPR, com focalização na higiene e na organização do ambiente de produção) e num plano HACCP (com focalização no controlo de processo) se centre plenamente na *Listeria monocytogenes*, por forma a impedir a colonização e a persistência do organismo na formação de biofilmes complexos, ou para prevenir, antes do acondicionamento e durante o manuseamento posterior, a contaminação pelo organismo após o tratamento (térmico). A figura 1 ilustra os diferentes PPR e o plano HACCP pertinentes na prevenção e no controlo da *Listeria monocytogenes*. Deve ser estabelecido o controlo ambiental para verificar a eficácia dos PPR implementados e do plano HACCP e avaliar a potencial acumulação de *Listeria monocytogenes* no ambiente de produção mais abrangente. Por último, quando existe um sistema de gestão da segurança alimentar adequado, as especificações do produto final devem ajudar os operadores de empresas do setor alimentar (OESA) a definir os níveis intermédios para a *L. monocytogenes*, que sejam exequíveis para os produtos finais. A comunicação dos riscos e a partilha de informações com os utilizadores de produtos hortícolas ultracongelados devem indicar claramente a correta utilização dos produtos ultracongelados para evitar potenciais abusos. Além destas atividades técnicas e de gestão, um OESA também deve estabelecer uma cultura de segurança e promover a sensibilização ao longo de toda a organização da produção e de todos os seus aspetos na prevenção e no controlo dos perigos para a segurança alimentar e de falhas em matéria de higiene. As orientações apresentadas abrangem os produtos hortícolas congelados, branqueados e não branqueados, que são considerados produtos não prontos para consumo (não PPC). Os OESA que pretendam comercializar produtos hortícolas congelados como alimentos prontos para consumo (PPC), também beneficiam do cumprimento das presentes orientações. Contudo, esses OESA devem seguir medidas de prevenção e de controlo adicionais para garantir a segurança dos produtos PPC, mas estas não estão incluídas nas presentes orientações.

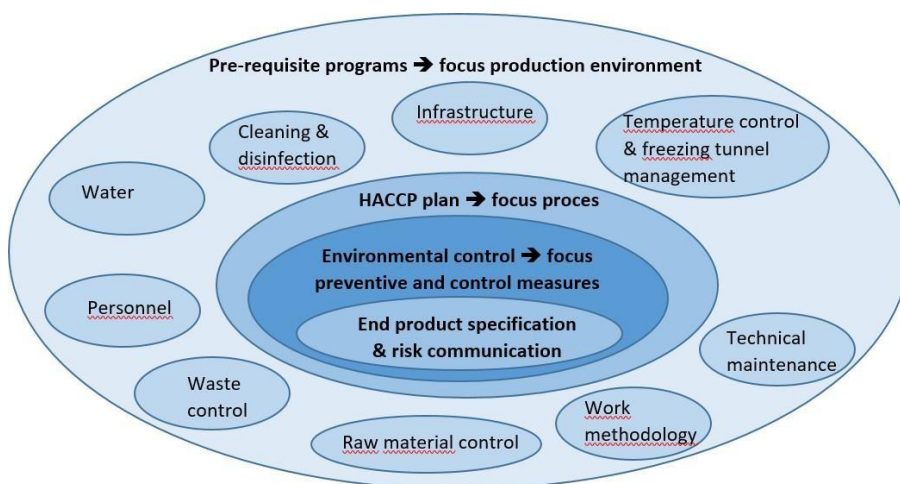


Figura 1. Conceito dos PPR (com foco no ambiente de produção mais abrangente), plano HACCP (com foco no processo de produção e nas diferentes fases de transformação), controlo ambiental (enquanto verificação das medidas de prevenção e de controlo executadas) e, por último, as especificações do produto final e a comunicação dos riscos aos utilizadores (empresa a empresa [B2B] e empresa ao consumidor [B2C]), para prevenir e controlar a potencial contaminação por *L. monocytogenes* na produção de produtos hortícolas ultracongelados.

Âmbito:

As orientações de higiene apresentadas, incluindo um exemplo de um plano HACCP, referem-se à produção comercial de produtos hortícolas ultracongelados (branqueados e não branqueados), em conformidade com a legislação aplicável da União Europeia. O objetivo é definir orientações europeias em matéria de gestão da produção e da segurança alimentar dos produtos hortícolas ultracongelados, começando pela receção das matérias-primas e terminando nos produtos finais embalados prontos a utilizar na fase seguinte da cadeia de abastecimento alimentar; B2B ou B2C. Os OESA ativos na produção e/ou na comercialização de produtos hortícolas ultracongelados podem utilizar o presente documento como ponto de partida para o seu próprio sistema de gestão da segurança alimentar, para a elaboração de boas práticas, para os PPR e para os princípios HACCP. A ênfase é colocada no controlo do perigo, *L. monocytogenes*. Os outros perigos microbiológicos relevantes para estas atividades ou outros perigos (por exemplo, os perigos químicos, físicos ou alérgicos) não serão abordados no presente documento. Para além dos produtos hortícolas congelados, alguns OESA também produzem plantas aromáticas e/ou frutos congelados, mas estes produtos não são abrangidos pelas orientações apresentadas. As orientações apresentadas abrangem os produtos hortícolas congelados, branqueados e não branqueados, que são considerados produtos não prontos para consumo (não PPC). Os OESA que pretendam comercializar produtos hortícolas congelados como alimentos prontos para consumo (PPC), também beneficiam do cumprimento das presentes orientações. Contudo, esses OESA devem seguir medidas de prevenção e de controlo adicionais para garantir a segurança dos produtos PPC, mas estas não estão incluídas nas presentes orientações.

Legislação da UE aplicável à produção de produtos hortícolas ultracongelados

Os requisitos gerais de segurança dos alimentos, incluindo a obrigação de apenas colocar no mercado géneros alimentícios seguros, são estabelecidos no Regulamento (CE) n.º 178/2002. A produção higiénica dos géneros alimentícios na UE é regida pelo Regulamento (CE) n.º 852/2004 e, em particular, pelo anexo II. Nas presentes orientações são apresentados exemplos práticos para complementar essas disposições gerais. Para o presente guia, é aplicado o artigo 9.º do Regulamento (CE) n.º 852/2004 sobre os códigos comunitários. A comunicação da Comissão sobre sistemas de gestão da segurança alimentar (C278/2016) serve de base para as boas práticas, para os PPR e para os princípios HACCP. Os critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios são regulamentados pelo Regulamento (CE) n.º 2073/2005. Todos os documentos legislativos pertinentes são listados no anexo I.

Documentos complementares além das orientações

Estão disponíveis orientações adicionais nas publicações pertinentes do *Codex Alimentarius*, nos pareceres da EFSA, nas práticas de higiene gerais desenvolvidas por diferentes autoridades nacionais, em artigos científicos e em livros (indicados no anexo II).

Consulta das partes interessadas pertinentes

Aquando da definição das orientações, foi organizada uma consulta com grupos de partes interessadas: a) Copa Cogeca (produção primária), b) Hotrec (atividades de restauração) e FoodServiceEurope (atividades de restauração), c) ChilledFOODAssociation (empresas transformadoras de refeições prontas para consumo), FoodDrinkEurope (indústria transformadora), FRUCOM (importadores de frutos e de produtos hortícolas), CULINARIA (molhos, especiarias e plantas aromáticas), FRESHFEL (frutos e produtos hortícolas frescos, incluindo os produtos cortados de fresco de «4eme gamme»), d) EuroCommerce (organizações de venda a retalho) e e) BEUC (organização de consumidores).

DECLARAÇÃO DE EXONERAÇÃO DE RESPONSABILIDADE

As presentes orientações constituem uma recomendação sem valor juridicamente vinculativo, tendo sido elaboradas para fins meramente informativos. A PROFEL não garante a exatidão das informações fornecidas e declina qualquer responsabilidade pelo uso que se faça das mesmas. Os leitores devem, por conseguinte, tomar todas as precauções necessárias antes de fazer uso dessas informações, que utilizarão por sua conta e risco. O dever de garantir o cumprimento da legislação da União em matéria de segurança dos alimentos incumbe à Comissão Europeia e às autoridades competentes dos Estados-Membros da UE. Solicita-se aos OESA envolvidos na produção e/ou na comercialização de produtos hortícolas ultracongelados que contactem as suas autoridades competentes para obterem informações completas sobre os requisitos legais em vigor no seu Estado-Membro de estabelecimento da UE.

Índice

1. Introdução

1.1. Perfil da indústria

Na Europa, os produtos hortícolas ultracongelados são produzidos por cerca de 145 empresas, tanto grandes empresas multinacionais que produzem em vários Estados-Membros, como muitas PME. A PROFEL, a Associação Europeia das Indústrias Transformadoras de Frutos e Produtos Hortícolas, e em certa medida, a AETMD, a Associação Europeia dos Transformadores de Milho-Doce, são as únicas organizações que representam o setor dos produtos hortícolas ultracongelados. Os seus membros são PME e empresas multinacionais, empregando mais de 80 mil pessoas. O volume de vendas anual cumulado dos membros da PROFEL representa cerca de 22 mil milhões de EUR, com uma produção de quase 5,5 milhões de toneladas só para o setor dos produtos hortícolas (enlatados e ultracongelados). A produção anual de produtos hortícolas ultracongelados* está avaliada em 4 milhões de toneladas. Existem cerca de 180 locais de produção em 18 Estados-Membros da UE. A afiliação à PROFEL é realizada sobretudo por intermédio das suas associações nacionais. Nem todos os países têm associações nacionais para os produtos hortícolas ultracongelados, pelo que algumas empresas são diretamente afiliadas. Embora não estejam disponíveis números oficiais, as associações nacionais estimam que os membros da PROFEL representam 80 % da produção de produtos hortícolas ultracongelados na UE.

*excluindo a batata, o tomate, mas incluindo o milho-doce congelado.

1.2. Perfil do produto

Os grupos de produtos considerados são os produtos hortícolas ultracongelados, incluindo as raízes e os tubérculos, os legumes de bolbos, os frutos hortícolas, as brássicas, os produtos hortícolas de folha, as flores comestíveis, as leguminosas e os produtos hortícolas de caule. Os frutos e as plantas aromáticas estão excluídos das presentes orientações.

Os produtos hortícolas ultracongelados incluídos podem ser branqueados ou não branqueados. Os produtos hortícolas ultracongelados podem ser ultracongelados individualmente (IQF), caso em que os produtos estão livres/soltos uns dos outros ou ultracongelados em bloco. Estes produtos são embalados em embalagens a granel para o mercado B2B e para posterior transformação na cadeia alimentar (por exemplo, na restauração, na produção de refeições prontas para consumo) ou em embalagens pequenas destinadas ao consumidor para o mercado B2C. Os produtos podem ser comercializados como um produto individual ou como um produto misturado com outros produtos hortícolas ultracongelados ou combinado com outros produtos alimentares, como o arroz, as massas alimentícias, os molhos, o peixe ou a carne ultracongelados.

1.3. *Listeria monocytogenes*

Embora ainda seja considerada um patógeno zoonótico, a *L. monocytogenes* está amplamente presente na natureza e em ambientes de transformação de alimentos. Foi isolada do solo, da vegetação, dos esgotos, da água, dos alimentos para animais e das fezes de animais saudáveis, nomeadamente de seres humanos. Consegue entrar nas instalações de transformação de alimentos através das matérias-primas recebidas e através da circulação de pessoal e de equipamentos. A *L. monocytogenes* consegue colonizar-se sob a forma de biofilmes nos equipamentos de transformação de alimentos e nas superfícies que (não) entram em contacto com os alimentos. Os procedimentos inadequados de limpeza e de desinfeção podem conduzir à persistência da bactéria por longos períodos em ambientes de transformação de alimentos. A *L. monocytogenes* foi isolada a partir de uma variedade de géneros alimentícios, como a carne fresca e ultracongelada, os produtos à base de carne cozinhada, o peixe fumado, o leite cru, o queijo (de pasta mole), o gelado, saladas de charcutaria, produtos hortícolas frescos ou minimamente transformados, etc. (Uyttendaele *et al.*, 2018; EFSA e ECDC, 2018). A *L. monocytogenes* é uma bactéria gram-positiva, não formadora de esporos, em forma de bastonete (0,5 µm de largura e 1-2 µm de comprimento), anaeróbica facultativa. Embora possua um intervalo de temperatura ideal de 30 a 37 °C, consegue desenvolver-se num intervalo alargado de temperaturas, entre 1 e 45 °C.

Enquanto bactéria psicrotolerante, consegue sobreviver e inclusive desenvolver-se em temperaturas de refrigeração. O organismo é particularmente resistente à tensão ambiental e consegue sobreviver ou multiplicar-se num vasto leque de condições desfavoráveis de pH (4,6-9,4, ótimo 7,0) e a_w (mínimo 0,92), embora seja possível atingir uma redução de 6 log através da pasteurização (2' a 70 °C) ou através de qualquer outro tratamento térmico equivalente (Uyttendaele *et al.*, 2018).

A espécie *L. monocytogenes* divide-se em 13 serovares com base nos antígenos somáticos e flagelares. Desde 2005, estes serovares foram substituídos por cinco genosserogrupos determinados pela PCR: IIa (serovares 1/2a e 3a), IIb (serovares 1/2b e 3b), IIc (serovares 1/2c e 3c), IVb (serovares 4b, 4d e 4e) e L (outros serovares). Desses, o IVb seguido do IIa e do IIb são os genosserogrupos mais frequentemente implicados nos casos humanos (LRUE para a *L. monocytogenes*, 2019). Nos últimos anos, foi demonstrado que a subtipagem baseada na sequenciação completa do genoma pode fornecer uma discriminação adicional significativa e, por conseguinte, pode ser benéfica para a investigação epidemiológica. Dentro da UE, a listeriose é uma das doenças prioritárias para a qual foi iniciada, em 2018, a vigilância reforçada da sequenciação completa do genoma a nível supranacional (Van Walle *et al.*, 2018).

A *L. monocytogenes* é a única espécie de *Listeria* que é patogénica para os seres humanos e é o agente causador da listeriose (McLauchlin *et al.*, 2004). A infeção por *L. monocytogenes* pode resultar em dois tipos de doença nos seres humanos: a forma não invasiva de listeriose afeta o sistema digestivo e resulta em sintomas, como febre, dores musculares e, por vezes, sintomas gastrointestinais (náusea ou diarreia), ao passo que a forma mais grave e invasiva de listeriose está associada a manifestações clínicas de infeção do sistema nervoso central, septicemia e bacteriemia. Devido à invasividade da *L. monocytogenes*, os óbitos por listeriose estão particularmente associadas às populações de alto risco, como, por exemplo, os indivíduos com sistemas imunitários comprometidos, como as pessoas com neoplasias hematológicas (por exemplo, leucemia), pessoas com cancro do fígado, adultos mais idosos (> 74 anos de idade), grávidas e recém-nascidos (Buchanan *et al.*, 2017; McLauchlin *et al.*, 2004).

Um surto de infeções invasivas por *L. monocytogenes* confirmado pela sequenciação completa do genoma, como o serogrupo IVb, ST6 (tipo de sequência 6), e associado ao milho ultracongelado e possivelmente a outros produtos hortícolas ultracongelados, foi notificado em cinco Estados-Membros da UE (Dinamarca, Áustria, Finlândia, Suécia e Reino Unido) no período de 2015 até junho de 2018: foram notificados 47 casos e nove doentes faleceram devido a ou com a infeção (taxa de letalidade de 19 %). A *L. monocytogenes* ST6 é um clone hipervirulento da *L. monocytogenes* associado às formas neurológicas de listeriose (EFSA, 2018a). Contudo, apesar da variabilidade observada na sua potencial virulência, quase todas as estirpes de *L. monocytogenes* têm a capacidade de provocar listeriose nos seres humanos, devido à complexa interação entre o agente patogénico, os alimentos e o hospedeiro. Foi a primeira vez que um surto de listeriose na UE esteve associado aos produtos hortícolas ultracongelados (EFSA, 2018a), tendo dado início à elaboração do presente documento de orientação.

1.4. Definições

Medição do teor de ATP: dispositivos de deteção de ATP (trifosfato de adenosina) que utilizam a bioluminescência para indicar o nível residual de ATP presente nas superfícies sujeitas a colheita de amostra por esfregaço (Turner, 2010).

B2B: empresa a empresa, referindo-se aos produtos hortícolas ultracongelados embalados para posterior transformação nas indústrias alimentares ou em atividades de restauração.

B2C: empresa ao consumidor, referindo-se aos produtos hortícolas ultracongelados embalados para o consumidor final (distribuídos por intermédio de retalhistas em embalagens pequenas).

Biofilme: estrutura tridimensional encontrada nas superfícies, que contém um elevado número de microrganismos que estão fixados na superfície através de organelos e de substâncias excretadas (por exemplo, substâncias poliméricas extracelulares, como as glicoproteínas) (Devlieghere *et al.*, 2013).

Branqueamento: processo térmico normalmente aplicado a um alimento para inativar as enzimas e/ou corrigir a cor do produto (CAC, 1976).

Pontos críticos de controlo (PCC): uma etapa em que pode ser aplicado um controlo e que é essencial para prevenir ou eliminar um perigo para a segurança alimentar ou reduzi-lo para um nível aceitável (1). Os PCC mais típicos para controlar os perigos microbiológicos são os requisitos de temperatura, por exemplo, a temperatura de armazenagem ou o transporte, as condições em matéria de tempo/temperatura para reduzir ou eliminar um perigo (por exemplo, a pasteurização). Outros PCC podem incluir verificar se as embalagens estão limpas e intactas, controlar os perigos físicos através de peneiração ou deteção de metais ou verificar o tempo/temperatura dos óleos de fritura para evitar processos químicos contaminantes (comunicação da Comissão, C278/2016).

