

LE MTA IN TOSCANA IL RUOLO DEI LABORATORI DI ANALISI DEGLI ALIMENTI

Centro di Riferimento Regionale per le
Tossinfezioni Alimentari



Il sistema di sorveglianza delle MTA della Regione Toscana Il Centro di Riferimento Regionale sulle Tossinfezioni Alimentari (Ce.R.R.T.A.)

Il Centro di Riferimento Regionale sulle Tossinfezioni Alimentari nasce nel 1999 con deliberazione della Giunta Regionale e sulla base di quanto previsto dall'azione programmata "Alimenti e nutrizione" del Piano Sanitario Regionale 1999-2001

Il Centro nasce in considerazione delle criticità rilevate :

1. l'utilizzo delle sole notifiche mediche secondo il DM 15/12/1990 **sottostima** il fenomeno sia per la **mancaza stessa della notifica** sia per l'**esclusione** di tutti gli episodi sospetti o non da agenti trasmissibili
2. le indagini per MTA al momento sono strettamente incentrate sull'aspetto "umano" **non individuando l'identificazione dell'alimento come una delle priorità**
3. per l'**organizzazione "chiusa" delle strutture di prevenzione** regionali casi clinici correlati epidemiologicamente tra di loro in realtà sono riportati come casi sporadici e non riconosciuti come focolaio

Al Centro vengono assegnati come compiti fondamentali:

1. Definire l'**entità** del problema
2. **Disegnare** e **gestire** il Sistema di Sorveglianza
3. Migliorare il know-how degli operatori riguardo alle malattie veicolate da alimenti, sia in termini prettamente **scientifici** (definizione di caso, corretto riconoscimento degli agenti responsabili e ampliamento delle conoscenze sui serbatoi alimentari tipici) che in termini **gestionali** (conduzione efficace e coordinata di un'inchiesta per MTA)

COMPITI DEL CERRTA SONO:

- 1) **Raccogliere** i report inviati dalle aziende sugli episodi di MTA, valutarne la congruità, chiedere eventuali integrazioni ed infine inserirli in apposito database
- 2) **Aggregare** i dati regionali e redigere un report annuale sulla epidemiologia di tali patologie da presentare alle Autorità Sanitarie responsabili della implementazione delle misure di controllo
- 3) **Produrre** bollettini trimestrali sui dati parziali e sui maggiori episodi verificatisi a livello regionale e non solo
- 4) **Correlare** tra loro casi sporadici o episodi di gruppo individuando un alimento comune
- 5) **Allestire strumenti operativi** al servizio delle Aziende per ottimizzare l'inchiesta epidemiologica
- 6) **Organizzare** o partecipare come docente ad **eventi formativi** aziendali o regionali
- 7) **Diffondere** a livello regionale e non solo, conoscenze, documenti e strumenti utili nel campo della gestione delle MTA

Le malattie trasmesse da alimenti in Toscana – I focolai

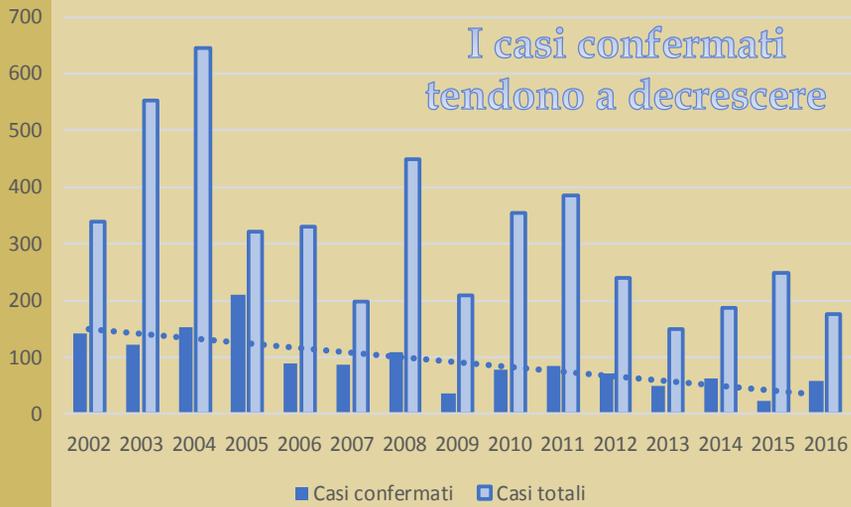
	TCE	TNO	TSE	Focolai		Casi totali	Casi confermati	% casi confermati
				regionali	Totali			
2002	11	20	14		45	338	142	42,0
2003	11	15	12		38	553	121	21,9
2004	15	13	13		41	645	153	23,7
2005	10	9	6		25	321	211	65,7
2006	17	8	8		33	330	88	26,7
2007	11	10	4		25	198	87	43,9
2008	13	10	6		29	449	108	24,1
2009	12	9	3		24	209	36	17,2
2010	16	8	12		36	355	77	21,7
2011	18	22	3		43	385	85	22,1
2012	21	12	12		45	239	72	30,1
2013	11	14	7	1	33	150	50	33,3
2014	14	16	14	1	45	187	62	33,2
2015	14	10	10		34	248	22	8,9
2016	19	16	9		44	175	59	33,7
	213	192	133	2	540	4782	1373	

Tasso di notifica

Il dato toscano può essere confrontato solo con il dato Europeo perché i numeri sui focolai di MTA in Italia si fermano al 2009 (SIMI)

TASSO DI NOTIFICA TOSCANA 2015	TASSO DI NOTIFICA MEDIO DEGLI STATI MEMBRI	TASSO DI NOTIFICA ITALIA DA REPORT EFSA
0,91 focolai/100,000 abitanti	0,95 focolai/100,000 abitanti	0,06 focolai/100,000 abitanti

Le prime criticità



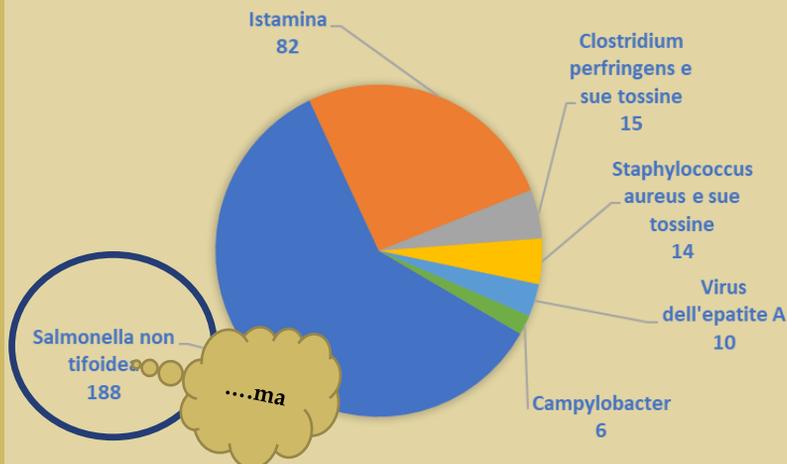
% di focolai in cui sono state eseguite analisi biologiche sui casi

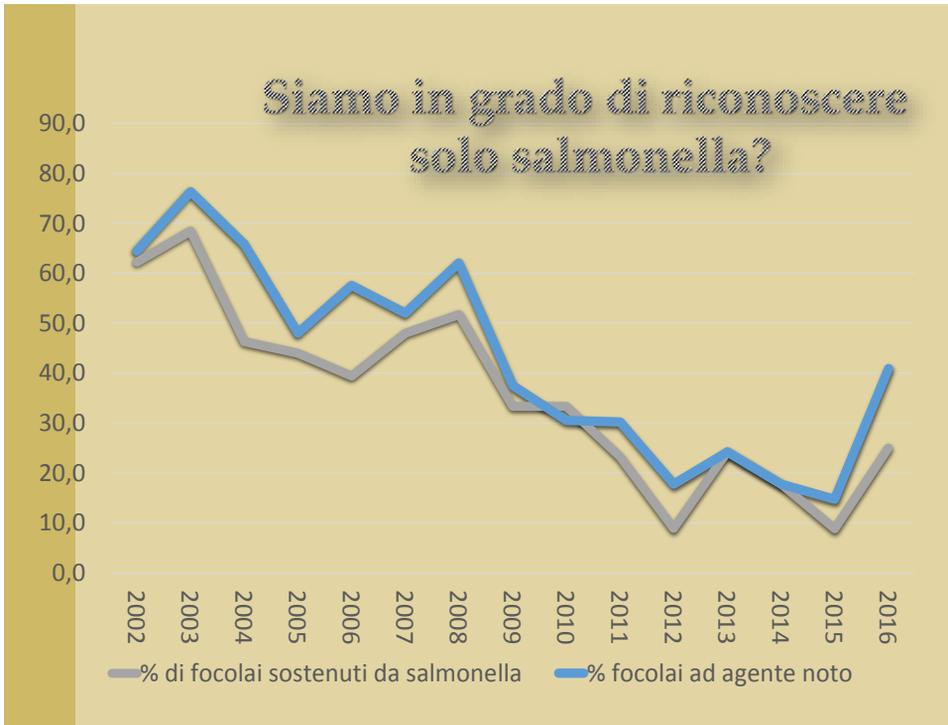


perché non si fanno più analisi sui casi?

- La disponibilità delle persone a portare campioni biologici si è ridotta (scarsa fiducia ???)
- In alcune situazioni le persone sono irreperibili (gruppi turistici, profughi e immigrati etc)
- Non viene effettuata la ricerca attiva dei casi (Decreto Rosy Bindi) **PRIVACY?????**
- Le risorse in Sanità Pubblica sono ridotte rispetto ai primi anni di sorveglianza
- Sono insorte nuove emergenze (tubercolosi, meningite, morbillo, epatite A in MSM) che hanno dirottato le già esigue risorse
- Manca il feed-back informativo che renda consapevoli dell'utilità delle proprie azioni

I «top six» degli agenti responsabili del focolaio

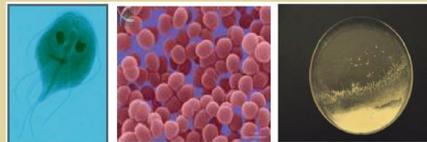




Non c'è conoscenza dei patogeni emergenti

Le richieste non sono congrue (sintomi e tempi di insorgenza) né quelle dei medici né quelle dei Dipartimenti di Prevenzione

Si continua a chiedere «coprocultura»



Guida per la richiesta di accertamenti microbiologici e sierologici su pazienti in caso di Malattia Trasmessa da Alimenti