Água limpa: água que não comprometa a segurança alimentar nas circunstâncias do seu emprego. É água do mar limpa (água do mar ou salubre, natural, artificial ou depurada, que não contenha microrganismos, substâncias nocivas nem plâncton marinho tóxico em quantidades suscetíveis de terem uma incidência direta ou indireta sobre a qualidade sanitária dos géneros alimentícios) e água doce de qualidade semelhante (Regulamento (CE) n.º 852/2004; comunicação da Comissão C163/2017).

Detergente: produto (químico) aplicado na limpeza de superfícies (remoção de materiais orgânicos das superfícies) (Devlieghere *et al.*, 2013).

LRUE: laboratório de referência da União Europeia.

OESA: operador de uma empresa do setor alimentar: a pessoa singular ou coletiva responsável pelo cumprimento das normas da legislação alimentar na empresa do setor alimentar sob o seu controlo [Regulamento (CE) n.º 178/2002].

SGSA: sistema de gestão (ou de controlo) da segurança alimentar (SGSA): a combinação de PPR como medidas de controlo preventivas, rastreabilidade, recolha e comunicação como preparação e o plano HACCP definindo os PCC e/ou os PPRo como medidas de controlo ligadas ao processo de produção. O SGSA é também a combinação de medidas de controlo e de atividades de comprovação. Estas últimas visam fornecer elementos de prova de que as medidas de controlo funcionam devidamente, tais como a validação e a verificação, a documentação e a manutenção de registos (comunicação da Comissão, C278/2016).

Boas práticas de higiene (BPH), boas práticas de fabrico (BPF): pacote de práticas preventivas e condições para garantir a segurança dos alimentos produzidos. As BPH focam sobretudo a necessidade de higiene e as BPF incidem sobre as metodologias de trabalho corretas (comunicação da Comissão, C278/2016).

Procedimentos baseados nos princípios HACCP ou «HACCP»: procedimentos baseados nos princípios de análise de perigos e pontos críticos de controlo (HACCP), ou seja, um sistema de autocontrolo que identifica, avalia e controla os perigos que são significativos para a segurança alimentar e são coerentes com os princípios HACCP (comunicação da Comissão, C278/2016).

Plano HACCP: um documento, possivelmente eletrónico, que descreve exaustivamente os procedimentos baseados nos princípios HACCP. O plano HACCP inicial deve ser atualizado em caso de alterações na produção e deve ser complementado com os registos dos resultados da vigilância e verificação e das medidas corretivas tomadas (comunicação da Comissão, C278/2016).

Perigo: um agente biológico, químico ou físico presente nos géneros alimentícios ou nos alimentos para animais, ou uma condição dos mesmos, com potencialidades para provocar um efeito nocivo para a saúde [Regulamento (CE) n.º 178/2002] (comunicação da Comissão, C278/2016).

AVAC: sistema de aquecimento, ventilação e ar condicionado.

IQF (= ultracongelado individualmente): alimentos ultracongelados em que os produtos estão livres/soltos uns dos outros (CAC, 1976).

Nicho: nicho é o que descreve a ecologia de uma espécie, o que pode significar o seu *habitat*, o seu papel no ecossistema, etc. (Pocheville, 2015).

LNR: laboratório nacional de referência.

Programas de pré-requisitos operacionais (PPRo): são pontos no processo de produção com um menor risco para a segurança alimentar ou sem limites mensuráveis. Estes pontos podem ser controlados através de medidas de controlo gerais básicas mais elaboradas pertencentes aos PPR, como, por exemplo, controlo mais frequente, registo, etc. Devido a

um controlo regular e à adaptação dos requisitos do processo/produto, estes riscos podem ser considerados como controlados. Não é necessária uma medida corretiva imediata para o produto (comunicação da Comissão, C278/2016).

Programa(s) de pré-requisitos (PPR): práticas e condições de prevenção necessárias antes e durante a implementação do sistema HACCP e que são essenciais para a segurança alimentar. Os PPR necessários dependem do segmento da cadeia alimentar em que o setor opera e do tipo de setor. Exemplos de termos equivalentes são: boas práticas agrícolas (BPA), boas práticas veterinárias (BPV), boas práticas de fabrico (BPF), boas práticas de higiene (BPH), boas práticas de produção (GPP), boas práticas de distribuição (BPD) e boas práticas de comercialização (BPC) (comunicação da Comissão, C278/2016).

Água reciclada: água que é reutilizada no processo de produção, com ou sem tratamento da água (por exemplo, filtração, desinfecção).

PPC: alimentos prontos para consumo [Regulamento (CE) n.º 2073/2005]: «alimentos prontos para consumo», alimentos destinados pelo produtor ou fabricante ao consumo humano direto, sem necessidade de cozedura ou outra transformação, eficazes para eliminar ou reduzir para um nível aceitável os microrganismos perigosos.

não PPC: alimentos não prontos para consumo: refere-se a alimentos, ao contrário dos alimentos PPC, destinados pelo produtor a serem cozinhados ou submetidos a outro tipo de transformação eficaz para eliminar ou reduzir os microrganismos de preocupação para um nível aceitável.

Antisséptico/desinfetante: produto aplicado para a desinfecção de superfícies após a limpeza. Os produtos biocidas devem ser definidos nos termos do Regulamento (UE) n.º 528/2012.

Ultracongelado: «alimentos ultracongelados», géneros alimentícios (Diretiva 89/108/CEE e CAC, 1976):

- que foram submetidos a um processo adequado de congelação dito «ultracongelação», que permite ultrapassar tão rapidamente quanto necessário, consoante a natureza do produto, a zona de cristalização máxima, fazendo com que a temperatura do produto em todos os seus pontos – após a estabilização térmica – se mantenha sem interrupção a níveis iguais ou inferiores a -18 °C, e
- que são comercializados de modo a que seja indicado que possuem esta característica.

2. Boas práticas e programas de pré-requisitos (PPR)

Os PPR são elementos fundamentais na prevenção e no controlo da segurança e higiene alimentar no contexto de um sistema de gestão da segurança alimentar implementado em empresas detidas pelos OESA. Os PPR incluem as boas práticas de higiene e de fabrico e todas as medidas tomadas para impedir a contaminação ou a proliferação de microrganismos. As presentes orientações seguem a estrutura da comunicação da Comissão sobre a gestão da segurança alimentar (C278/2016). É descrito o papel de cada PPR na prevenção/controlo da *L. monocytogenes*. Contudo, uma vez que nem todos os 12 PPR listados desempenham um papel na prevenção/controlo da *Listeria monocytogenes*, são excluídos três: o PPR Controlo de pragas, o PPR Alergénios e o PPR Contaminação física e química derivada do ambiente de produção.

2.1. Limpeza e desinfecção

A limpeza e desinfecção (L&D) é um PPR importante na prevenção e no controlo da *Listeria monocytogenes*. Os OESA devem ter um **plano de L&D** para assegurar que todas as áreas pertinentes, máquinas e equipamentos – em contacto direto ou indireto com os alimentos – das instalações serão regularmente limpos/desinfetados.

O **plano de limpeza** inclui as áreas, as máquinas/equipamentos/dispositivos (que entram ou não em contacto com os alimentos) a ser limpos, a desmontagem de equipamentos, o método de limpeza (por exemplo, a limpeza com espuma, a limpeza fora do local, a limpeza no local, os tipos e as concentrações das preparações de limpeza, o tempo/temperatura (quando relevante) das soluções de limpeza, a taxa de fluxo (velocidade) ou a pressão da solução de limpeza (quando relevante) e a frequência com que esta tem lugar. Este plano também inclui as áreas identificadas onde é provável a formação de humidade, condensação, infestação de bolor, sujidade ou bactérias, e descreve de que forma podem ser prevenidas. No caso da limpeza fora do local, por exemplo, para os tanques de lavagem e para a tubagem, são necessárias precauções para evitar a contaminação cruzada após a desmontagem dos componentes dos equipamentos (por exemplo, o equipamento não deve ser colocado diretamente no chão ou noutras superfícies sujas). Deve evitar-se que os

equipamentos limpos sejam alvo de salpicos de água provenientes do chão ou de equipamentos sujos. Por conseguinte, é preferível não utilizar mangueiras a alta pressão durante a limpeza e a desinfecção.

Para além da limpeza, as **atividades de desinfecção** adequadas evitarão e eliminarão a acumulação microbológica e a formação de biofilmes. É recomendável ter um plano de desinfecção semelhante ao plano de limpeza. Para desinfetar, só são aplicados os biocidas autorizados de acordo com as especificações técnicas dos fornecedores (por exemplo, a concentração, o pH da água, a dureza da água, a eficácia contra os organismos-alvo, a necessidade de enxaguar, a utilização permitida em sistemas de pulverização, etc.). Tem sido notificado que a aplicação rotativa de desinfetantes fornece uma maior eficácia e prevenção da *L. monocytogenes* em nichos e biofilmes. Pode aplicar-se água quente ou vapor para higienizar as prateleiras ou os equipamentos de difícil acesso e limpeza, incluindo potenciais locais de abrigo para a *L. monocytogenes*.

Em caso de **suspeita da presença de um biofilme**, serão necessárias atividades de limpeza e de desinfecção específicas para remover o biofilme, uma vez que as atividades de limpeza e de desinfecção normais não serão adequadas devido à resistência do biofilme. Todavia, é mais importante evitar a formação de biofilmes e efetuar a monitorização ambiental (ver parte 4) para detetar precocemente qualquer contaminação ambiental.

Deve ser estabelecida a **validação dos planos de limpeza e de desinfecção** (= para determinar se são adequados para remover os resíduos de produtos, os materiais orgânicos e a remoção suficiente de bactérias). Por conseguinte, deve estabelecer-se uma colheita de amostras ambientais intensiva das áreas limpas (por exemplo, por intermédio de medições de ATP para avaliar a remoção de materiais orgânicos) e das áreas desinfetadas para os diferentes grupos-alvo de bactérias (por exemplo, a remoção de bactérias gram-negativas, gram-positivas, leveduras e/ou bolores) para avaliar a eficácia dos agentes desinfetantes aplicados, a sua concentração, o tempo de contacto, etc. No plano de limpeza e desinfecção, os OESA devem considerar a adoção de uma **classificação dos materiais destinados a entrar em contacto com os alimentos** e a respetiva frequência de limpeza e de desinfecção (quadro 1).

Quadro 1. Exemplo de classificação de equipamentos e de dispositivos no contexto da frequência de limpeza e de desinfecção

Tipo	Descrição	Exemplos de locais
1	Superfícies que entram em contacto direto com os alimentos	Interiores de tanques, embalagens e transportadores, tremonhas, interiores de tubagens
2	Superfícies que não entram em contacto com os alimentos, mas na proximidade imediata de superfícies em contacto direto com os alimentos	Estruturas das caixas dos equipamentos, pavimentos ou sifões de drenagem nas imediações diretas de superfícies que entram em contacto com os alimentos
3	Superfícies mais afastadas que não entram em contacto com os alimentos, mas que possam eventualmente conduzir à contaminação	Empilhadores, rodas dos caixotes de lixo/dispositivos, pedilúvios para o pessoal, paredes, pavimentos e sifões de drenagem que não estejam em contacto direto com as superfícies que entram em contacto com os alimentos
4	Superfícies que não entram em contacto com os alimentos e áreas afastadas do ambiente de transformação	Corredores fora da área de produção, áreas onde são armazenadas as matérias-primas ou os produtos acabados Estruturas das caixas dos equipamentos, paredes, pavimentos ou sifões de drenagem que não se encontram nas imediações diretas de superfícies que entram em contacto com os alimentos

Em princípio, os locais de tipo 1 são limpos e desinfetados com mais frequência quando comparados com os de tipo 2, 3 e 4 (tipo 1 > 2 > 3 e 4) e a frequência também pode ser determinada em função do regime de higiene da área na qual se encontram/à qual foram atribuídos os equipamentos e as instalações (ver parte 2.5, «Definição de zonas»). Em princípio, as «áreas seguras» requerem uma maior frequência de limpeza/desinfecção quando comparadas com o regime de higiene elevado e o regime de higiene baixo. Deve ser definida, para cada área, uma lista com todas as potenciais superfícies que entrem em contacto com os alimentos e a necessidade de limpeza e de desinfecção (frequência).

Equipamentos e superfícies que ENTRAM EM CONTACTO DIRETO com os alimentos (tipo 1, quadro 1)

Os equipamentos e as superfícies que entram em contacto direto com os alimentos (por exemplo, os túneis de congelação, os tapetes transportadores, os tanques de lavagem, os pesadores multicabeças, as máquinas de embalagem, os interiores dos tanques, as tremonhas, os interiores das tubagens) devem ser cuidadosamente limpos e desinfetados para evitar a contaminação cruzada e a acumulação de biofilmes. Devem ser organizados pontos de interrupção nas linhas de produção contínua para a limpeza e a desinfecção (por exemplo, no equipamento de lavagem/branqueamento e no túnel de congelação que funcione x dias consecutivos).

Equipamentos e superfícies que NÃO ENTRAM EM CONTACTO DIRETO com os alimentos (tipos 2 e 3, quadro 1)

Os equipamentos e as superfícies que não entram em contacto direto com os alimentos podem conter *Listeria monocytogenes* e podem ser uma fonte de contaminação cruzada através de salpicos de água, ar, aerossóis, materiais. Por conseguinte, deve evitar-se a acumulação de *Listeria monocytogenes* em todo o ambiente mais abrangente da fábrica. Os equipamentos e as superfícies típicas sem contacto direto com os alimentos são: sistemas de ventilação de ar, sistemas de tubagem da água, sifões de drenagem de águas residuais, dispositivos com rodas, etc. Estes são suscetíveis à acumulação de *Listeria monocytogenes* devido ao elevado teor de humidade e, frequentemente, às temperaturas não refrigeradas do ambiente de produção. Com base nas informações específicas da empresa sobre a potencial acumulação de resíduos de produtos, de materiais orgânicos, de poeira e de humidade e a potencial contaminação cruzada de alimentos ou de superfícies que entram em contacto direto com os alimentos, e a definição de zonas às quais pertencem os equipamentos/instalações (ver parte 2.5), é necessário estabelecer uma frequência de limpeza e de desinfecção. Normalmente, recomenda-se x vezes por semana.

Limpeza e desinfecção periódica (tipo 4, quadro 1)

As infraestruturas de maior dimensão, como as plataformas, as escadas, os tetos, as tubagens, etc., que não entram em contacto direto com os alimentos, ou outros materiais que entram em contacto com os alimentos, requerem uma limpeza e desinfecção periódicas para evitar a acumulação de poeira, resíduos de produtos e materiais orgânicos, e para manter o ambiente de produção e de armazenagem em boas condições. No controlo da *Listeria monocytogenes* deve ser dada especial atenção aos sifões de drenagem do pavimento para evitar a contaminação das restantes superfícies da divisão por intermédio dos sifões de drenagem. Por isso, durante a transformação dos alimentos não devem ser utilizadas mangueiras a alta pressão para limpar os sifões de drenagem, a fim de prevenir a formação de aerossóis; utilizar utensílios específicos para limpar os sifões de drenagem e evitar limpar os sifões de drenagem durante os períodos de produção. É necessário um plano de limpeza periódica (x vezes a cada x anos) para organizar esta limpeza periódica por área.

Arranque do equipamento após um período de interrupção (= limpeza pré-operacional)

A produção de produtos hortícolas ultracongelados é altamente sazonal. Diversos equipamentos e dispositivos são utilizados durante a transformação de uma determinada mercadoria e durante o resto do ano (período de inatividade) estão armazenados (por exemplo, os sistemas de remoção de insetos para os produtos hortícolas de folhas, as máquinas de corte). Antes de estes equipamentos/dispositivos serem novamente utilizados, é necessária uma limpeza e desinfecção rigorosas para evitar qualquer contaminação cruzada. Os OESA devem incluir a limpeza pré-operacional no plano de limpeza e desinfecção.

Manutenção dos utensílios e dos equipamentos de limpeza e de desinfecção

Os utensílios (por exemplo, as escovas, as esfregonas, os tubos de distribuição de água) e os equipamentos (por exemplo, as máquinas de limpeza a alta pressão, as máquinas de lavar o chão) de limpeza e de desinfecção também necessitam de manutenção e de limpeza para evitar a contaminação cruzada. Recomenda-se que as mangueiras e os bocais das mangueiras sejam mantidos afastados do chão ou de outras superfícies sujas quando não estiverem em utilização. Os dispositivos de limpeza para botas ou os pedilúvios devem ser esvaziados, limpos e reabastecidos, pelo menos, diariamente para impedir a formação de nichos. É necessário destinar os utensílios de limpeza e de desinfecção a áreas específicas (por exemplo, codificados por cor).

Pessoal envolvido na higienização

O pessoal envolvido nas atividades de higienização deve ser destinado a essas atividades, com luvas de proteção específicas, vestuário, calçado e óculos de proteção, que são diferentes dos utilizados durante as

atividades de produção regulares. Devem receber formação sobre higienização, incluindo a aplicação de produtos químicos nas suas estações de limpeza. O pessoal que manuseia o lixo, as varreduras de chão, os sifões de drenagem e os resíduos de produção não deve manusear produtos alimentares ou entrar em contacto com as superfícies que entram em contacto com os alimentos ou os materiais de embalagem, exceto se trocarem primeiro de bata/uniforme, lavarem e higienizarem as mãos e higienizarem o calçado utilizando pedilúvios ou dispositivos de limpeza para botas.