Indicazioni sul tipo di richiesta da eseguire

SUDDIVISIONE DELLE PATOLOGIE DOVUTE A CONSUMO DI ALIMENTI IN BASE AL TIPO DI SINTOMI E AI TEMPI DI INSORGENZA

1. Nausea, vomito senza febbre entro 8 ore dal consumo

AGENTE	PERIODO DI INCUBAZIONE	SINTOMI PREVALENTI	DURATA	TRASMISSIBILITA'	TARGET	ACCERTAMENTI DIAGNOSTICI
Tossina emetica di <i>Bacillus cereus</i>	30' - 6 ore	Nausea e vomito a comparsa improvvisa. Puci essere presente diarrea in concomitanza con la presenza di stipti produttori di tossina diarroica	6 - 24 ore	Non trasmissibile (tossina preformata nell'alimento)	Tutta la popolazione	Ricerca di ceppi tossigeni nel vomito e nelle feci
<i>Staphylococcus aureus</i> enterotossigeno	1 - 7 ore	Nausea vomito e diarrea	6 - 24 ore	Non trasmissibile (tossina preformata nell'alimento)	Tutta la popolazione con ampia dei intensità dei sintomi variabile	Ricerca di ceppi tossigeni nel vomito e nelle feci

2 . Crampi addominali e diarrea, senza febbre, entro 24 ore dal consumo

AGENTE	PERIODO DI INCUBAZIONE	SINTOMI PREVALENTI	DURATA	TRASMISSIBILITA'	TARGET	ACCERTAMENTI DIAGNOSTICI
<i>Bacillus cereus</i> (tossina diarroica)	6 - 15 ore	Crampi addominali, diarrea	24 - 36 ore	Non trasmissibile (enterotossina prodotta in vivo dopo l'ingestione di alimento)	Tutta la popolazione	Ricerca di ceppi tossigeni nel vomito e nelle feci
<i>Clostridium perfringens</i>	8 - 12 ore (6-24)	Crampi addominali, diarrea	24 ore	Non trasmissibile (enterotossina prodotta in vivo dopo l'ingestione di alimento)	Persone che consumano pasti in mense scolastiche, ospedali, case di cura, carceri etc in cui grandi quantità di cibo vengono preparate diverse ore prima del servizio.	Coltura quantitativa delle feci ($\geq 10^4$) Ricerca diretta della tossina nelle feci

QUALI ACCERTAMENTI ESEGUIRE IN UN PAZIENTE CON SOSPETTA MALATTIA TRASMESSA DA ALIMENTI?

TIPO DI PATOLOGIA PREDOMINANTE	ACCERTAMENTI MINIMI	IN CASO DI	ULTERIORI ACCERTAMENTI	NOTIZIE DA ACQUISIRE E TRASMETTERE AL SERVIZIO IGIENE PUBBLICA
Diarrea acuta moderata/severa con ipertermia significativa (> 38,5°C) Diarrea acuta moderata/severa in soggetto anziano	Salmonella Campylobacter	Presenza di sangue nelle feci	E.coli enteroemorragico	Consumo di pasto comune con altre persone sintomatiche
		Presenza di dolore al quadrante addominale inferiore destro	Yersinia enterocolitica Yersinia pseudotuberculosis	
		Balneazione/consumo di acqua non controllata (pozzi, fontanelle, torrenti, fiumi etc)	Giardia intestinalis Cryptosporidium Aeromonas	Ubicazione della fonte di acqua
		Consumo di molluschi bivalvi e/o crostacei crudi	Vibrio parahaemolyticus	Consumo di pasto comune con altre persone sintomatiche
		Nausea, meteorismo, flatulenza	Giardia intestinalis Cyclospora cayentanensis	Paese di provenienza
		Dolori addominali lancinanti e protratti	Clostridium perfringens	Consumo di pasto comune con altre persone sintomatiche
Diarrea acuta con febbre e sangue/muco/pus in soggetti provenienti da paesi extracomunitari (*)	Escherichia coli enterotossico (ETEC) Escherichia coli enteroaderente (EAEC) Salmonella Shigella Campylobacter Aeromonas/Plesiomonas	Diarrea persistente	Cryptosporidium	Paese di provenienza
		Diarrea profusa		
		Diarrea con sangue	Entamoeba histolytica Vibrio	
Diarrea protratta o persistente in soggetto immunocompetente	Salmonella Campylobacter Giardia intestinalis Cryptosporidium			
Diarrea protratta o persistente in soggetto immunocompromesso	Salmonella Campylobacter Cryptosporidium Microsporidi	Pazienti sintomatici con AIDS	Mycobacterium avium complex	

Quali laboratori?

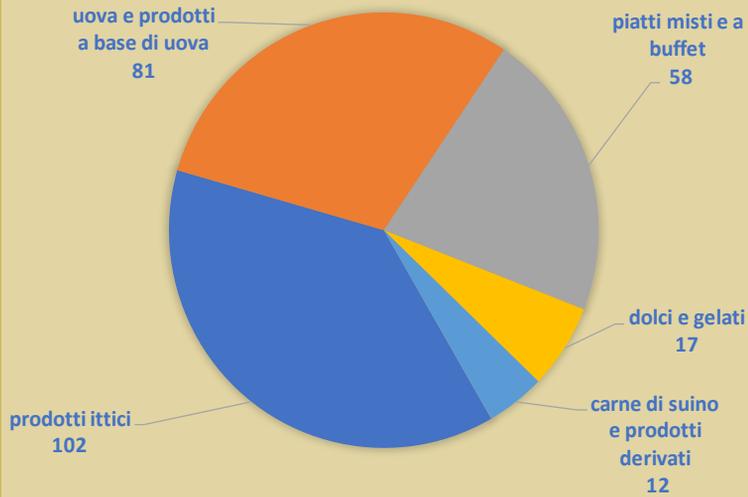
Se un laboratorio di primo livello non ha una convenzione con un laboratorio di secondo livello gli esami più complessi (biologia molecolare) e con richieste sporadiche (IgM Epatite E) non vengono eseguiti.