Verificação da limpeza e da desinfeção

Após as atividades de limpeza e de desinfeção de um tipo de superfície e de equipamento, deve ser efetuado um **controlo visual** cuidadoso por outra pessoa que não a responsável pela limpeza e desinfeção. Tal controlo visual pode fazer parte de um controlo de arranque para aprovar a entrada em funcionamento das linhas de produção. Caso seja detetada uma contaminação orgânica visual, a limpeza e a desinfeção devem ser repetidas antes de se poderem iniciar as operações. Os pontos e locais de acesso mais difícil devem ser incluídos neste controlo visual.

Deve ser realizada regularmente uma **amostragem microbiológica das superfícies de contacto** e uma análise da contagem total em lamela ou outro indicador para verificar se as atividades de limpeza e de desinfeção ainda são eficazes e se estão a ser realizadas de forma adequada. Podem ser utilizados testes de ATP ou outros métodos de despistagem rápida para uma despistagem rápida e para a aprovação de um equipamento de produção após a limpeza e a desinfeção. Contudo, esta verificação da limpeza e da desinfeção não pode substituir a análise ambiental da *L. monocytogenes* (ver a parte 4 adiante).

2.2. Água: fontes, qualidade e rede de distribuição de água

Na produção de produtos hortícolas ultracongelados são aplicados elevados volumes de água. A água (quer em termos de disponibilidade, quer em termos de qualidade) está a tornar-se cada vez mais alvo da pressão, pelo que os OESA devem ter particular cuidado para que a reutilização interna da água não se torne numa fonte de contaminação cruzada de *L. monocytogenes* para os produtos alimentares. Os OESA devem abordar os seguintes aspetos em matéria de gestão da água e da potencial contaminação da água e dos produtos alimentares com *Listeria monocytogenes*:

- a) Identificar potenciais fontes de água (por exemplo, água da torneira, água da chuva, águas subterrâneas, água reciclada tratada).
- b) Identificar a qualidade da água disponível através de análises (parâmetros microbiológicos e químicos → a água cumpre os requisitos aplicáveis à água potável, à água limpa, à água não potável?).
- c) Identificar potenciais utilizações de água reciclada/reutilizada (por exemplo, reutilizar água de refrigeração após o branqueamento como água de lavagem) em determinadas fases da produção → nesta situação, deve ser efetuada uma avaliação cuidada para evitar a contaminação cruzada.
- d) Identificar a necessidade de desinfeção da água (com base em métodos físicos, como UV, osmose reversa ou desinfeção química através da aplicação de biocidas autorizados, como o cloro, o ácido peracético, o ClO₂) em caso de água reciclada, água da chuva, água de drenagem e/ou água efluente para melhorar a qualidade da água.
- e) Controlar e validar as técnicas de desinfeção da água aplicadas (controlo diário, verificação de resíduos químicos em caso de desinfeção química da água).
- f) Prever a manutenção dos tanques de armazenagem, dos sistemas de tubagem, dos sistemas de filtração utilizados na distribuição de água para evitar a formação de biofilmes e a potencial presença de *L. monocytogenes* → incluir igualmente partes do sistema de distribuição de água na amostragem ambiental (como abordado no ponto 4.1).
- g) Evitar a contaminação cruzada com a água de drenagem/água efluente com outras fontes de água na produção.
- h) Evitar a formação de água estagnada nas máquinas, nos tubos, na rede de tubagens e nos pavimentos.
- i) Impedir a acumulação de água parada nos sifões de drenagem e em torno destes.
- j) Evitar que o gotejamento e a condensação de instalações, de condutas e de tubagens contaminem os alimentos, as superfícies que entram em contacto com os alimentos ou os materiais de embalagem de alimentos.

- k) Assegurar que a água utilizada para o revestimento tenha uma qualidade de água potável.

Deve ser elaborado um **plano de gestão da água**, incluindo todos estes elementos. Deve ser definido um **plano analítico** adequado para verificar a qualidade da água aplicada com base nos resultados dos testes microbiológicos e químicos, tendo em consideração os requisitos europeus, nacionais ou regionais das autoridades competentes. O parecer da EFSA sobre o risco da *Listeria monocytogenes* neste tipo de produção também identifica a água aplicada durante a lavagem, a refrigeração, etc. como uma fonte importante de contaminação (para leitura adicional, ver o parecer da EFSA, 2020).

2.3. Controlo da temperatura do ambiente de produção e de armazenagem, incluindo a gestão dos túneis de congelação

Controlo da temperatura do ambiente de produção e de armazenagem

A *L. monocytogenes* é um patogénico ambiental tolerante ao frio, que consegue proliferar, mesmo a temperaturas de 0 °C. Em condições de frio a sua taxa de crescimento abrandará, pelo que a manutenção de uma cadeia de frio impedirá o crescimento (rápido) do agente patogénico. Normalmente, num ambiente de produção de produtos hortícolas ultracongelados, nem todas as áreas estão sujeitas a condições de temperatura controlada. Tal como referido na secção 2.1 («Limpeza e desinfeção»), estas áreas requerem uma consideração cuidadosa das atividades de limpeza e de desinfeção dos equipamentos que entram em contacto direto e indireto com os alimentos. As condições de humidade elevada (= humidade relativa), a formação de aerossóis e/ou o gotejamento de estruturas mais elevadas (por exemplo, os tetos, os sistemas de tubagens) podem ser desencadeadas pelas oscilações de temperatura. Dado que o produto é ultracongelado, a temperatura de congelação de -18 °C ou inferior deve ser garantida pelas condições ultracongeladas de armazenagem e de transporte. Caso seja necessário manusear novamente os produtos ultracongelados (por exemplo, a mistura, a embalagem) são recomendadas temperaturas ambientes frias. A menos que seja viável de outra forma, os produtos ultracongelados devem permanecer (muito) brevemente em condições de temperatura ambiente para evitar a descongelação. O tempo atribuído deve ser verificado pelos OESA e dependerá do produto em particular e da temperatura ambiente.

Gestão dos túneis de congelação

Os túneis de congelação são dispositivos cruciais na produção de produtos hortícolas ultracongelados, e terão, dependendo da tecnologia aplicada (ar forçado ou congeladores criogénicos) e da sua conceção, uma flutuação nos ciclos de baixa e alta temperatura. Os ciclos de temperatura entre os -30/-40 °C são seguidos de breves ciclos de descongelação de cerca de 30/50 °C para evitar a presença excessiva de gelo no túnel. Caso os alimentos permaneçam ou se acumulem dentro do túnel, estes podem tornar-se num local de abrigo para a *Listeria monocytogenes*. Por conseguinte, os túneis de congelação necessitam de manutenção técnica periódica (secção 2.6), de um correto acompanhamento e controlo da temperatura dos ciclos (presente secção), de fazer parte do plano de limpeza e desinfeção (secção 2.1) e de controlos visuais regulares para evitar a acumulação excessiva de produtos como parte da metodologia de trabalho (secção 2.9), a fim de prevenir a acumulação de *Listeria monocytogenes* e/ou a formação de biofilmes no túnel.

São diferenciados dois tipos de descongelação do túnel:

1. **Descongelação total do túnel.** Depende do tipo e da capacidade de congelação do túnel. Deve ser efetuada uma limpeza profunda durante cada descongelação total (ver secção 2.1).
2. **Descongelação parcial/sequencial durante a produção.** Esta descongelação só existe em determinadas marcas de túneis de congelação e vem como uma opção complementar. Os evaporadores nunca descongelam todos ao mesmo tempo durante a produção. As secções dos evaporadores que estão a ser descongeladas são completamente fechadas e pasteurizadas com água quente/gás ou vapor. Durante o ciclo de descongelação da secção do evaporador, o fluxo de ar é desviado para outros conjuntos de evaporadores que estão no modo de congelação.

Sistema de aquecimento, ventilação e ar condicionado (AVAC)

Podem ocorrer gradientes de temperatura e de humidade nas fábricas de transformação de ultracongelados, devido a áreas com altas temperaturas (ambiente), baixas temperaturas e o ar que se desloca entre as mesmas. Normalmente, nas áreas entre a saída dos túneis de congelação e a recolha dos produtos hortícolas ultracongelados intermédios em sacos/recipientes grandes (a granel), ou nas áreas entre o branqueamento e o arrefecimento do produto branqueado, podem ocorrer gradientes de temperatura. Os gradientes de temperatura podem gerar condensação e o gotejamento de água. Nestas fábricas, um sistema de aquecimento, ventilação e ar condicionado (AVAC) instalado e mantido por profissionais é um PPR.

2.4. Pessoal: sensibilização, formação e comportamento

A higiene do pessoal é importante na prevenção/controlo da *L. monocytogenes*, sobretudo através de comportamentos corretos por parte dos operadores e da sua sensibilização para os riscos do agente patogénico. Por isso, são importantes a formação e a comunicação (repetidas) (por exemplo, os resultados das inspeções de higiene, os resultados da verificação da limpeza e da desinfeção) para reforçar a sensibilização. Um fator importante associado ao pessoal é a potencial fonte de contaminação cruzada através do calçado, das mãos e das luvas e das batas (ou uniformes) ao transitarem de um local ou de uma área de produção para outra. Passar uma área com um regime de «higiene baixo» para um regime de «higiene elevado» é crítico para a potencial disseminação da *Listeria monocytogenes* enquanto patogénico ambiental. Por conseguinte, devem ser definidas e comunicadas aos operadores instruções claras sobre como atravessar estas fronteiras numa zona de produção. Eventualmente, podem ser integradas zonas-tampão de higiene, como, por exemplo, bloqueios higiénicos, dispositivos de limpeza para botas, botas específicas dedicadas à zona, postos de desinfeção das mãos para facilitar a passagem pelas áreas e para impedir que a *Listeria monocytogenes* migre de uma área para a outra (ver também o ponto 2.5). Estas instalações devem ser incluídas no programa de limpeza e desinfeção, por exemplo, pedilúvios para evitar a formação de nichos. As batas ou os uniformes são diferenciados em função da tarefa que o pessoal desempenha (por exemplo, produção numa área com um regime de higiene baixo, áreas com um regime de higiene elevado e manutenção técnica). Caso haja pessoal temporário a trabalhar nas instalações de produção e comercialização, deve ser estabelecida uma formação adaptada e acordos sobre o que se deve e não fazer. Como boa prática, recomenda-se considerar minimizar a utilização de pessoal temporário em atividades mais críticas de controlo da *Listeria monocytogenes*.

2.5. Infraestruturas, equipamentos e dispositivos

As infraestruturas e a organização das instalações de produção e de armazenamento serão da máxima importância na prevenção e no controlo da *Listeria monocytogenes*, no domínio da produção de produtos hortícolas ultracongelados.

Definição de zonas

É recomendada a diferenciação entre as áreas com um regime de «higiene baixo» e as áreas com um regime de «higiene elevado». A diferenciação deve ser organizada ao longo das instalações de produção e de armazenamento. As diferentes zonas estão ainda indicadas nos fluxogramas (ver figuras 2-4). É possível identificar diferentes áreas:

Zona 1: Área com um regime de higiene baixo

→ Caracterizada por:

- Áreas com ligação direta ao exterior
- Áreas externas de receção de matérias-primas
- Fases da produção antes da lavagem e/ou do branqueamento
- Áreas técnicas

→ Medidas de controlo:

- É possível encontrar vestígios de madeira, de caixas de cartão e/ou de terra
- Não é necessário o acesso através de um bloqueio higiénico
- Sem controlo da temperatura, sem ventilação/fluxo de ar controlado

Zona 2: Área com um regime de higiene elevado

→ Caracterizada por:

- Sem contacto direto com o exterior
- Fases da produção desde a lavagem e o branqueamento até aos produtos hortícolas ultracongelados
- Manuseamento de produtos ultracongelados abertos, como, por exemplo, durante os processos de revestimento, mistura ou embalagem

→ Medidas de controlo:

- Requer o acesso através de um bloqueio higiénico (= acesso controlado ao exterior)
- Ventilação/fluxo de ar controlado
- É aconselhável dispor de um controlo da temperatura
- Controlo e presença de madeira limpa ou de caixas de cartão (por exemplo, octabinas)

Zona 3: Área segura

→ Caracterizada por:

- Armazenamento de produtos embalados a granel ou produtos finais (ultracongelados)
- Temperaturas de congelação do produto

→ Medidas de controlo:

- Apenas embalagens/recipientes fechados
- Controlo da temperatura (temperatura de congelação)

Será necessário outro regime de higiene associado à segregação das áreas nas instalações de produção e de armazenamento, para cada área com medidas de controlo como:

- maior frequência das atividades de limpeza e de desinfeção,
- mais restrições em matéria de higiene pessoal para os operadores,
- utilização específica de materiais para a produção (seguramente, dispositivos móveis, como contentores para lixo, caixotes de lixo) e/ou materiais para a limpeza e a desinfeção numa determinada zona,
- evitar a contaminação cruzada entre as áreas com diferentes regimes de higiene: equacionar a organização de ligações entre as zonas de higiene para os operadores, os materiais, os produtos alimentares, os equipamentos e os dispositivos (móveis), o fluxo de ar e de água → fluxo de «áreas seguras» e de áreas com um regime de «higiene elevado» para as áreas com um regime de «higiene baixo» e NÃO o oposto.

Materiais que entram em contacto com os alimentos e conceção higiénica de equipamentos, de dispositivos e de infraestruturas em geral

Para evitar a formação de nichos, os materiais que entram em contacto com os alimentos e os equipamentos e as infraestruturas que não entram em contacto direto com os alimentos devem ser construídos a partir de materiais adequados (como em aço inoxidável ou à base de materiais de plástico aprovados para alimentos) que sejam de utilização sustentável, que não sejam à base de materiais porosos ou absorventes e que não sejam sensíveis à corrosão. Nesses nichos (como, por exemplo, nas pequenas incisões ou nas fissuras), a *L. monocytogenes* pode acumular-se, tornando a parte afetada num local de abrigo para o agente patogénico. Durante a conceção das infraestruturas e da fábrica, devem ser tomadas precauções em matéria de conceção higiénica: por exemplo, superfícies lisas, evitar uniões afiadas, tubagem sem bloqueios, ligações cruzadas no transporte de produtos alimentares, equipamentos e dispositivos suficientemente elevados acima dos pavimentos para facilitar a higienização e evitar salpicos a partir do chão, equipamentos fáceis de limpar (após a desmontagem). Os sistemas de cablagem e de tubagem são sensíveis à acumulação de poeira e, em combinação com condições de elevada humidade, podem formar-se nichos com patogénicos ambientais sobre ou em torno desses sistemas. É necessário garantir que a estrutura dos passadiços e as escadas com gradeamentos abertos não sejam posicionadas sobre os alimentos e/ou a água exposta. As superfícies que não entram em contacto com os alimentos devem ser incluídas nas atividades periódicas de limpeza e de desinfeção (ver secção 2.1) e, na medida do possível, devem ser evitadas as construções horizontais.

Fluxo de ar/sistemas de ventilação

É aconselhável o controlo do **fluxo de ar** entre as zonas com um regime de higiene elevado e as zonas com um regime de higiene baixo: o ar deve fluir das áreas limpas para as áreas sujas e, portanto, é recomendado um fluxo de ar positivo de um regime de higiene elevado para um regime de higiene baixo. Os sistemas de ventilação, incluindo os evaporadores nos túneis de congelação, devem ser mantidos e limpos conforme necessário. Deve ser avaliado se são necessários filtros para purificar o ar. A **fonte de ar** aplicada como entrada pode ser uma fonte de contaminação potencial, pelo que os OESA devem verificar de onde provém o ar (por exemplo, evitar a entrada de ar proveniente de áreas técnicas, de áreas sujas, como as áreas de eliminação de resíduos). Caso seja aplicado **ar comprimido** (por exemplo, para a triagem ótica), são necessários filtros para evitar a queda de gotículas de óleo dos sistemas de bombagem e a circulação de microrganismos. Os filtros devem ser incluídos no programa de manutenção periódica (ver 2.6) para impedir a formação de nichos com *L. monocytogenes*.

Equipamentos móveis

Alguns componentes do equipamento foram concebidos para serem móveis e podem ser introduzidos/removidos das linhas de transformação em função do tipo de produto (por exemplo, folhas em oposição a tubérculos), do nível de sujidade das matérias-primas (por exemplo, presença de terra, areia), da necessidade de triagem adicional ou de remoção de insetos, dos dispositivos de corte (por exemplo, palitos em oposição a rodelas), etc. No caso de os componentes do equipamento serem introduzidos ou removidos de outra zona da fábrica, deve avaliar-se o seu estado de limpeza e o potencial de contaminação cruzada (por exemplo, passagem por áreas de higiene baixa e elevada, circulação de pessoas, materiais) e é necessária uma verificação pré-operacional. Os dispositivos (de vigilância) de menor dimensão (por exemplo, os termómetros, os medidores de ATP) que circulam dentro de uma fábrica podem provocar contaminação cruzada, devendo, por isso, ser manuseados de forma específica, por exemplo, não devem transitar de um regime de higiene baixo para um regime de higiene elevado ou, como recomendação de boas práticas, serem afetos a uma determinada zona/área da fábrica.

2.6. Manutenção técnica

A manutenção técnica preventiva, sob a forma de revisão e de verificação planeadas dos equipamentos e das infraestruturas, é da máxima importância para a prevenção e controlo da *L. monocytogenes*. Os OESA devem implementar um plano de manutenção preventiva, incluindo:

- Descrição pormenorizada do tipo de manutenção técnica,
- Planeado em função das atividades de produção (não organizar qualquer manutenção técnica durante as atividades de produção para evitar a contaminação dos produtos),
- Necessidade de uma verificação pré-operacional no caso de máquinas e de equipamentos que não são utilizados com frequência (ou seja, em caso de produção sazonal),
- Todas as máquinas e equipamentos, incluindo as instalações de maior dimensão (tubagem da água e sistemas de bombagem, túneis de congelação, etc.) em contacto direto ou indireto com os alimentos, devem ser incluídos no plano de manutenção,
- Substituição dos filtros de ar e de água e controlo de biofilmes desses filtros,
- Equipamentos de gestão da água e sistemas de remoção de efluentes,
- Organização de uma limpeza inicial após as intervenções técnicas,
- Uniformes e calçado específicos para os técnicos internos e externos nas diferentes zonas da fábrica,
- Equipamentos de manutenção específicos e carrinhos ou equipamentos móveis com utensílios para os técnicos restringidos a diferentes zonas e a regimes de higiene nas instalações de produção.

As inspeções de higiene periódicas (por exemplo, 3-4 vezes por ano) devem ser organizadas, a fim de identificar pontos de contaminação adicionais, como fissuras, incisões, corrosão, que requerem uma intervenção técnica.

2.7. Controlo de resíduos

Os resíduos alimentares possuem diversas gradações e, desde que os fluxos de alimentos façam parte da cadeia

alimentar/alimentos para animais, é necessário cumprir um regime de higiene e segurança adequado e as restrições. Ao longo de todas as atividades de produção e de armazenagem, deve ser evitada qualquer contaminação cruzada entre os «alimentos» e os «resíduos». Deve ser determinado pelos OESA o que fazer no caso de os produtos alimentares que estão no chão (por exemplo, os tapetes transportadores sobrecarregados e os produtos que caem ao chão), para evitar que a *L. monocytogenes*, presente nos sifões de drenagem ou no chão, conduza à contaminação cruzada dos alimentos. Recomenda-se vivamente que estes últimos sejam aplicados na produção de alimentos para animais e que não sejam mais utilizados como «géneros alimentícios», exceto se logo no início do processo de produção, quando os produtos do campo entram nas instalações de produção.

Os caixotes de lixo, os contentores para lixo e os sistemas de recolha deslizante devem estar em bom estado (ver secções 2.5 e 2.6) e fazer parte do plano de limpeza e desinfeção (ver secção 2.1). Estes estão incluídos nos requisitos aplicáveis aos operadores no âmbito da metodologia de trabalho para evitar que os caixotes de lixo passem por diferentes áreas e, dessa forma, disseminem a *L. monocytogenes* no ambiente de produção (ver secção 2.9). Os contentores para lixo devem ser especificados por função (por exemplo, produto aceite, retransformação, remoção de alimentos para animais, resíduos) e claramente diferenciados entre si (por exemplo, codificação por cor, rotulagem, etiquetas).

2.8. Controlo das matérias-primas e seleção dos fornecedores

Minimizar a probabilidade de as matérias-primas (como os produtos hortícolas do campo), de os produtos semiacabados (como os produtos hortícolas pré-limpos, pré-lavados) e de os ingredientes (por exemplo, o arroz pré-cozido, o peixe ou os produtos de carne, as especiarias, etc.) serem contaminados na ocasião da entrega, é uma medida preventiva para diminuir a presença de *Listeria monocytogenes* na produção de produtos hortícolas ultracongelados.

Dependendo da natureza dos produtos recebidos, podem ocorrer diferentes tipos de contaminação:

- **As matérias-primas do campo, como os produtos hortícolas crus**, podem conter *L. monocytogenes* na ocasião da chegada à fábrica → a presença de terra e os contentores utilizados para o transporte podem ser fatores de risco de contaminação. No caso dos produtos que são refrigerados no campo ou na exploração, pode ocorrer potencialmente contaminação relacionada com a humidade (por exemplo, aplicação da água de refrigeração, gotículas da pulverização de água fria para reduzir a temperatura dos produtos).
- **Produtos semiacabados (por exemplo, as matérias-primas pré-limpas que foram lavadas, descascadas e cortadas, como as cenouras e as cebolas)** → estes produtos provêm de outras instalações de transformação e podem ser contaminados durante a transformação ou ser objeto de contaminação cruzada através dos contentores em que são transportados. As condições de temperatura inadequadas podem estimular o crescimento de *L. monocytogenes*.
- Os **ingredientes** (por exemplo, os produtos hortícolas ultracongelados, o peixe, a carne, o arroz, os produtos secos, etc.) → podem ser contaminados pelo fornecedor e são introduzidos no processo de produção dos OESA.
- **Materiais de embalagem** (por exemplo, matérias-primas primárias, material utilizado durante o armazenamento (como os sacos grandes, os contentores para materiais a granel) → menos sensíveis à contaminação por *Listeria monocytogenes*, mas devem ser limpos, estar isentos de poeiras e devem ser protegidos da contaminação cruzada na ocasião da sua chegada.
- **Auxiliares técnicos** (por exemplo, agentes de desinfeção da água, agentes antiespuma aplicados em tanques de lavagem, etc.) ou aditivos → menos sensíveis à contaminação por *L. monocytogenes*, mas que devem ser conservados/distribuídos em tanques/recipientes limpos para evitar a contaminação cruzada do ambiente da fábrica.
- **Água** → ver secção 2.2.

A seleção dos fornecedores e a comunicação com os mesmos sobre a presença de *L. monocytogenes* relacionada com as matérias-primas específicas é um passo importante para evitar uma potencial contaminação. Contudo, devido à natureza das diferentes matérias-primas, será impossível ter matérias-primas

«sem *Listeria*», uma vez que a maioria das matérias-primas aplicadas neste setor não estão sujeitas a uma medida de controlo em matéria de *Listeria* durante o seu processo de produção ou de fabrico (como, por exemplo, a pasteurização, a esterilização). Por isso, é necessário fazer uma seleção rigorosa dos fornecedores, incluindo as seguintes medidas de controlo:

- desenvolver procedimentos para selecionar e aprovar os fornecedores,
- estabelecer relações (de longo prazo) com os fornecedores,
- realizar auditorias regulares no local para assegurar que os fornecedores têm um SGSA robusto, implementar boas práticas e regras gerais de higiene para evitar a contaminação por *L. monocytogenes*,
- considerar fornecedores da UE e de países terceiros (nos países terceiros pode ser aplicável outra legislação).

No caso das matérias-primas provenientes do campo, a contaminação ambiental com *Listeria* spp., ou eventualmente com *L. monocytogenes*, pode ser expectável. Todavia, estes fornecedores (produção primária) devem controlar as potenciais contaminações adicionais, evitando a utilização de contentores/caixas/recipientes sujos, equipamentos e materiais de colheita sujos, fontes de água contaminada, evitar a formação de biofilmes na armazenagem refrigerada e nas áreas de humedificação, se adequado. Todas estas medidas devem fazer parte das suas boas práticas agrícolas e centrar-se na minimização da contaminação microbiológica na produção primária. Recomenda-se aos agricultores que trabalhem de acordo com o documento «Comunicação da Comissão relativa ao Documento de orientação em matéria de gestão dos riscos microbiológicos em frutos e produtos hortícolas frescos a nível da produção primária através de uma boa higiene» (comunicação da Comissão, C163/2017), no qual são apresentadas uma série de boas práticas agrícolas e de higiene para evitar ou minimizar a contaminação microbiológica ao nível da exploração agrícola e durante as primeiras atividades pós-colheita.

Testar um lote individual de matérias-primas quanto à presença de *L. monocytogenes* (= amostragem de lotes) tem uma importância limitada no estabelecimento da aceitabilidade desse lote e não pode substituir futuros PPR e HACCP no controlo da *Listeria monocytogenes* no processo de produção do OESA (ver adiante a secção 5.1). O principal valor dos testes de matérias-primas faz parte da criação de um histórico e permite a monitorização dos fornecedores como parte da avaliação/verificação dos fornecedores. Portanto, os testes de matérias-primas e o controlo dos lotes NÃO são uma medida de controlo adequada para a *L. monocytogenes*.

2.9. Metodologia de trabalho

Por último, a metodologia de trabalho, a organização do processo de produção e o sistema de gestão implementado na fábrica são da máxima importância na prevenção e no controlo diários da disseminação da *Listeria monocytogenes* e da potencial formação de biofilmes/nichos no ambiente de produção. Os aspetos que se seguem são de particular importância no que toca à prevenção e controlo da *L. monocytogenes*:

Arrumação

A fábrica e as suas zonas circundantes devem estar arrumadas e limpas. Os produtos que se acumulam ao longo da cadeia de transformação (por exemplo, nos tapetes transportadores, no túnel de congelação) podem ser removidos imediatamente, e não é necessário acumulá-los até à limpeza e desinfeção periódica. É importante adotar o princípio da «limpeza visual contínua», através da remoção frequente de materiais dos tapetes transportadores, do equipamento de transformação, do chão, etc., uma vez que isto reduzirá a carga global em todo o local.

Empenho e sensibilização da gestão e do pessoal

A gestão da fábrica deve identificar **posições-chave para o pessoal** nas diferentes áreas/zonas para implementar e controlar diariamente os pré-requisitos necessários, os PPRo e os PCC (ver secção 3, com base no plano HACCP). Todo o pessoal (incluindo os técnicos, o pessoal temporário) deve dispor de **consciencialização e formação** em matéria de controlo da *Listeria monocytogenes* (tal como referido no ponto 2.4). A gestão deve **afetar recursos** (ou seja, dinheiro, tempo, pessoal, conhecimentos especializados) para a amostragem ambiental, para os investimentos em infraestruturas e em manutenção, para o

tratamento da água, etc., necessários para prevenir e controlar a *Listeria monocytogenes*.

Organização do processo de produção de produtos hortícolas ultracongelados

A produção de produtos hortícolas ultracongelados está altamente dependente da disponibilidade sazonal dos produtos de base. Os picos na produção coincidem com a época de colheita da mercadoria transformada. Para isso, a fábrica deve estar organizada em termos de:

- disponibilidade dos dispositivos e dos equipamentos (ter todos os equipamentos necessários e as linhas de transformação preparadas e instaladas),
- tempo atribuído para paragens na produção para as atividades de limpeza e de desinfeção (ver secção 2.1),
- disponibilidade do pessoal,
- disponibilidade de água,
- etc.

Podem estar a funcionar em simultâneo várias linhas de transformação e produtos, o que contribui para um maior potencial de contaminação cruzada entre as linhas, o pessoal e os produtos. É recomendável ter a produção bem organizada, para minimizar a circulação do pessoal e dos dispositivos entre as diferentes áreas e linhas. Devem ser introduzidas paragens intermédias nas linhas de produção que funcionam a tempo inteiro, para permitir a realização de atividades intermédias de limpeza e de higienização, o esvaziamento do túnel de congelação com recurso a ar para remover a acumulação de produtos, para remover os resíduos de produtos, etc.

O processo de produção é sobretudo um processo contínuo, que vai desde as matérias-primas até aos produtos ultracongelados a granel. O **princípio da movimentação dos produtos para a frente** normalmente não constitui um problema. Contudo, a circulação de dispositivos com rodas, de pessoal e de equipamentos móveis deve ser controlada, especialmente quando se transita de uma área com um regime de higiene baixo para uma área com um regime de higiene elevado.

Todas as fases do processo de produção devem ter as suas instruções para o pessoal no que respeita ao que se deve e não fazer em termos de atividades de produção, regras de higiene, medidas de segurança alimentar, controlos de qualidade a realizar, etc. Por isso, deve existir um **sistema de documentação** adequado com instruções e procedimentos de fácil acesso e compreensão.

3. HACCP (= análise de perigos e pontos críticos de controlo)

Nas instalações de produção e de armazenamento de produtos hortícolas ultracongelados, os PPR e o plano HACCP devem abordar o problema da *L. monocytogenes*, para identificar em que fase do processo são factíveis a potencial ocorrência, a acumulação, o crescimento ou a redução do perigo. Para o plano HACCP, são aplicadas a estrutura e a metodologia da comunicação da Comissão sobre a implementação de sistemas de gestão da segurança alimentar (C278/2016). As figuras 2, 3 e 4 ilustram um fluxograma que descreve as diferentes fases do processo.

Observação 1: este plano HACCP pode ser utilizado como ponto de partida para o plano HACCP da empresa ou para a revisão do plano atual. É importante fazer a adaptação para um plano específico da empresa mediante a adaptação das fases da produção, dos equipamentos específicos, das informações sobre a validação e das medições das linhas de produção, etc.

Observação 2: é colocada ênfase na identificação dos perigos, nas medidas preventivas, na avaliação dos perigos (PxE=R) e também na definição de potenciais PCC, PPRo ou PPR e no perigo de *Listeria monocytogenes*. Todas as outras partes do plano HACCP (ou seja, a validação, a verificação, a documentação) não são desenvolvidas com mais pormenor no presente guia. Além disso, os outros perigos (ou seja, outros perigos microbiológicos, químicos e físicos) não estão incluídos e devem ser melhor analisados pelos OESA. Por isso, pode aplicar-se a comunicação da Comissão sobre a implementação de sistemas de gestão da segurança alimentar (C278/2016).

Observação 3: As presentes orientações abrangem os produtos hortícolas congelados, que são considerados produtos não prontos para consumo (não PPC). Os operadores de empresas do setor alimentar (OESA) que pretendam comercializar produtos hortícolas congelados como alimentos prontos para consumo (PPC) devem cumprir as medidas de prevenção e de controlo adicionais para garantir a segurança dos produtos PPC, mas estes não estão incluídos no plano HACCP apresentado.

No quadro 2 é feita a identificação dos perigos para cada fase do processo, são adicionadas as medidas de controlo identificadas, são estimados a probabilidade (P) e o efeito (E) na saúde humana e é atribuído um nível de risco (R). Por último, dependendo do nível de risco atribuído, é afeto um PPR, um PPRo ou um PCC. O quadro 3 representa exemplos de quadros de monitorização, inserindo a monitorização e as medidas corretivas a tomar.

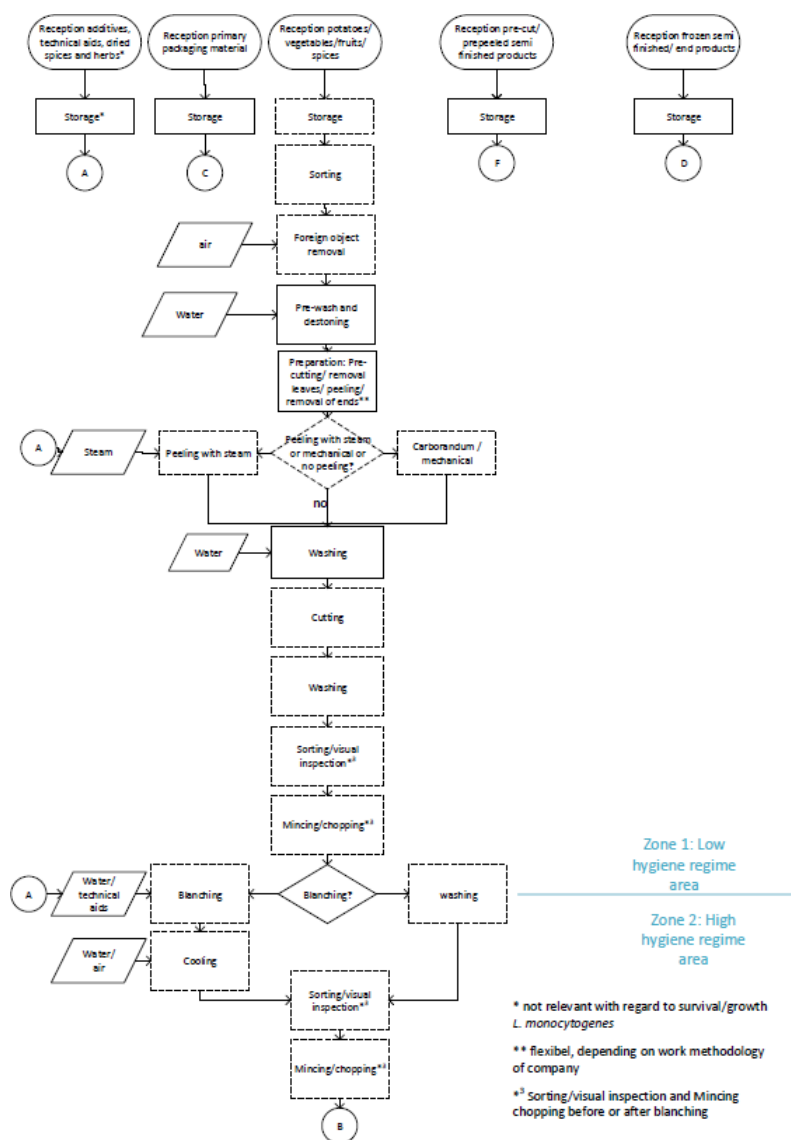


Figura 2. Fluxograma da produção de produtos hortícolas ultracongelados – parte 1.