**Perché non utilizzare
il Laboratorio di
Sanità Pubblica
per le ricerche
Microbiologiche su campioni
umani ?**

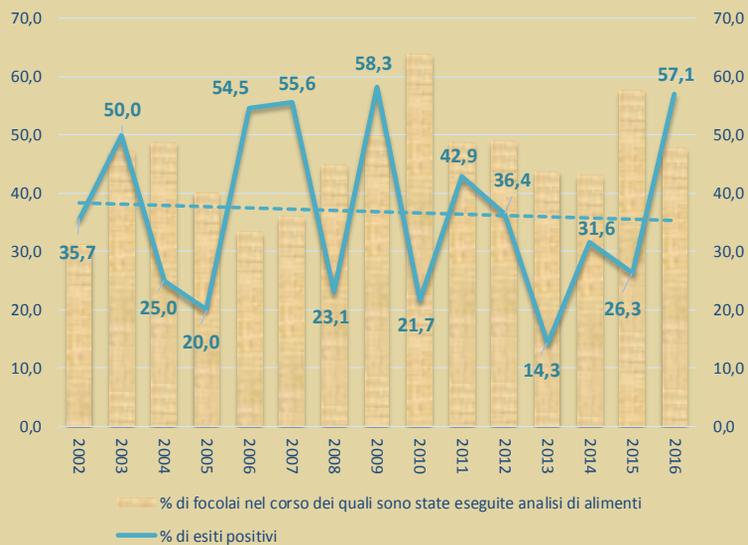
Gli altri agenti coinvolti....

Clostridium botulinum	4
Bacillus cereus e sue tossine	3
Clostridium perfringens	3
Norovirus	3
Listeria monocytogenes	2
Shigella	2
acido peracetico	1
Bacillus cereus	1
Biotossine marine	1
Colchicum autumnalis	1
Escherichia coli enteroemorragico STEC	1
Francisella tularensis	1
Giardia lamblia	1
Trichinella spp.	1
Vibrio parahaemolyticus	1
Yersinia enterocolitica	1

I «TOP FIVE» TRA LE CATEGORIE DI ALIMENTI RESPONSABILI



La percentuale dei focolai con esito positivo del prelievo di alimenti è stabile nel tempo



...esiti degli esami su alimenti

TIPO DI RICERCA	N° di test effettuati	Presenti	Dose significativa	POSITIVI	% positività
Salmonella	208			10	4,8
S.aureus	147	17	1		
Tossine di S.aureus	129			3	2,3
Listeria monocytogenes	129			2	1,6
B.cereus	128	15	1		
C.perfringens	126	6	3		
Yersinia enterocolitica	86			2	2,3
Tossina diarroica di B. cereus	77			2	2,6
Tossine di C.perfringens	72			0	0,0
Istamina	47			20	42,6
E. coli VTEC	32	5		3	9,4
Campylobacter	29	0		0	0
Tossina di C. botulinum **	16			1	6,3
Shigella	10			0	0,0
V.parahaemolyticus	8			0	0,0
Stafilococchi coagulasi +	7	3	0		
V. cholerae	4			0	0,0
Trichinella spp.	3			2	66,7
Norovirus	3			1	33,3
Tossine algali	2			0	0,0
Giardia lamblia	1			1	100,0

I motivi di questa bassa performance?

- Alimenti irreperibili per ritardi nella segnalazione e di conseguenza nel sopralluogo
- Prelievo di alimenti non correlati né per matrice né per patogeno con i casi con conseguente richiesta di «tutti» gli agenti responsabili di MTA
- Mera constatazione dell'assenza dell'alimento sospetto senza conduzione di un'indagine accurata sulle modalità di preparazione, conservazione, trasporto etc il che potrebbe coinvolgere anche materie prime per le quali occorrerebbe un'accurata analisi di rintracciabilità

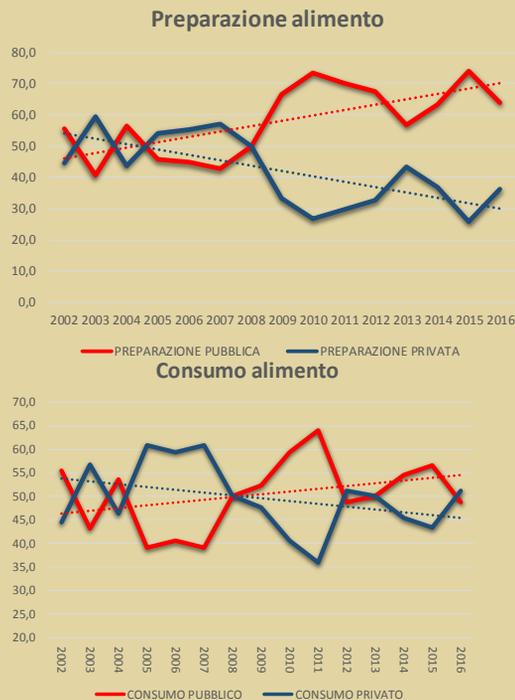
I luoghi di preparazione e consumo dell'alimento sono molti ma essenzialmente riconducibili a due grosse categorie: **preparazione e consumo domestici e non domestici cioè in esercizi pubblici** (ristoranti, bar, gastronomie etc) e **mense comunitarie** (ospedaliere, scolastiche, aziendali etc.)

Le attività preventive sono estremamente diverse nei due tipi di setting: nella categoria esercizi pubblici il sistema di preparazione/somministrazione di alimenti **è regolamentato da normative europee e nazionali sulla sicurezza alimentare** e gli addetti devono sottostare **a regole ben precise per quanto riguarda la formazione** e l'addestramento, definite anche queste da norme europee, nazionali e regionali. Per questo le attività preventive di focolai in esercizi pubblici devono comprendere **il controllo da parte delle Autorità Competenti del rispetto da parte dell'OSA di tali norme, compresa la formazione degli addetti**

La prevenzione degli episodi domestici invece passa attraverso l'informazioni/educazione del consumatore che deve essere consapevole dei rischi legati agli alimenti e alle attività di conservazione e manipolazione domestica di ciò che è destinato al consumo familiare



Si conferma, come negli ultimi anni, la tendenza ad un aumento dei focolai in esercizi pubblici/mense, con una differenza tra i due setting che è ampia per quanto riguarda le attività di preparazione e meno ampia per quanto riguarda i luoghi di consumo.



CRITERIO MICROBIOLOGICO: DEFINIZIONE

REGOLAMENTO (CE) n. 2073/2005 DELLA COMMISSIONE del 15 novembre 2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari

Art 2 – comma b

Criterio che definisce l'accettabilità di un prodotto, di una partita di prodotti alimentari o di un processo, in base all'assenza, alla presenza o al numero di microrganismi e/o in base alle quantità delle relative tossine/metaboliti, per unità di massa, volume, area o partita

Utilizzi attuali dei criteri microbiologici:

- Verificare i processi (verifica HACCP) (OSA)
- Verifica protocolli di sanificazione (OSA)
- Indagini epidemiologiche (AC)
- Controllo ufficiale (AC)



I CRITERI MICROBIOLOGICI NEL CONTROLLO UFFICIALE

Fin dall'entrata in vigore del Regolamento CE 2073/2005, il controllo ufficiale in Italia, come anche in altri paesi europei, è stato sempre applicato anche per combinazioni parametro/matrice non previsti dal suddetto regolamento.

COME VALUTARE GLI ESITI DI QUESTE COMBINAZIONI?



REGIONE PIEMONTE
Direzione Sanità
Settore Prevenzione e Veterinaria

26 APR. 2012
Protocollo n. 22464 /DB 26.17
Identificazione: 014.130.090

Al Ministero della Salute
Dipartimento della Sanità Pubblica
Veterinaria, della Sicurezza Alimentare
e degli Organi Collegiali per la Tutela
della Salute
Direzione Generale per l'Igiene e la
Sicurezza degli Alimenti e della
Nutrizione
Via Giorgio Ribotta n.5
ROMA

Approvazione da parte della Regione Piemonte del Protocollo Tecnico

Oggetto: Protocollo tecnico per l'effettuazione dei controlli microbiologici sugli alimenti e l'interpretazione e gestione degli esiti analitici.

Si trasmette in allegato la D.D. n.284 del 20 aprile 2012 con la quale è stato approvato il protocollo in oggetto, redatto d'intesa con l'Istituto Zooprofilattico del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, al fine di assicurare il pieno adempimento a quanto previsto dall'art.4, comma c, del regolamento (CE) n.853/2004.

Distinti saluti.

Il Dirigente del Settore
Gianfranco COGHIALLOIA

Ministero della Salute
DGISAN
021591-4-03/25/2012

Ministero della Salute
DGISAN
0223775-P-04/07/2012

Ministero della Salute
Dipartimento della Sanità Pubblica Veterinaria
della Sicurezza degli Alimenti e degli organi collegiali per la
tutela della salute
Direzione Generale per l'Igiene e la Sicurezza degli Alimenti e
della Nutrizione
10127-011

ISS
c.a. Dr. Umberto Agrimi
Viale Regina Elena 299
00161 Roma
E.p.e. Ufficio II
sede

Richiesta di parere da parte del MdS all'ISS sul protocollo

Oggetto: Protocollo tecnico della Regione Piemonte per l'effettuazione dei controlli microbiologici - Richiesta parere.

In riferimento alla determinazione della regione Piemonte trasmessa in allegato, si richiede il parere tecnico di codesto rispettabile Istituto in merito al protocollo tecnico per l'effettuazione dei controlli microbiologici sugli alimenti e l'interpretazione e gestione degli esiti analitici.

Si ringrazia per la collaborazione.