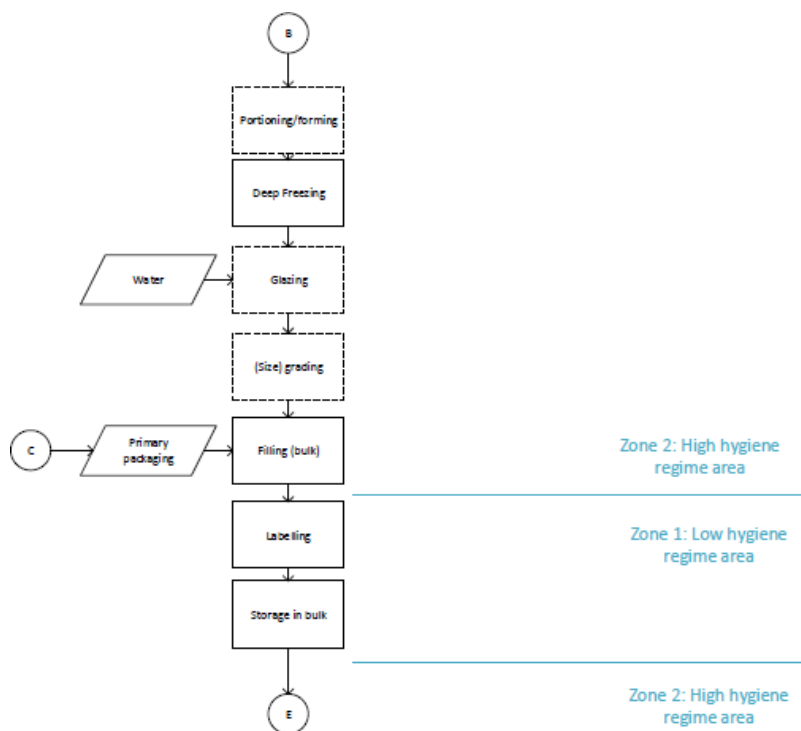


Figura 3. Fluxograma da produção de produtos hortícolas ultracongelados – parte 2.

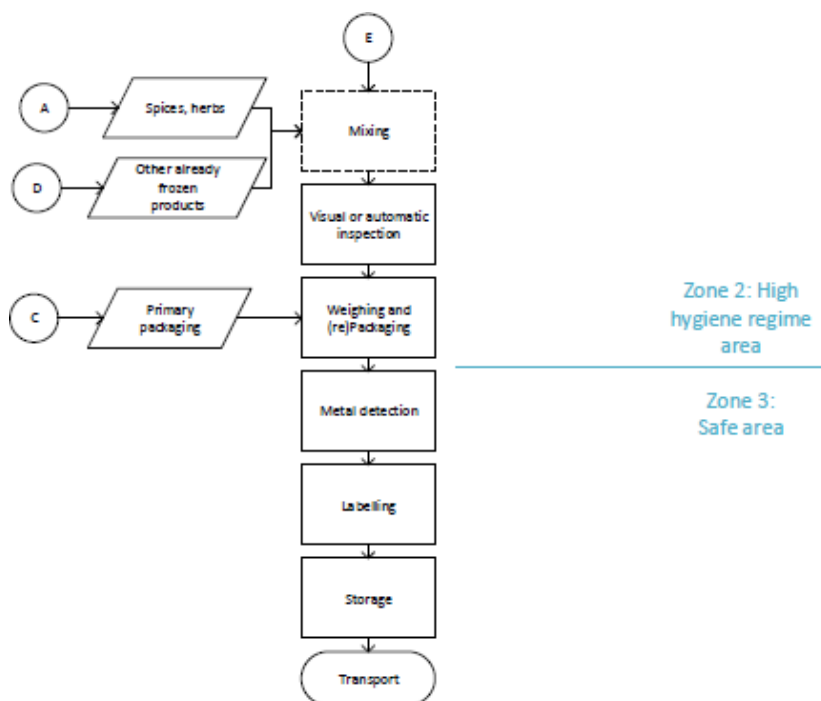


Figura 4. Fluxograma da produção de produtos hortícolas ultracongelados – parte 3.

Quadro 2: Identificação dos perigos, medidas de prevenção/controlo, probabilidade (P), efeito (E), risco (R) e atribuição de PPR, de PPRo ou de PPC						
Identificação dos perigos	Medida de prevenção/controlo	P	E	R	Motivação	PPR/PPRo/PCC
Receção e armazenagem de matérias-primas, de produtos semiacabados, de ingredientes ultracongelados e de água (zona 1: área com um regime de higiene baixo) – fig. 2						
Presença de <i>L. monocytogenes</i> nas matérias-primas provenientes da produção primária (campo) (produtos hortícolas)	Seleção dos fornecedores/política de aquisição: <ul style="list-style-type: none"> • Boas práticas agrícolas • Limpeza e desinfeção dos equipamentos/recipientes • Controlo de biofilmes em caso de armazenagem refrigerada/humidificação de produtos 	1	3	3		PPR Matérias-primas (secção 2.8)
Presença de <i>L. monocytogenes</i> nos produtos semiacabados (produtos hortícolas pré-limpos) e nos ingredientes (produtos ultracongelados)	Seleção dos fornecedores/política de aquisição: <ul style="list-style-type: none"> • Boas práticas de higiene e HACCP • Plano de controlo da <i>Listeria monocytogenes</i> elaborado em conjunto com o fornecedor • Recipientes limpos à chegada • Temperatura de refrigeração adequada à chegada 	2	3	4		PPR Matérias-primas (secção 2.8) PPR Metodologia de trabalho (secção 2.9): verificação das entregas à chegada
Água contaminada com <i>L. monocytogenes</i>	Seleção de fontes de água adequadas, verificações regulares da qualidade da água	1	3	3		PPR Água (secção 2.2)

<p>Contaminação por <i>L. monocytogenes</i> proveniente das áreas de receção e de armazenagem</p>	<ul style="list-style-type: none"> Controlo da temperatura em caso de armazenagem refrigerada ou ultracongelada Controlo do tempo e princípios primeiro a entrar, primeiro a sair (FIFO) para os produtos (refrigerados) Limpeza e desinfeção das áreas de armazenagem/equipament os Manutenção técnica das áreas de armazenagem 	2	3	4		<p>PPR Controlo da temperatura (secção 2.3) PPR Metodologia de trabalho (secção 2.9) PPR Limpeza e desinfeção (secção 2.1) PPR Infraestruturas (secção 2.5)</p>
<p>Aditivos, auxiliares técnicos, especiarias e plantas aromáticas secas, materiais de embalagem → sem fontes pertinentes de <i>L. monocytogenes</i></p>						
<p>Triagem, remoção de objetos estranhos, pré-lavagem/descaroçamento, preparação, fases de lavagem, corte, triagem/inspeção visual, descasque, moagem e picagem (zona 1: área com um regime de higiene baixo) – fig. 2</p>						
<p>Contaminação através do ambiente de produção, dos equipamentos, dos utensílios</p>	<ul style="list-style-type: none"> Programa de limpeza e desinfeção Manutenção técnica, incluindo as verificações pré-operacionais em caso de utilização sazonal de dispositivos/equipament os Infraestruturas 	1	3	3	<p>Podem formar-se biofilmes nos/sobre os equipamentos; P=1: zona 1</p>	<p>PPR Limpeza e desinfeção (secção 2.1) PPR Manutenção técnica (secção 2.6) PPR Infraestruturas (secção 2.5)</p>
<p>Contaminação através dos operadores</p>	<ul style="list-style-type: none"> Formação e sensibilização do pessoal Infraestruturas: bloqueios higiénicos entre as diferentes áreas 	1	3	3	<p>P=1, ainda numa área com um regime de higiene baixo</p>	<p>PPR Pessoal (secção 2.3) PPR Infraestruturas (secção 2.5)</p>
<p>Ar contaminado utilizado para a remoção de objetos estranhos e/ou em tanques de lavagem para criar sistemas de lavagem tipo «jacúzi»</p>	<ul style="list-style-type: none"> Filtros adequados e limpeza dos filtros e dos evaporadores Verificar de onde vem o ar 	1	3	3	<p>P=1, ainda numa área com um regime de higiene baixo</p>	<p>PPR Infraestruturas – controlo do ar (secção 2.5)</p>

<p>Água contaminada e formação de biofilmes no tanque de lavagem (para as fases de lavagem)</p>	<p>Gestão da água:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Limpeza e desinfeção do sistema de tubagem e do tanque de lavagem (e de outros equipamentos de lavagem, como as pás e os tambores rotativos) • Renovação frequente da água e/ou reenchimento dos tanques de água • Reciclagem da água e/ou tratamento da água, se necessário 	1	3	3	<p>P=1, ainda numa área com um regime de higiene baixo</p>	<p>PPR Limpeza e desinfeção (secção 2.1)</p> <p>PPR Gestão da água (secção 2.2)</p>
<p>Utilização de água contaminada para a preparação do vapor em caso de descasque com vapor</p>	<p>Tratamento adequado da água para evitar a contaminação</p>	1	3	3	<p>P=1, ainda numa área com um regime de higiene baixo</p>	<p>PPR Limpeza e desinfeção (secção 2.1)</p> <p>PPR Gestão da água (secção 2.2)</p>
<p>Branqueamento (zona 1-2) – fig. 2</p> <p>Observação: no caso dos produtos hortícolas que não são sujeitos a branqueamento, esta fase de produção será uma fase de lavagem adicional, uma vez que os produtos seguem as mesmas linhas de transformação.</p>	<p>O branqueamento é o tratamento térmico e uma fase tecnológica que visa a desativação das enzimas para estabilizar os produtos hortícolas ultracongelados durante a armazenagem prolongada em condições de congelação. Algumas mercadorias são branqueadas, enquanto outras não; tal dependerá, em grande medida, das decisões do OESA, das exigências dos clientes, etc.</p> <p>O branqueamento é realizado sobretudo através da imersão dos produtos em água quente ou submetidos a vapor. As temperaturas podem variar entre os 65 e 110 °C e são mantidas durante um período específico (1-10 minutos, dependendo da mercadoria, do tamanho dos pedaços dos produtos hortícolas, da variabilidade sazonal, etc.) → as combinações de tempo/temperatura dependem do tempo necessário para a inativação das enzimas polifenol oxidase (POD) e peroxidase (PPO). Alguns produtos não podem ser branqueados devido aos efeitos negativos na qualidade do produto (por exemplo, as cebolas ou o alho-francês).</p> <p>^a : O branqueamento terá um impacto redutor na flora microbiana (atualmente designada também por «microbiota») dos produtos hortícolas, embora não tenha como objetivo eliminar os agentes patogénicos, como a <i>L. monocytogenes</i>, ou a sua redução para um número aceitável, de acordo com as definições dos PCC constantes do plano HACCP. Por conseguinte, o branqueamento NÃO é considerado um PCC na eliminação da <i>Listeria monocytogenes</i> ou uma pasteurização integral (ou seja, uma redução de 6 log de <i>L. monocytogenes</i>).</p>					
<p>Tempo de branqueamento demasiado curto/temperatura de branqueamento demasiado baixa, levando a que a <i>Listeria monocytogenes</i> consiga proliferar na água/produto</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Controlar o tempo e a temperatura da fase de branqueamento • Verificar a destruição das enzimas através de testes enzimáticos 	2	3	4	<p>Ver ^a</p>	<p>PPRo 2: processo de branqueamento, tempo/temperatura</p>

Contaminação através do ambiente de produção, dos equipamentos, dos utensílios	<ul style="list-style-type: none"> Programa de limpeza e desinfeção Manutenção técnica Infraestruturas 	2	3	4	P=2, devido à transição para uma área com um regime de higiene elevado	PPR Limpeza e desinfeção (secção 2.1) PPR Manutenção técnica (secção 2.6) PPR Infraestruturas (secção 2.5)
Contaminação através dos operadores	<ul style="list-style-type: none"> Formação e sensibilização do pessoal Infraestruturas: bloqueios higiénicos entre as diferentes áreas 	2	3	4	P=2, devido à transição para uma área com um regime de higiene elevado	PPR Pessoal (secção 2.3) PPR Infraestruturas (secção 2.5)
Utilização de água/vapor contaminado – reciclagem da água	<ul style="list-style-type: none"> Limpeza e desinfeção do sistema de tubagem Decisão da reciclagem da água nas fases de branqueamento Monitorização da potencial contaminação da água e da necessidade de desinfeção da água 	2	3	4	P=2, devido à transição para uma área com um regime de higiene elevado	PPR Limpeza e desinfeção (secção 2.1) PPR Gestão da água (secção 2.2)
Refrigeração (zona 2: regime de higiene elevado) – fig. 2						
Crescimento de <i>L. monocytogenes</i> quando a refrigeração é demasiado lenta (em caso de sobrevivência após	<ul style="list-style-type: none"> Controlo do tempo /temperatura de refrigeração 	2	3	4	Ver b	PPRo 3: monitorização da temperatura da água de refrigeração
o branqueamento ou pós-contaminação após o branqueamento)	<ul style="list-style-type: none"> Respeitar a capacidade de refrigeração – o volume de produtos que pode passar pela fase de refrigeração Investigar a necessidade de desinfeção da água para evitar a acumulação de crescimento bacteriano na água de refrigeração 					
Contaminação através do ambiente de produção, dos equipamentos, dos utensílios	<ul style="list-style-type: none"> Programa de limpeza e desinfeção Manutenção técnica Infraestruturas 	2	3	4	P=2, área com um regime de higiene elevado	PPR Limpeza e desinfeção (secção 2.1) PPR Manutenção técnica (secção 2.6) PPR Infraestruturas (secção 2.5)

Contaminação através dos operadores	<ul style="list-style-type: none"> Formação e sensibilização do pessoal Infraestruturas: bloqueios higiénicos entre as diferentes áreas 	2	3	4	P=2, área com um regime de higiene elevado	PPR Pessoal (secção 2.3) PPR Infraestruturas (secção 2.5)
Contaminação através de água contaminada	<ul style="list-style-type: none"> Limpeza e desinfeção do sistema de tubagem da água Avaliação da necessidade de adicionar desinfetante como auxiliar tecnológico para manter a qualidade da água Avaliação do volume de água adicionado aos tanques de refrigeração para renovar a água de refrigeração 	2	3	4	P=2, em função da zona 2	PPR Limpeza e desinfeção (secção 2.1) PPR Gestão da água (secção 2.2)
<p>↳ Normalmente, ao reduzir a temperatura do produto abaixo dos 10 °C, no intervalo de 1 min., com um intervalo máximo de 2 min. (EFSA, 2018b). Evitar permanecer no intervalo de temperatura entre os 50 °C e os 10 °C.</p>						
<p>Triagem/inspeção visual, moagem/picagem, corte em porções/moldagem – classificação de tamanho após a congelação (zona 2: regime de higiene elevado) – figs. 2/3</p>						
Contaminação através do ambiente de produção, dos equipamentos, dos utensílios e dos produtos alimentares que são excluídos após a triagem ótica/visual para serem tratados como resíduos	<ul style="list-style-type: none"> Programa de limpeza e desinfeção Manutenção técnica Infraestruturas 	2	3	4	P=2, área com um regime de higiene elevado	PPR Limpeza e desinfeção (secção 2.1) PPR Manutenção técnica (secção 2.6) PPR Infraestruturas (secção 2.5) PPR Resíduos (secção 2.7)
	<ul style="list-style-type: none"> Recolha correta de resíduos ou remoção de produtos que são excluídos 					
Contaminação através dos operadores	<ul style="list-style-type: none"> Formação e sensibilização do pessoal Infraestruturas: bloqueios higiénicos entre as diferentes áreas 	2	3	4	P=2, área com um regime de higiene elevado	PPR Pessoal (secção 2.3) PPR Infraestruturas (secção 2.5)

Contaminação cruzada proveniente da zona 1	<p>Metodologia de trabalho para evitar a contaminação cruzada:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Utensílios/equipamentos separados para diferentes zonas • Caixotes de lixo para recolher os produtos alimentares que são excluídos 	2	3	4	P=2, área com um regime de higiene elevado	PPR Metodologia de trabalho (secção 2.9)
Ultracongelamento/revestimento (zona 2: regime de higiene elevado) – fig. 3						
Congelamento demasiado lento ou oscilações de temperatura no congelador, resultando num crescimento/contaminação por <i>L. monocytogenes</i> – a temperaturas < -18 °C	<ul style="list-style-type: none"> • Validação e controlo do tempo e da temperatura de congelação • Tempo/temperatura/ciclos de congelação a definir por grupo de produtos (dependendo da natureza dos produtos hortícolas, do seu tamanho, etc.) 	2	3	4	Ver c	PPRo 4: tempo/temperatura de congelação
Contaminação proveniente do interior do túnel de congelação/congelador (por exemplo, formação de biofilme, gotejamento)	<ul style="list-style-type: none"> • Limpeza e desinfeção do túnel de congelação, dos tapetes transportadores, das instalações • Conceção higiénica (incluindo o fluxo de ar) 	2	3	4	P=2, regime de higiene elevado	PPR Limpeza e desinfeção (secção 2.1) PPR Infraestruturas (secção 2.5)
Ar contaminado (por exemplo, o congelador a ar forçado)	<ul style="list-style-type: none"> • Verificar a origem do ar • Limpeza e desinfeção, filtros adequados e limpeza dos filtros e dos evaporadores 	2	3	4	P=2, regime de higiene elevado	PPR Limpeza e desinfeção (secção 2.1) PPR Infraestruturas (secção 2.5)
Água contaminada utilizada para revestimento	<ul style="list-style-type: none"> • Limpeza e desinfeção do sistema de tubagem/evaporador/boca • Utilizar água de qualidade potável 	2	3	4	P=2, regime de higiene elevado	PPR Limpeza e desinfeção (secção 2.1) PPR Gestão da água (secção 2.2)