Il Direttore Generale
Dr. Silvio Neriello


ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ
 Dipartimento di Sanità Pubblica
 Epidemiologia e Sicurezza Alimentare

Istituto Superiore di Sanità'
Prot. 24/07/2012-0028297

 Class: SVSA, AL, 22, 00 2

Prot. ISS 25264/SVSA-AL.22
 Risposta al prot. 23775-P
 del 04/07/2012

MINISTERO DELLA SALUTE
 Dipartimento della Sanità Pubblica
 Veterinaria, della Sicurezza degli Alimenti e
 degli Organi Collegiali per la Tutela della
 Salute Direzione Generale per l'Igiene e la
 Sicurezza e della Nutrizione - Ufficio III
 c.a. Dr. Silvio Borrello
 Viale Giorgio Ribotta n. 5
 00144 ROMA

Oggetto: Protocollo tecnico della Regione Piemonte per l'effettuazione dei controlli microbiologici – Richiesta di parere

Parere
dell'ISS

Tenendo conto delle suddette indicazioni, si ritiene che tale documento possa rappresentare una valida base di discussione con tutti gli enti del SSN coinvolti nel controllo ufficiale, in particolare gli IZZSS, per la definizione di un documento condiviso da presentare a codesta direzione generale.

Istituto Superiore di Sanità'
Prot. 23/04/2014-0014181

 Class: SVSA, AL, 22, 00 3

Dr. Silvio Borrello
 Dipartimento della Sanità Pubblica Veterinaria,
 della Sicurezza Alimentare e
 degli Organi Collegiali per la Tutela della Salute
 DGISAN – Ufficio III- II (ex DGSAN)
 Ministero della Salute
 Via Giorgio Ribotta 5
 00144 Roma

Dott. Umberto Agrimi
 Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e
 Sicurezza Alimentare
 Sede

Oggetto: protocollo tecnico per l'effettuazione dei controlli microbiologici sugli alimenti e l'interpretazione e gestione degli esiti analitici

Il Dipartimento della Sanità Pubblica Veterinaria, della Sicurezza Alimentare e degli Organi Collegiali per la Tutela della Salute – DGISAN- Ufficio II – II (ex DGSAN), in data 17 settembre 2012 ha convocato, presso il Ministero della Salute, l'Istituto Superiore di Sanità e la Direzione Sanità – Settore Promozione e Interventi Promozione Individuale e Collettiva - della Regione Piemonte per valutare la possibilità di adottare a livello nazionale il Protocollo Tecnico della Regione Piemonte (DGISAN 0027616-P-01/08/2012).

Viene istituito
un gruppo di
lavoro

* Gruppo di Lavoro : Stefano Bilei (IZSLT);Giuliana Biasi/Stefania Scuota (IZSUM);Federico Capuano/Yolande Proroga (IZS Mezzogiorno); Lucia Decastelli (IZSPLV); Guido Finazzi/Marina Nadia Losio (IZSLER); Elisa Goffredo (IZSPB); Anna Maria Fausta Marino/Antonella Costa (IZSSicilia); Renzo Mioni/Antonia Ricci (IZVenezie); Vincenza Prencipe (IZS AM); Sebastiano Virgilio (IZSardegna)



Presidenza del Consiglio dei Ministri

CONFERENZA PERMANENTE PER I RAPPORTI
TRA LO STATO, LE REGIONI E LE PROVINCE AUTONOME
DI TRENTO E DI BOLZANO

Intesa ai sensi dell'articolo 8 comma 6 della legge 5 giugno 2003, n. 131, tra il Governo, le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano sul documento concernente "Linee guida per il controllo ufficiale ai sensi dei Regolamenti (CE) 882/2004 e 854/2004".

Rep. Atti n. 212/CSR del 10 novembre 2016

LA CONFERENZA PERMANENTE PER I RAPPORTI TRA LO STATO, LE REGIONI E LE
PROVINCE AUTONOME DI TRENTO E BOLZANO

ALLEGATO 6 - Analisi

MACROCATEGORIA ALIMENTI	MATRICE	Pericolo da ricercare** (n. singole determinazioni) Si tratta dei pericoli da ricercare nell'ambito di una programmazione minima dei controlli; altri parametri possono essere presi in considerazione se previsti da specifiche norme vigenti o se giustificati da un approccio risk-based.
CARNE FRESCA, PRODOTTI A BASE DI CARNE, PREPARAZIONI DI CARNE, CARNI SEPARATE MECCANICAMENTE	CARNE FRESCA (di qualsiasi specie)	<i>Salmonella</i> spp (v. valori guida in Allegato 7)
		<i>Salmonella enteritidis</i> e <i>Salmonella typhimurium</i> (Reg. 2073) (carne fresca di pollame)
		<i>Listeria monocytogenes</i> (v. valori guida in Allegato 7)
		Metalli pesanti (Pb, Cd) (Reg.1881)
		Diossine e PCB (Reg.1881)
		<i>Salmonella</i> spp (Reg.2073)
		<i>Escherichia coli</i> STEC (v. valori guida in Allegato 7)
	CARNI MACINATE, PREPARAZIONI A BASE DI CARNE, CARNI SEPARATE MBCC.	<i>Escherichia coli</i> (Reg. 2073)
		<i>Listeria monocytogenes</i> (Reg. 2013)
		<i>Listeria monocytogenes</i> (v. valori guida in Allegato 7)
		Microrganismi mesofili aerobi (Reg. 2073)
		Metalli pesanti (Pb, Cd) (Reg.1881)
		Diossine e PCB (Reg.1881)
		IPA per carni e derivati affumicati (Reg.1881)
	PRODOTTI A BASE DI CARNE (Tutti)	<i>Salmonella</i> spp (Reg. 2073)
		<i>Listeria monocytogenes</i> (v. valori guida in Allegato 7)
		<i>Listeria monocytogenes</i> (Reg. 2073)
		<i>Escherichia coli</i> STEC (v. valori guida in Allegato 7)
		<i>Escherichia coli</i> (v. valori guida in Allegato 7)
		Stafilococchi coagulasi positivi (v. valori guida in Allegato 7)
		<i>Clostridium perfringens</i> (v. valori guida in Allegato 7)
<i>Yersinia enterocolitica</i> (v. valori guida in Allegato 7)		
Metalli pesanti (Pb, Cd) (Reg.1881)		
Diossine e PCB (Reg.1881)		
IPA per carni e derivati affumicati (Reg.1881)		

ALLEGATO 7 - Criteri microbiologici

10. PRODOTTI DELLA PESCA TRASFORMATI (escluse conserve e semiconserve) E PRODOTTI DELLA PESCA PREPARATI MOLLUSCHI BIVALVI ED ECHINODERMALI TUNICATI GASTEROPODI MARINI, CROSTACEI VIVI					
PARAMETRO	METODO	Valori guida	Criteri igiene processo Reg. CE/207/2005 e s.m.i.	Criteri sicurezza alimentare Reg. CE/207/2005 e s.m.i.	NOTE
Escherichia coli	ISO 16649-1			≤230 MPN/100 g (n=1, c=0)	Molluschi bivalvi vivi ed echinodermi, tunicati e gasteropodi vivi. Campione aggregato costituito da almeno 10 animali
			m=1 MPN/g, M=10 MPN/g (n=5, c=2)		Prodotti spacciati di crostacei e molluschi cotti
		≤100 ufc/g			Prodotti della pesca trasformati e prodotti della pesca preparati. Prelievo alla produzione da eseguire in una sola aliquota composta da una singola unità campionaria.
Stafilococchi coagulasi positivi	ISO 6888				Prodotti spacciati di crostacei e molluschi cotti
		≤100 ufc/g ⁺			Prodotti della pesca trasformati e prodotti della pesca preparati. Prelievo alla produzione da eseguire in quattro aliquote composte da una singola unità campionaria.
Vibrio cholerae 01 e 0139	ISO/TS 21872-1	Avente in 25 g**			Prelievo alla distribuzione da eseguire in quattro/cinque aliquote composte da una singola unità campionaria.
Vibrio cholerae non-O1 e non-0139 potenzialmente enteropatogeni	ISO/TS 21872-1	Avente in 25 g**			La patogenicità deve essere confermata con la determinazione dei geni di patogenicità STxO/STxN. Prelievo alla distribuzione da eseguire in quattro/cinque aliquote composte da una singola unità campionaria.
Vibrio parahaemolyticus potenzialmente enteropatogeno	ISO/TS 21872-1	Avente in 25 g**			La patogenicità deve essere confermata con la determinazione dei geni di patogenicità TDH e/o TRH (vedi allegato 7). Prelievo alla distribuzione da eseguire in quattro/cinque aliquote composte da una singola unità campionaria.
Virus Epatite A	ISO/TS 15126-2	Avente nella frazione analizzata**			Campione aggregato di 1 kg e non meno di 10 soggetti da cui si prelevano 2 g di epatopanacea. Prelievo alla distribuzione da eseguire in quattro/cinque aliquote composte da una singola unità campionaria.
Norovirus GI e GII	ISO/TS 15126-2	Avente nella frazione analizzata*			Campione aggregato di 1 kg e non meno di 10 soggetti da cui si prelevano 2 g di epatopanacea. Solo per i molluschi bivalvi vivi, alla produzione, che non riportano in etichetta la dicitura "da conservarsi previa cottura" (nota MS/ del 16/06/2015). Prelievo alla distribuzione da eseguire in quattro/cinque aliquote composte da una singola unità campionaria.

Criteri di sicurezza e di igiene aggiuntivi rispetto a quelli già individuati dalla legislazione comunitaria

L'articolo 3, comma c della Legge 283 del 30 aprile 1962 prevedeva che i limiti relativi alle cariche microbiche «saranno stabiliti dal regolamento di esecuzione o da ordinanze ministeriali».

In realtà, relativamente alle problematiche microbiologiche, sono state emesse fino ad oggi solo tre ordinanze ministeriali/circolari, in risposta a problematiche igienico- sanitarie emerse:

- OM 11 ottobre 1978 «Limiti di cariche microbiche tollerabili in determinate sostanze alimentari e bevande»
- Circolare del Ministero della Sanità n. 32 del 3 agosto 1985 «Norme igienico-sanitarie sulla produzione e conservazione delle paste alimentari speciali»
- OM 7 dicembre 1993 «Limiti di *Listeria monocytogenes* in alcuni prodotti alimentari»

LE TRE NOTE MINISTERIALI VENGONO INGLOBATE O SOSTITuite NEL PROTOCOLLO TECNICO E I METODI ANALITICI INDICATI/AGGIORNATI.

Criteria di sicurezza e di igiene aggiuntivi rispetto a quelli già individuati dalla legislazione comunitaria

In base a quanto stabilito dall'articolo 1 del Regolamento CE 2073/2005 s.m.i.

«L'autorità competente verifica il rispetto delle norme e dei criteri di cui al presente regolamento conformemente al regolamento (CE) n. 882/2004, senza pregiudizio del suo diritto di procedere a ulteriori campionamenti ed analisi per la rilevazione e la misura della presenza di altri microrganismi, delle loro tossine o dei loro metaboliti, o come verifica dei processi, per i prodotti alimentari sospetti, o nel contesto dell'analisi del rischio»

vengono fissati **ulteriori criteri (valori guida)** relativi a combinazioni microrganismo/matrice alimentare non previste dal suddetto regolamento

Gli ulteriori criteri sono stati **concordati dal Gruppo di Lavoro**, sulla base delle conoscenze scientifiche, dei dati epidemiologici e delle problematiche risultanti dall'attività routinaria di laboratorio.