<p>Uma vez que a <i>L. monocytogenes</i> não é totalmente eliminada durante o branqueamento e pode ocorrer contaminação cruzada, é da máxima importância que não ocorra qualquer crescimento no congelador.</p>						
<p>Enchimento a granel (zona 2-1: regime de higiene elevado para regime de higiene baixo, quando em embalagens fechadas) – fig. 2</p>						
<p>Material de embalagem contaminados</p>	<ul style="list-style-type: none"> Política de aquisição Ambiente de armazenagem limpo e seco No caso de materiais reutilizáveis: higienização adequada 	2	3	4	<p>P=2, regime de higiene elevado devido ao contacto direto dos materiais de embalagem com os produtos ultracongelados</p>	<p>PPR Controlo das matérias-primas (secção 2.8) PPR Infraestruturas (secção 2.5) PPR Limpeza e desinfeção em caso de materiais reutilizáveis (secção 2.1)</p>
<p>Contaminação através do ambiente de produção, dos equipamentos, dos utensílios → utilização de contentores para granel que são transportados e introduzidos num regime de higiene elevado</p>	<ul style="list-style-type: none"> Programa de limpeza e desinfeção Infraestruturas Metodologia de trabalho para os contentores para granel (instruções de utilização) 	2	3	4	<p>P=2, área com um regime de higiene baixo</p>	<p>PPR Limpeza e desinfeção (secção 2.1) PPR Infraestruturas (secção 2.5) PPR Metodologia de trabalho (secção 2.9)</p>
<p>Contaminação através dos operadores</p>	<ul style="list-style-type: none"> Formação e sensibilização do pessoal Infraestruturas: bloqueios higiénicos entre as diferentes áreas 	2	3	4	<p>P=2, área com um regime de higiene elevado</p>	<p>PPR Pessoal (secção 2.3) PPR Infraestruturas (secção 2.5)</p>

<p>Potencial crescimento de <i>L. monocytogenes</i> em caso de oscilações de temperatura dos produtos ou em caso de interrupção do fluxo dirigido ao armazenamento no congelador, devido à falta de monitorização do controlo da temperatura numa parte da fábrica</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Metodologia de trabalho: instruções sobre o transporte contínuo desde os recipientes para granel cheios com produtos hortícolas ultracongelados até ao congelador; fechamento hermético dos contentores para granel • No caso de interrupções de trabalho → medidas corretivas a tomar para os produtos (medições T, amostragem de produtos para a libertação dos lotes) 	2	3	4	<p>P=2, é importante evitar o crescimento e a proliferação</p>	<p>PPR Metodologia de trabalho (secção 2.9)</p>
<p>Rotulagem e armazenagem a granel (zona 3: área segura) – fig. 2</p>						
<p>Prazo de validade/codificação dos produtos incorreta</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Metodologia de trabalho: o prazo de validade será importante no contexto da identificação e da rastreabilidade 	1	3	3	<p>As temperaturas estão demasiado baixas para o crescimento de <i>L. monocytogenes</i> (ultracongelados)</p>	<p>PPR Metodologia de trabalho (secção 2.9)</p>
<p>Danos e contaminação dos produtos com <i>L. monocytogenes</i> durante a armazenagem (por exemplo, gotejamento)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Manter o armazém em boas condições • Metodologia de trabalho: sem embalagens no chão, sem embalagens abertas • Limpeza e desinfeção regulares 	1	3	3	<p>O produto está embalado e ultracongelado (zona 3)</p>	<p>PPR Infraestruturas (secção 2.5) PPR Metodologia de trabalho (secção 2.9) PPR Limpeza e desinfeção (secção 2.1)</p>
<p>Crescimento de <i>L. monocytogenes</i> em caso de condições de temperatura inadequadas</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Controlo da temperatura de armazenagem e do tempo de armazenagem • Metodologia de trabalho: princípio FIFO 	2	3	4		<p>PPR Controlo da temperatura (secção 2.4) PPR Metodologia de trabalho (secção 2.9)</p>

Mistura com especiarias/plantas aromáticas/outros produtos ultracongelados e inspeção (visual/automática) e nova pesagem/reembalagem (zona 2: regime de higiene elevado) – fig. 4						
Contaminação durante a abertura de embalagens a granel	<ul style="list-style-type: none"> • Metodologia de trabalho: abrir as embalagens de forma higiénica (recipientes a granel contendo produtos hortícolas ultracongelados ou recipientes de fornecedores com ingredientes) para evitar que as poeiras ou outras camadas de materiais de embalagem entrem em contacto com os produtos hortícolas ultracongelados 	2	3	4	P=2, regime de higiene elevado e as embalagens estão abertas	PPR Metodologia de trabalho (secção 2.9)
Materiais de embalagem contaminados	<ul style="list-style-type: none"> • Política de aquisição • Ambiente de armazenagem limpo e seco • No caso de materiais reutilizáveis: higienização adequada 	2	3	4	P=2, regime de higiene elevado devido ao contacto direto dos materiais de embalagem com os produtos ultracongelados	PPR Controlo das matérias-primas (secção 2.8) PPR Infraestruturas (secção 2.5) PPR Limpeza e desinfeção em caso de materiais reutilizáveis (secção 2.1)
Contaminação através dos operadores	<ul style="list-style-type: none"> • Formação e sensibilização do pessoal 	2	3	4	P=2, área com um regime de higiene elevado	PPR Pessoal (secção 2.3) PPR Infraestruturas (secção 2.5)
	<ul style="list-style-type: none"> • Infraestruturas: bloqueios higiénicos entre as diferentes áreas 					
Contaminação através do ambiente de produção, dos equipamentos, dos utensílios	<ul style="list-style-type: none"> • Programa de limpeza e desinfeção • Manutenção técnica • Infraestruturas 	2	3	4	P=2, área com um regime de higiene elevado	PPR Limpeza e desinfeção (secção 2.1) PPR Manutenção técnica (secção 2.6) PPR Infraestruturas (secção 2.5)

<p>Tempo limite do congelador demasiado longo, temperatura dos produtos demasiado elevada permitindo o crescimento de <i>L. monocytogenes</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • Controlar o tempo e a temperatura desta área • Metodologia de trabalho: retirar apenas um número restrito de contentores da armazenagem de congelação para evitar o aumento da temperatura dos produtos • No caso de interrupções da produção, tomar medidas corretivas para o produto, por exemplo, medições da temperatura e decisão sobre o que fazer com os produtos (por exemplo, amostragem de lotes e libertação confirmada) 	2	3	4	<p>P=2, área com um regime de higiene elevado</p>	<p>PPR Controlo da temperatura (secção 2.4) PPR Metodologia de trabalho (secção 2.9)</p>
<p>Deteção de metais/rotulagem/armazenagem/transporte (zona 3: área segura, embalagens fechadas) – fig. 4</p>						
<p>Prazo de validade/codificação dos produtos incorreta</p>	<p>Metodologia de trabalho: o prazo de validade será importante no contexto da identificação e da rastreabilidade</p>	1	3	3	<p>As temperaturas são demasiado baixas para o crescimento de <i>L. monocytogenes</i> (ultracongelado)</p>	<p>PPR Metodologia de trabalho (secção 2.9)</p>
<p>Danos e contaminação dos produtos com <i>L. monocytogenes</i> durante a armazenagem (por exemplo, gotejamento)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Manter o armazém e os meios de transporte em boas condições • Metodologia de trabalho: sem embalagens no chão, sem embalagens abertas • Higienização regular 	1	3	3	<p>O produto está embalado e ultracongelado (zona 3)</p>	<p>PPR Infraestruturas (secção 2.5) PPR Metodologia de trabalho (secção 2.9) PPR Limpeza e desinfeção (secção 2.1)</p>

Crescimento de <i>L. monocytogenes</i> em caso de condições de temperatura inadequadas	<ul style="list-style-type: none"> Controlo da temperatura de armazenagem e do tempo de armazenagem (incluindo durante o transporte) Metodologia de trabalho: princípio FIFO 	2	3	4		PPR Controlo da temperatura (secção 2.4) PPR Metodologia de trabalho (secção 2.9)
--	--	---	---	---	--	---

Quadro 3. Controlo e medidas corretivas para os PPRo identificados no plano HACCP (quadro 2)

Observação: cada OESA deve avaliar se estes PPRo são adequados aos fins a que se destinam e deve adaptá-los com maior reforço ao modo de produção específico da empresa

PPRo ou PCC	Fase do processo de produção	Objetivo	Validação	Controlo	Medidas corretivas
PPRo 1	Água contaminada e formação de biofilmes no tanque de lavagem (para as fases de lavagem) – em caso de produtos não branqueados	Evitar a acumulação de <i>L. monocytogenes</i> nos tanques de lavagem	– Avaliar e definir com que frequência e/ou o volume de água nos tanques de lavagem que deve ser renovado – Avaliar e definir as condições para a reciclagem da água e se é necessário o tratamento da água	– Monitorizar a frequência definida para a renovação da água e/ou o reenchimento dos tanques de água – Monitorizar as condições definidas para a reciclagem da água e/ou o tratamento da água (incluindo a desinfecção da água), se necessário	– Renovar a água e reencher os tanques de água – Rever as condições de reciclagem da água e/ou de tratamento da água
PPRo 2	Branqueamento de produtos hortícolas	Tempo de branqueamento demasiado curto/temperatura de branqueamento demasiado baixa, levando a que a <i>Listeria monocytogenes</i> consiga proliferar na água/produto	– Avaliar e definir se a temperatura/tempo pode permitir o crescimento ou a proliferação de <i>L. monocytogenes</i> durante o processo de branqueamento para os diferentes produtos, cortes, estações, etc.	Monitorizar o tempo/temperatura de branqueamento de acordo com o tempo/temperatura validada para os diferentes produtos, cortes, estações, etc.	– Se o tempo e a temperatura de branqueamento não cumprirem os critérios definidos, deve ser efetuada uma avaliação do potencial crescimento de <i>L. monocytogenes</i> – Em caso de potencial crescimento, deve ser feita a renovação ou o tratamento da água de branqueamento e uma amostragem dos produtos para

					avaliar uma potencial contaminação dos produtos
PPRo 3	Refrigeração após o branqueamento	Crescimento de <i>L. monocytogenes</i> quando a refrigeração é demasiado lenta (em caso de sobrevivência após	– Avaliar e definir se a temperatura/tempo de refrigeração pode permitir o crescimento ou a proliferação de <i>L.</i>	– Monitorizar o tempo e a temperatura de refrigeração, conforme definido na validação	– Se o tempo e a temperatura de refrigeração não cumprirem os critérios definidos, deve ser efetuada
		o branqueamento ou de pós-contaminação após o branqueamento)	<i>monocytogenes</i> durante a refrigeração após o branqueamento – Evitar permanecer no intervalo de temperatura entre os 50 °C e os 10 °C através da monitorização da temperatura da água e/ou do fluxo do produto – Avaliar e definir se é necessária a desinfeção da água de refrigeração	– Normalmente, reduzir a temperatura do produto abaixo dos 10 °C, no intervalo de 1 min., com um máximo de 2 min. (EFSA, 2018b)	uma avaliação do potencial crescimento de <i>L. monocytogenes</i> – Em caso de potencial crescimento, deve ser feita a renovação ou o tratamento da água de branqueamento e uma amostragem dos produtos para avaliar uma potencial contaminação dos produtos

<p>PPRo 4</p>	<p>Congelação de produtos hortícolas no túnel de congelação</p>	<p>Congelação demasiado lenta ou oscilações de temperatura no congelador, resultando num crescimento/contaminação por <i>L. monocytogenes</i> – a temperaturas < -18 °C</p>	<p>– Tempo/temperatura/ciclos de congelação a avaliar e definidos por grupo de produtos (dependendo da natureza dos produtos hortícolas, do seu tamanho, etc.)</p>	<p>– Monitorização do tempo/temperatura do túnel de congelação e da temperatura dos produtos</p> <p>– Assegurar que não há acumulação de produtos no túnel de congelação</p>	<p>– Se o tempo/temperatura validada de um determinado produto durante a congelação não for respeitada, deve assegurar-se que não há acumulação do produto no túnel de congelação</p> <p>– Avaliar se a temperatura dos produtos está acima dos -4 °C (a essas temperaturas, pode ocorrer a atividade microbológica e o potencial crescimento de <i>Listeria monocytogenes</i>)</p> <p>– Se for esse o caso, deve ser organizada a limpeza/desinfecção do túnel de congelação</p>
---------------	---	--	--	--	---

4. Amostragem ambiental para o controlo de verificação da *Listeria monocytogenes* enquanto patógeno ambiental e verificação das medidas de prevenção/controlo executadas

Uma vez que a *Listeria monocytogenes* é um patógeno ambiental e a acumulação microbiológica não é visualmente detetável, é necessária a amostragem ambiental para monitorizar o ambiente de produção enquanto potencial abrigo para a *L. monocytogenes*. A monitorização ambiental persegue um triplo objetivo:

- (1) verificar a eficácia das suas medidas de prevenção e de controlo (pré-requisitos e plano HACCP),
- (2) detetar a *L. monocytogenes* e os locais de abrigo, se existentes na fábrica, e
- (3) assegurar que as medidas corretivas eliminaram a *L. monocytogenes* quando detetada na sua fábrica.

As referências importantes no domínio da amostragem ambiental são:

- a) Os princípios do procedimento de amostragem descritos na norma EN ISO 18593:2018 para a amostragem ambiental.
- b) A análise de deteção das amostras ambientais para a *L. monocytogenes* incluída no método padrão da norma EN ISO 11290, parte 1.
- c) O LRUE para a *L. monocytogenes* forneceu um documento que contém as orientações específicas em matéria de amostragem das zonas de transformação e do equipamento para a deteção da *Listeria monocytogenes* (LRUE para a *L. monocytogenes*, 2012).
- a) Assistência técnico-científica urgente para fornecer recomendações relativas à amostragem e aos testes nas fábricas de transformação de produtos hortícolas ultracongelados com vista a detetar a *L. monocytogenes* (EFSA, 2018b).
- b) As referências aos protocolos de análise ambiental podem ser encontradas em Lakshmikanta (2013) e CAC (2007).
- c) É apresentada por Zoellner *et al.* (2019), uma abordagem de modelação interessante para determinar o local de amostragem e o período de amostragem mais adequados numa fábrica de produtos congelados.

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

Importa salientar que nalgumas ocasiões os fabricantes de géneros alimentícios preferem a monitorização ambiental da *Listeria* spp. não patogénica como um indicador da *L. monocytogenes*. Ao visar este grupo mais amplo de *Listeria* spp. como organismo indicador pode conduzir a uma verificação mais robusta da higienização adequada das condições ambientais (sendo, por isso, um bom indicador de uma higiene adequada do processo) e permite a correção de situações que podem conduzir à contaminação por *L. monocytogenes* (CAC, 2007). Mas a utilização da *Listeria* spp. como organismo marcador/indicador para a *L. monocytogenes* é discutível. A *Listeria* spp. também inclui outras espécies que são não patogénicas e que são igualmente microrganismos ubíquos e que se encontram ocasionalmente em alimentos ou num ambiente de produção alimentar. Assim, a mera presença da *Listeria* spp. não indica necessariamente a presença do agente patogénico *L. monocytogenes*. De acordo com a EFSA (2018b), recomenda-se testar diretamente a presença de *L. monocytogenes* em conformidade com o protocolo da norma EN ISO11290, parte 1 (deteção), e no caso de um resultado positivo, recomenda-se vivamente que os isolados confirmados como sendo *L. monocytogenes* sejam enviados para um LNR ou para o LRUE para uma caracterização mais aprofundada (tipagem). Certamente, no caso de investigações epidemiológicas de listeriose com vista a detetar a potencial fonte de *Listeria monocytogenes*, é necessária a realização de testes de *L. monocytogenes* (EFSA, 2018b).

4.2 Locais de amostragem

O plano de monitorização ambiental deve incluir os locais de amostragem selecionados com base no potencial de contaminação do local com *Listeria monocytogenes*. Cabe aos OESA desenvolverem informações históricas sobre os resultados dos testes deste rastreio, a fim de identificar as áreas críticas do ambiente de produção, como, por exemplo, determinados equipamentos (em contacto direto ou indireto), determinados períodos do ano, a produção de determinadas mercadorias, etc.). Um OESA pode gerar uma longa lista de locais de amostragem (incluindo as superfícies que entram e não entram em contacto com os alimentos), a partir dos

quais se podem colher amostras de forma aleatória. Contudo, recomenda-se que todos estes locais de amostragem sejam testados ao longo de um determinado período. É recomendável realizar a diferenciação entre os locais de amostragem em função do seu potencial de contaminação cruzada dos alimentos com *Listeria monocytogenes* e de abrigo do organismo. No quadro 4 é fornecido um exemplo de diferenciação. Na publicação da EFSA (2018b) está representada uma longa lista de potenciais locais de amostragem. É recomendável ter locais de amostragem fixos e locais de amostragem rotativos, que mudam em função de cada período de amostragem, numa proporção de 70/30, o que significa que 70 % dos locais são fixos e 30 % dos locais são alternados para cada ciclo de amostragem.

Quadro 4. Visão geral dos tipos de superfícies que entram e não entram em contacto com os alimentos, potenciais locais de amostragem e frequência de amostragem proposta (com base no quadro 1)

Tipo	Descrição	Exemplos de locais de amostragem	Frequência proposta de amostragem
1	Superfícies que entram em contacto direto com os alimentos	Interiores de tanques, embalagens e tapetes transportadores, tremonhas, interiores de tubagens	Todas as semanas
2	Superfícies que não entram em contacto com os alimentos, mas na proximidade imediata de superfícies que entram em contacto direto com os alimentos	Estruturas das caixas dos equipamentos, paredes, pavimentos ou sifões de drenagem nas imediações diretas de superfícies que entram em contacto com os alimentos	Todos os meses
3	Superfícies mais remotas que não entram em contacto com os alimentos, mas que podem eventualmente conduzir à contaminação	Empilhadores, rodas dos caixotes de lixo/dispositivos, pedilúvios para o pessoal, pavimentos e sifões de drenagem que não entram em contacto direto com as superfícies que entram em contacto com os alimentos	De seis em seis meses
4	Superfícies que não entram em contacto com os alimentos e áreas afastadas do ambiente de transformação	Corredores fora da área de produção, áreas onde são armazenadas as matérias-primas ou os produtos acabados Estruturas das caixas dos equipamentos, paredes, pavimentos ou sifões de drenagem que não se encontram nas imediações diretas de superfícies que entram em contacto com os alimentos	De seis em seis meses

4.3 Frequência de amostragem, período de amostragem, área de amostragem e técnicas de amostragem

A **frequência de amostragem** deve ser mais intensa nas áreas onde é necessário um regime de higiene elevado (ver secção 2.5, «Infraestruturas, equipamentos e dispositivos») e nos locais de amostragem pertencentes ao tipo 1 > 2 > 3 e 4. No caso da investigação epidemiológica, deve ser adotado um plano de amostragem mais conciso, como o apresentado pela EFSA (EFSA, 2018b).

Para além dos locais de amostragem e das frequências de amostragem, também pode ser especificado o **período de amostragem** adequado, durante o qual serão colhidas as amostras ambientais. O momento mais importante para colher estas amostras é várias horas após o início da produção (por exemplo 3 a 4 horas) ou, de preferência, mesmo antes da limpeza, uma vez que esta ação permite à *L. monocytogenes* (se detetada) sair dos locais de abrigo e contaminar o ambiente de produção. Deve ser incluída rotatividade no dia e no período de amostragem para obter um gráfico de dispersão completo das potenciais contaminações. Se forem colhidas amostras num período demasiado próximo após a desinfeção, o agente de desinfeção pode não ser adequadamente neutralizado e pode interferir com o teste analítico. Estão disponíveis mais informações na publicação da EFSA (2018b). Tal como mencionado na secção 3.1, o objetivo desta amostragem ambiental não é verificar se as atividades de limpeza e de desinfeção executadas são eficazes, mas sim para fazer uma verificação completa das medidas preventivas e corretivas aplicadas no controlo da *L. monocytogenes*.

Normalmente, as várias técnicas e áreas de amostragem encontram-se descritas na norma EN ISO 18593:2018 e especificadas nas orientações do LRUE relativas à amostragem das zonas de transformação de alimentos e do equipamento para a deteção da *Listeria monocytogenes* (LRUE para a *Listeria monocytogenes*, 2012). Em suma:

- Para a amostragem de **fissuras e áreas pequenas/estreitas e de difícil acesso**, são utilizados esfregãos para a colheita da amostra; normalmente, é recolhida uma amostra $\leq 100 \text{ cm}^2$ (por exemplo, as fissuras estreitas são objeto de colheita de amostras ao longo de vários metros).
- Para a colheita de amostras em **áreas de grande dimensão**, são aplicados panos ou esponjas esterilizadas; normalmente, $> 100 \text{ cm}^2$ – área total da amostra tão vasta quanto possível para aumentar a probabilidade de deteção de *Listeria monocytogenes*. Recomenda-se uma área entre os 1 000 e os 3 000 cm^2 para a colheita da amostra.

4.4 Tratamento de dados e análise/observação de tendências

Com base nos resultados da análise, é possível construir uma base de dados e conhecimentos históricos. As informações que se seguem podem ser extraídas para obter conhecimentos acerca das potenciais vias de contaminação como parte da observação de tendências: sensibilidade do local de amostragem, mercadoria envolvida, altura do ano (variabilidade sazonal), pessoal envolvido e outras questões que possam influenciar a contaminação, como, por exemplo, a manutenção técnica, as alterações ao nível do pessoal, as alterações ao nível dos equipamentos, a utilização sazonal dos equipamentos, etc. Esta observação de tendências pode ajudar a conhecer o percurso do OESA para perceber quando o ambiente da sua fábrica pode estar mais sensível à contaminação por *L. monocytogenes*. A elaboração de uma planta da fábrica com a identificação dos pontos sensíveis à contaminação pode facilitar a comunicação. Os programas de monitorização ambiental devem ser adaptados para obter novas informações na sequência da revisão das tendências e dos dados.

4.5 Medidas corretivas

No caso de um teste de monitorização com resultado positivo para a *L. monocytogenes*, é necessário um rastreio mais específico nos locais de amostragem positiva e nas zonas circundantes mais abrangentes, e devem ser tomadas medidas corretivas adicionais. As seguintes medidas devem ser tomadas para uma análise das causas profundas e para evitar problemas futuros:

- a) Após a deteção de *L. monocytogenes* nos testes ambientais, recomenda-se vivamente manter os isolados, caso seja necessária uma investigação (interna) mais aprofundada por parte do OESA. Uma investigação mais aprofundada pode incluir a caracterização da estirpe, como, por exemplo, a genotipagem para permitir o rastreio da fonte microbiana. Por exemplo, em caso de resultados positivos recorrentes para a *L. monocytogenes*, a genotipagem dos isolados colhidos pode fornecer informações sobre se a *L. monocytogenes* recorrente está ou não associada a uma determinada estirpe «interna» persistente da *Listeria monocytogenes*. Esta recomendação também é importante em caso de deteção positiva na amostra do produto (ver secção 5.1).
- b) É necessária uma limpeza e desinfeção intensivas da área de amostragem, seguida de uma monitorização de acompanhamento mais intensivo até que a contaminação seja eliminada.
- c) Deve ser estabelecida uma ligação com os lotes de produtos ultracongelados produzidos no mesmo período da contaminação ambiental positiva, a fim de avaliar a potencial contaminação dos alimentos transformados:
 - c1) É necessário efetuar uma avaliação dos riscos bem documentada e uma observação/análise de tendências dos lotes que foram sujeitos a transformação durante o evento de contaminação, tendo em consideração quaisquer outros dados históricos relativos à contaminação por *L. monocytogenes* nos lotes de produtos ou testes ambientais que tenham sido alvo de nota antes da última incidência de *L. monocytogenes* presente na empresa. Esta avaliação dos riscos pode incluir, por exemplo, a identificação de potenciais vias de contaminação dos alimentos que possam advir do ambiente de produção, o tipo de matérias-primas ou os ingredientes utilizados e

as informações do respetivo fornecedor, quaisquer atividades pouco usuais na empresa (por exemplo, mudanças a nível do pessoal, construção em curso, alterações a nível dos procedimentos de limpeza e de desinfeção, utilização de equipamentos sazonais, diferentes parâmetros de transformação, etc.) e deve ser fundamentada mediante dados históricos relativos a testes realizados aos produtos e ao ambiente.

c2) Na ausência de resultados de testes dos produtos finais (dados históricos), e caso uma avaliação dos riscos indique uma maior probabilidade de contaminação dos lotes congelados durante o período de contaminação ambiental detetada, é recomendada a colheita de amostras dos lotes envolvidos para confirmar se o lote produzido ou os lotes produzidos dos produtos finais foram contaminados, devendo estes ser considerados inaceitáveis (recomenda-se, pelo menos, n=5 unidades de amostra por lote analisado para a deteção de *L. monocytogenes* em 25 g).

Em suma, os dados históricos disponíveis (ver c1), em conjunto com os dados relativos a uma amostragem dos produtos finais temporariamente intensificada (se necessário, ver c2) sobre os lotes de produtos ultracongelados produzidos no mesmo período dos testes de monitorização ambiental com resultado positivo para *L. monocytogenes*, devem demonstrar que o produto final cumpre o limite intermédio definido para o produto (de preferência, *L. monocytogenes* não detetada em 25 g e sempre < 10 UFC/g ou qualquer outro limite intermédio definido, ver secção 5.1). Por conseguinte, é necessária uma avaliação dos riscos bem documentada e uma observação/análise de tendências detalhada que permita estabelecer a ligação entre os resultados da amostragem ambiental e as amostras dos produtos, a fim de permitir a compilação de dados históricos.

- d) Avaliação da possível formação de biofilmes, identificar a fonte de contaminação e considerar medidas específicas de remoção de biofilmes.
- e) O programa de monitorização deve ser adaptado (ou seja, outros locais de amostragem, alteração da frequência) para um melhor acompanhamento no futuro.
- f) Organizar uma comunicação clara da contaminação detetada às pessoas envolvidas e responsáveis pela limpeza e desinfeção, bem como pelas atividades de manutenção e operacionais.

4.6 Procedimento de análise ambiental de *L. monocytogenes*

O OESA deve estabelecer um procedimento de análise ambiental que inclua os seguintes aspetos:

- 1) Identificação dos locais de amostragem.
- 2) Determinação da área da superfície de amostra (cm² sujeitos a esfregaço).
- 3) Definição da frequência de amostragem (tendo em consideração os diferentes regimes de higiene e os tipos de locais de amostragem, ver quadro 4), e do período de amostragem.
- 4) Protocolo utilizado para a deteção de *Listeria spp.* ou de *L. monocytogenes* em amostras ambientais num laboratório de controlo da qualidade (ver EFSA, 2018b).
- 5) Método de amostragem (esfregaço ou outros) e transporte das amostras para o laboratório.
- 6) Análise de tendências dos resultados obtidos, para poder identificar as eventuais medidas corretivas ou preventivas adicionais que precisam de ser tomadas como medida corretiva.
- 7) Prever uma revisão anual do procedimento da análise ambiental no que respeita a atualizações de acordo com os novos desenvolvimentos nos domínios da produção (por exemplo, novos equipamentos, outra definição de zonas, etc.), novos elementos nos métodos de produção, etc., a fim de manter o procedimento atualizado.
- 8) Nomear uma pessoa responsável para elaborar este procedimento, acompanhá-lo e tomar medidas em caso de qualquer potencial contaminação.
- 9) Definir um canal de comunicação na organização caso seja detetado um resultado positivo e as medidas corretivas a tomar.

5. Especificações do produto final e comunicação dos riscos aos utilizadores de produtos hortícolas ultracongelados

É evidente que embora possam existir os PPR, o HACCP e um SGSA bem implementado, não é possível excluir, nalgumas situações, a contaminação de alguns produtos ultracongelados com níveis reduzidos de *L.*

monocytogenes (detetada por 25 g, mas normalmente <10 UFC/g). Dado que não está incluída uma medida de inativação térmica integral no processo de produção (o branqueamento foi concebido como um tratamento térmico tecnológico e não está necessariamente validado para permitir uma redução de 6 log de *L. monocytogenes* – ver secção 3, plano HACCP), pode ocorrer a presença de *L. monocytogenes*. Além disso, o processo de ultracongelação decorre após o branqueamento e é um processo aberto. Deste modo, mesmo com a observância de um PPR rigoroso, a contaminação por *L. monocytogenes* não pode ser completamente evitada nos processos de produção típicos e nas infraestruturas aplicadas neste setor dos produtos hortícolas ultracongelados (ver secção 3, plano HACCP). As presentes orientações abrangem os produtos hortícolas congelados, que são considerados produtos não prontos para consumo (não PPC).

Por conseguinte, é importante utilizar uma **estratégia de comunicação clara** para informar os utilizadores acerca dos produtos hortícolas ultracongelados, quer se trate de B2B (como a indústria alimentar, a restauração em instituições ou as atividades horeca) ou de B2C (produtos hortícolas ultracongelados distribuídos a consumidores através de atividades de venda a retalho). Tal deve ser feito não só através da rotulagem ou de especificações técnicas do produto final, como também através de outros canais de comunicação, como sítios Web, planos, brochuras informativas, redes sociais, etc. As necessidades de comunicação devem ser consistentes para evitar mal-entendidos sobre a forma de armazenar, descongelar e preparar ou utilizar adequadamente esses produtos hortícolas congelados.

Na presente secção, são propostos ainda os princípios do plano de amostragem para os testes de produtos finais, as especificações do produto final e as estratégias de comunicação dos riscos, com base nos testes de estimulação realizados (anexo III) e no parecer da EFSA (EFSA, 2020).

5.1 Teste face a um limite intermédio definido para a *L. monocytogenes* para verificar o sistema de gestão da segurança alimentar (SGSA)

Podem ser identificadas diferentes estratégias de amostragem dos **produtos finais (B2B ou B2C)** (ou seja, a amostragem de lotes para a libertação dos lotes e o controlo com vista à deteção da taxa de prevalência de agentes patogénicos nos alimentos com base em abordagens estatísticas).

Contudo, a amostragem é um instrumento na **verificação do SGSA**, por forma a obter informações sobre a segurança dos produtos produzidos com o atual processo de produção e com o sistema de gestão da segurança alimentar implementado. Os testes aos produtos finais refletem a integração efetiva de todas as medidas de prevenção e controlo na formulação e no fabrico de alimentos colocados no mercado (Zwietering *et al.*, 2016). A **amostragem realizada ao longo de todo o ano** no contexto da verificação permitirá aos OESA obterem informações sobre a variabilidade da contaminação, bem como a observação/análise de tendências (por exemplo, em que período do ano ou para que tipo de produtos hortícolas ultracongelados são detetados mais problemas, e qual será a potencial razão para tal). A dimensão efetiva da amostra (ou o número de amostras) para testar os produtos finais numa verificação do SGSA é muitas vezes determinada em função do que é economicamente viável e/ou das exigências dos clientes. Estes **planos de amostragem de conveniência aleatória** também são conhecidos como planos de amostragem pragmáticos ou empíricos (CAC, 2004). O número e o tipo de amostras são selecionados sobretudo de forma intuitiva, com base na experiência e nos conhecimentos do gestor da qualidade ou de operações no local de produção sobre os locais de amostragem e os períodos de amostragem (Uyttendaele *et al.*, 2018).

Na produção e comercialização de produtos hortícolas ultracongelados, os OESA ativos na produção de produtos hortícolas ultracongelados devem conceber um **plano anual de amostragem dos produtos finais no âmbito da verificação do SGSA**, para verificar as medidas de prevenção e controlo aplicadas no controlo da *L. monocytogenes* (figura 1). No plano de amostragem, deve ser estabelecido o número de amostras de produtos finais colhidas anualmente para os diferentes produtos hortícolas ultracongelados como produtos finais (B2B ou B2C) e a frequência de amostragem (ou o intervalo entre a colheita das amostras), tendo em conta o seguinte:

- as diferentes categorias de produtos ultracongelados (ou seja, o tipo de produto hortícola, os produtos individuais ou misturados),
- o tipo de processo de produção (branqueado/não branqueado),
- o volume de produção,
- a potencial sensibilidade quanto à presença de *L. monocytogenes*,
- a sazonalidade da produção,
- a potencial coadjuvante de crescimento ou de não crescimento (ver ponto 4.1),
- etc.

Para um plano anual de amostragem de verificação, as amostras são analisadas para a deteção/não deteção de *L. monocytogenes* em 25 g. Se for detetada a *L. monocytogenes* em 25 g, é necessário realizar uma contagem adicional, nas mesmas amostras, para verificar se os limites intermédios definidos são atingidos (< 10 UFC/g). Contudo, é provável que, devido à distribuição heterogénea de uma contaminação por *Listeria monocytogenes* num lote, alguns produtos estejam contaminados e outros não. Por conseguinte, é possível que, ao reanalisar a mesma amostra, sejam obtidos outros resultados. No plano anual de amostragem, é por isso recomendado efetuar uma contagem direta de *Listeria monocytogenes* numa base regular (por exemplo, a cada x amostras, uma contagem direta de *L. monocytogenes* para demonstrar que o limite intermédio de < 10 UFC/g não é excedido). Os protocolos analíticos são os da norma EN ISO 11290, parte 1 (deteção de *L. monocytogenes* em alimentos) e parte 2 (contagem de *L. monocytogenes* em alimentos), ou métodos rápidos equivalentes (validados em conformidade com a norma ISO 16140). Em caso de deteção positiva, pode ser útil uma caracterização aprofundada dos isolados (tipagem) por um laboratório nacional de referência (LNR) ou pelo laboratório de referência da União Europeia para a *L. monocytogenes* (LRUE para a *L. monocytogenes*) (EFSA, 2018b). Por exemplo, em caso de resultados positivos recorrentes para *L. monocytogenes*, a genotipagem dos isolados colhidos pode fornecer informações sobre se a *L. monocytogenes* recorrente está ou não associada a uma determinada estirpe «interna» persistente da *Listeria monocytogenes* (ver também as medidas corretivas para a monitorização ambiental, parte 4.5). Além disso, com base na amostragem de produtos finais, pode ser elaborada uma **análise/observação de tendências** para obter informações acerca das potenciais contaminações de produtos e das fontes de contaminação dos fatores acima indicados.

5.2. Especificações dos produtos finais e comunicação dos riscos

As orientações apresentadas abrangem os produtos hortícolas congelados, que são considerados produtos não prontos para consumo (não PPC). Contudo, a PROFEL compreende que alguns consumidores (profissionais ou não) podem não ler o rótulo e tem em consideração o «abuso razoavelmente previsto», ou seja, que alguns destes produtos hortícolas são utilizados como produtos prontos para consumo e não são cozinhados antes do consumo. Além disso, o setor tem em consideração o «abuso razoavelmente previsto» devido ao facto de alguns consumidores não descongelarem adequadamente os alimentos ou não os aquecerem totalmente (menos de 2 minutos a 70 °C).

Por conseguinte, o setor visa prevenir, através de boas práticas como as estipuladas nas orientações, a contaminação dos alimentos congelados com *L. monocytogenes* (ou seja, o valor-alvo não é detetado em 25 g) e com base nos testes de estimulação (ver anexo III), incluindo o abuso razoavelmente previsto na descongelação sob refrigeração (testes de estimulação realizados num frigorífico a uma temperatura de 9±1 °C, ou seja, superior à temperatura recomendada no rótulo – e utilizando um isolado de *L. monocytogenes* de crescimento rápido colhido do surto do milho-doce congelado que ocorreu em 2018), estabeleceu um limite intermédio < 10 UFC/g.

Importa salientar que o potencial de resultados falsos positivos é baixo, quer com o método de deteção de *L. monocytogenes* (ISO 11290-1) quer com o método de contagem de *L. monocytogenes* (ISO 11290-2) ou com os métodos de deteção rápida validados (ISO16140) equivalentes, mas que, de facto, a distribuição bacteriana não homogénea pode explicar a discordância entre os resultados caso a contagem e a deteção sejam efetuadas noutra subamostra do lote, particularmente no caso de contagens baixas. Além disso, importa salientar que as amostras e os testes têm restrições para assegurar a segurança alimentar de um lote de alimentos (estão

disponíveis mais informações no sítio Web da ICMSF: <http://www.icmsf.org/>).

Com base nos testes de estimulação (vide anexo III), no parecer da EFSA (2020) e na discussão de peritos no contexto da elaboração das presentes orientações de higiene, **são propostas para os produtos hortícolas ultracongelados (como produtos não prontos para consumo) as seguintes especificações do produto final combinadas com o rótulo do produto e a comunicação dos riscos:**

	Valor-alvo – após a produção	Limite intermédio – após a produção	Ao longo do seu prazo de validade, durante a armazenagem congelada e a descongelação/armazenagem no frigorífico ¹
<i>L. monocytogenes</i>	Não detetada em 25 g (a)	< 10 UFC/g (b)	< 100 UFC/g (c)

¹ Nota: os produtos hortícolas congelados são considerados como alimentos não prontos para consumo (não PPC).

- a) o valor-alvo caso sejam cumpridas as orientações de higiene propostas ao nível do setor para a produção de produtos hortícolas ultracongelados com o controlo da *L. monocytogenes*;
- b) pese embora os PPR, o HACCP e um SGSA bem implementado, não se pode excluir a possibilidade de que, ocasionalmente, os produtos hortícolas ultracongelados sejam contaminados com baixos níveis de *L. monocytogenes*, por isso, o limite intermédio pode ser definido em < 10 UFC/g;
- c) o objetivo de segurança alimentar no que respeita à *L. monocytogenes* para garantir alimentos seguros aos consumidores (para o grupo da população não suscetível: para a definição, vide secção 5.2.2)

5.2.1. Comunicação dos riscos através do rótulo do produto

Tendo em consideração o resultado dos testes de estimulação de *L. monocytogenes* para avaliar o comportamento do agente patogénico durante a descongelação/armazenagem refrigerada dos produtos hortícolas congelados em condições que se pudessem razoavelmente prever no domicílio do consumidor (vide anexo III), é recomendada uma comunicação dos riscos adicional e informações aos utilizadores no rótulo dos produtos, nas especificações técnicas, nas informações disponíveis no sítio Web, nas redes sociais, etc. Com base nos resultados e nas potenciais diferenças de crescimento da *L. monocytogenes* obtidos nos testes de estimulação realizados (anexo III) e na modelação do crescimento realizada pela EFSA (EFSA, 2020), é recomendável a utilização de uma comunicação dos riscos para o milho-doce congelado e para as batatas-doces congeladas diferente da dos outros produtos hortícolas congelados.

1) Para o milho-doce e as batatas-doces congelados:

Dado o potencial de crescimento da *L. monocytogenes* estabelecido em mais de 1 log₁₀ no intervalo de 24 h de tempo de descongelação/armazenagem refrigerada, o milho-doce e as batatas-doces congelados devem ser considerados como alimentos congelados não prontos para consumo.

Por isso, recomenda-se a comunicação aos consumidores, de forma consistente e ao nível do setor, através do rótulo da embalagem para venda a retalho. O rótulo dos produtos finais embalados no caso de embalagens B2B ou B2C deve mencionar claramente:

- (1) Condições para a armazenagem congelada adequada (tempo/temperatura) a -18 °C e -12 °C.
- (2) Conselhos sobre a utilização dos produtos:
 - a. *Necessidade de cozedura (produto não PPC) e instruções de cozedura (por exemplo, modo, tempo e temperatura)*;*
 - b. «Cozinhar congelado» (sem descongelação prévia e armazenagem refrigerada)

recomendada/consumir só após o aquecimento completo, ou seja, pelo menos 2 minutos acima dos 70 °C).

*Além disso, o consumo de produtos hortícolas congelados como PPC pelos utilizadores finais pode ser desencorajado fazendo referência às instruções de preparação (várias sugestões de tratamento térmico) contidas no rótulo.

2) Para outros produtos hortícolas congelados:

Dado o potencial de crescimento da *L. monocytogenes* estabelecido ser inferior a 1 log₁₀ no intervalo de 24 h de tempo de descongelação/armazenagem refrigerada, os outros produtos hortícolas congelados sujeitos aos testes de estimulação (as ervilhas, as pastinagas, a couve-branca) e os outros produtos hortícolas congelados que foram incluídos na categoria de produtos hortícolas congelados e classificados como tendo um menor risco do que os cinco produtos hortícolas congelados selecionados, que fizeram parte dos testes de estimulação da *L. monocytogenes* (ver anexo III), não devem ser descongelados ou sujeitos a armazenagem refrigerada durante mais de 24 h. Também são utilizados como alimentos não prontos para consumo.

Por isso, recomenda-se a seguinte comunicação aos consumidores, de forma consistente e ao nível do setor, através do rótulo da embalagem para venda a retalho. O rótulo dos produtos finais embalados no caso de embalagens B2B ou B2C deve mencionar claramente:

- (2) Condições para a armazenagem congelada adequada (tempo/temperatura) a -18 °C e -12 °C.
- (3) Conselhos sobre a utilização dos produtos:
 - a. *Necessidade de cozedura (produto não PPC) e instruções de cozedura (por exemplo, modo, tempo e temperatura)*;*
 - b. *Instruções de descongelação (se necessário);*
 - c. *Descongelação e armazenagem refrigerada restringidas a um máximo de 24 h a 5-7 °C**.*

*Além disso, o consumo de produtos hortícolas congelados como PPC pelos utilizadores finais pode ser desencorajado fazendo referência às instruções de preparação (várias sugestões de tratamento térmico) contidas no rótulo.

**Temperatura de refrigeração entre 5-7 °C ou mediante especificação da autoridade nacional competente, uma vez que a legislação nacional relativa à temperatura dos produtos pode diferir entre os Estados-Membros da UE.

5.2.2. Comunicação dos riscos aos grupos suscetíveis

No caso dos produtos hortícolas congelados destinados às atividades de restauração ou aos serviços dirigidos aos consumidores suscetíveis, estes produtos hortícolas congelados devem ser considerados não PPC e, por isso, é obrigatório um tratamento térmico adequado durante a cozedura e tal deve ser claramente comunicado aos serviços de restauração ou ao grupo suscetível à listeriose, em particular às mulheres grávidas, aos idosos com mais de 74 anos e aos doentes imunocomprometidos, ou seja, com doenças subjacentes reconhecidas, como a doença do fígado, cancro e diabetes, ou submetidos à transplantação de órgãos. Estes grupos de pessoas cujas condições subjacentes foram associadas à maior incidência de listeriose representam cerca de 1 % da população total (em França), mas representaram 43 % dos casos e 55 % dos óbitos (Goulet *et al.*, 2012). Em vez de se dirigirem diretamente a estas pessoas, poderá ser igualmente útil informar claramente o seu pessoal médico, os profissionais de saúde, os prestadores de cuidados ou os profissionais que fornecem orientações dietéticas a estas pessoas, acerca da necessidade de condições de descongelação adequadas («Descongelação e armazenagem refrigerada restringidas a um máximo de 24 h a 5-7 °C») e para todos os produtos hortícolas ultracongelados para salientar a «necessidade de cozinhar totalmente os alimentos e atingir, pelo menos, 2 minutos a uma temperatura acima dos 70 °C» antes do consumo.

A comunicação a estes grupos de consumidores suscetíveis é uma iniciativa a ser adotada também pelos organismos de saúde pública, pelas autoridades de segurança alimentar ou pelas organizações não governamentais ativas neste domínio dos cuidados de saúde. Contudo, trata-se também de uma

responsabilidade partilhada com outras partes interessadas da cadeia alimentar: em particular, quando os produtos hortícolas ultracongelados são vendidos num contexto B2B a serviços de restauração em instituições, como hospitais ou unidades de cuidados residenciais, deve ser tido em consideração este tipo de comunicação dos riscos.

Ainda assim, os produtos hortícolas ultracongelados continuam a ser a melhor (e única) alternativa, se adequadamente sujeitos a um tratamento térmico antes do consumo, para as pessoas com doenças subjacentes reconhecidas ou com doenças que inibem a imunidade mediada por células, e para as mulheres grávidas ingerirem produtos hortícolas (como parte de uma dieta saudável), visto que não é recomendado o consumo de produtos frescos para estes grupos suscetíveis que carecem de uma dieta (neutropénica) com baixa carga microbiana.

Nas ligações abaixo, estão disponíveis algumas orientações para estas pessoas/profissionais de saúde:

- <https://www.health.belgium.be/nl/advies-9311-listeriose> e o anexo constante deste documento (holandês/francês) descarregável que contém diversas ligações para recomendações em vários países,
- <https://www.food.gov.uk/research/research-projects/development-of-an-initial-report-for-reducing-the-risk-of-vulnerable-groups-contracting-listeriosis>
ou <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- <i>Listeria</i> 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

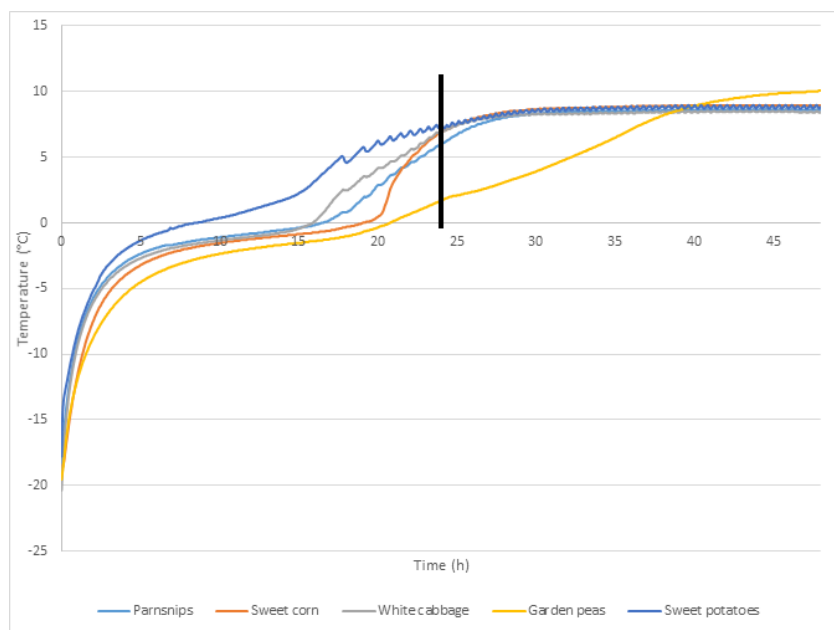
Table 1 *L. monocytogenes* growth potential after 24h & 48h defrosting in a refrigerator at 9°C

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

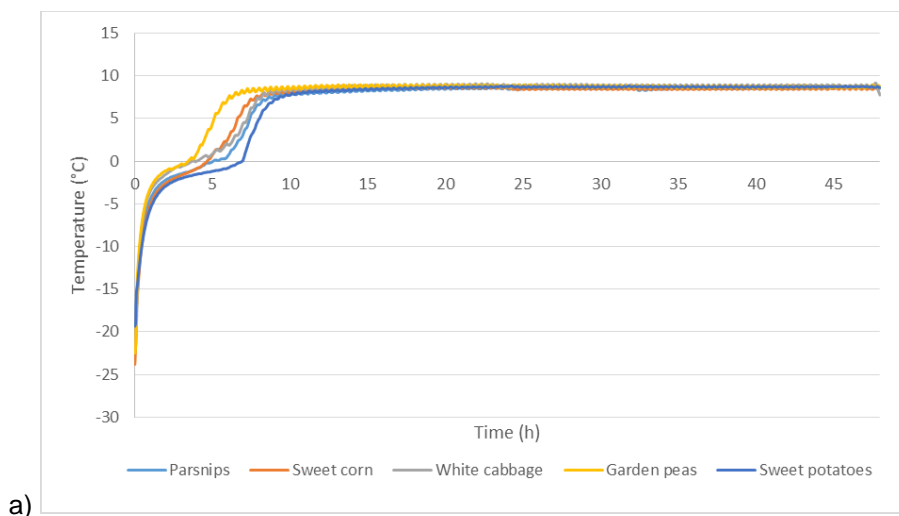
Batch 1: temperature profile (high volume loading : 11-7 kg; 5 frozen vegetables in 1 set-up)

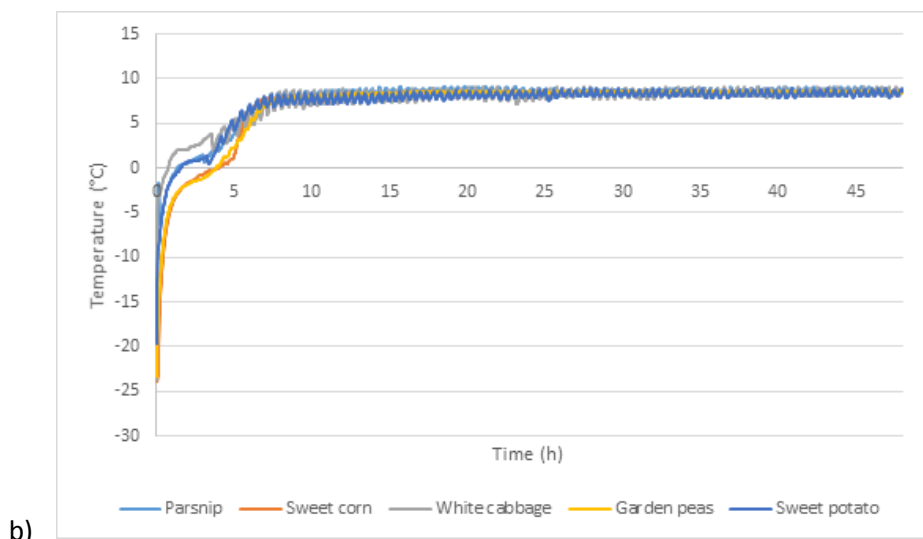
Figure 1. Measured temperature profile of a 1 x 200g pack for each type of frozen pre-cut vegetable transferred from the freezer (-18°C) to a refrigerator at 9°C during 48h residence time (Temperature recorded with i-button temperature loggers (Maxim Integrated, California, USA) (Refrigerator 331 L volume – 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.

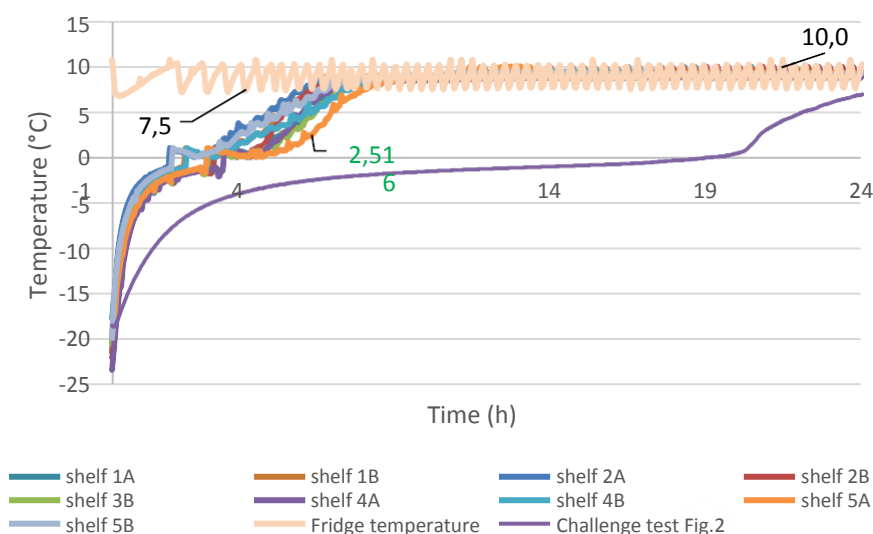


Figure 3. Measured temperature profile of 9 out of 10 x 200g defrosting frozen packs of sweet corn (2 kg or 2000 g of defrosting frozen sweet corn in total) transferred from the freezer (-18°C) into an (otherwise empty) refrigerator at 9°C during 48h residence time (Temperature recorded with i-button 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 essentials 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.