Criteria di sicurezza e di igiene aggiuntivi rispetto a quelli già individuati dalla Legislazione comunitaria

- Gli ulteriori criteri individuati si applicano sia agli alimenti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità (criteri di sicurezza) sia agli alimenti prima della loro commercializzazione (criteri di igiene di processo).
- Gli ulteriori criteri applicabili agli alimenti immessi sul mercato possono riguardare anche gli alimenti di provenienza comunitaria ed extra comunitaria.
- Secondo quanto previsto dall'articolo 14 del Regolamento CE 178/2002, nel caso di superamento dei limiti fissati nell'Allegato 1 del presente protocollo relativamente ai valori guida, occorre sempre tenere conto della natura dell'alimento, del suo uso abituale (alimento consumato crudo o poco cotto), del rischio di contaminazione crociata, delle informazioni messe a disposizione del consumatore, della popolazione a rischio (anziani, bambini, individui immunodepressi).

ALLEGATO 8 - Accertamenti analitici per microrganismi e loro tossine responsabili di Malattie Trasmesse dagli Alimenti (MTA)

Tabella 2. Agenti infettivi

Agente infettivo	Caratterizzazione biochimica e/o sierologica (metodiche)	Test di patogenicità (metodiche)	Limite di accettabilità/quantità analizzata
<i>Salmonella</i> spp.	+ (ISO 6579)	-	Assente
<i>Campylobacter</i> termofili (<i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> , <i>C. upsaliensis</i>)	+ (ISO 10272-1)	-	Assente
<i>Clostridium perfringens</i>	+ (ISO 7937)	+ (ricerca tossine: kit commerciali/metodi interni)	$\leq 10^4$ ufc/g/ml e assenza tossina nell'alimento**
<i>Bacillus cereus</i> enterotossigeno	+ (ISO 7932)	+ (ricerca tossine: kit commerciali/metodi interni)	$\leq 10^6$ ufc/g e assenza di tossina diarroica nell'alimento
Stafilococchi coagulati positivi	(ISO 6888)	+ (ricerca tossine)	$\leq 10^6$ ufc/g e assenza di tossine stafilococche nell'alimento
<i>Escherichia coli</i> produttori di tossina Shiga (STEC) O157, O26, O111, O103, O145 e O104:H4	(ISO TS 13136)	+ (Identificazione geni di virulenza)	Assente
<i>Listeria monocytogenes</i>	+ (ISO 11290 parti 1 e 2)	-	Assente o ≤ 100 ufc/g
<i>Yersinia enterocolitica</i>	+ (ISO 10273)	+ (ISO 10273, id. sierotipo e gene <i>Ail</i>)	Assente
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	+ (ISO /TS 21872-1)	(Identificazione geni di patogenicità TDH e/o TRH)	Assente
<i>Vibrio cholerae</i> O1 e O139	+ (ISO /TS 21872-1)	+ (Identificazione sierologica)	Assente
<i>Vibrio cholerae</i> non O1 e non O139	+ (ISO /TS 21872-1)	+ (Identificazione geni di virulenza STxO/STxN)	Assente
<i>Virus epatite A</i>	+ (ISO 15126-2)	-	Assente
<i>Norovirus G1 e GII</i>	+ (ISO 15126-2)	-	Assenti
<i>Cronobacter</i> spp.	+ (ISO /TS 22964)	-	Assente
<i>Shigella</i> spp.	+ (ISO 21567)	-	Assente
<i>Enterococchi</i>	HPI e	-	100 mg/kg

...ma la regione Piemonte ha fatto anche questo...

LINEE GUIDA PER L'ANALISI DEL RISCHIO NEL CAMPO DELLA MICROBIOLOGIA DEGLI ALIMENTI

Progetto regionale "Analisi del rischio microbiologico legato al consumo di alimenti finalizzato alla riduzione dei costi analitici",

Le presenti linee guida si propongono di individuare dei **parametri microbiologici attendibili**, alla luce delle attuali conoscenze scientifiche, con la finalità sia **di fornire agli OSA uno strumento per la validazione dei propri processi produttivi** incluse la strutturazione e valutazione dei programmi di autocontrollo ed HACCP, sia di **consentire un'interpretazione degli esiti delle analisi microbiologiche** proposte nell'allegato 1 al "Protocollo tecnico per l'effettuazione dei controlli microbiologici sugli alimenti e l'interpretazione e gestione degli esiti analitici" del PRISA 2012

I risultati delle analisi microbiologiche sui prodotti alimentari possono essere classificati in una delle quattro categorie di qualità microbiologica (soddisfacente, accettabile, non soddisfacente e potenzialmente dannoso) a cui corrispondono specifiche azioni da adottare.

CATEGORIA	SIGNIFICATO
Soddisfacente	Il risultato indica una qualità microbiologica ottimale per la tipologia di prodotto.
Accettabile	Il risultato è l'accettabilità dal punto di vista del profilo microbiologico, ma il livello di presenza di alcuni microrganismi potrebbe indicare aree di miglioramento nell'approvvigionamento di materie prime o nell'igiene dei processi produttivi.
Non soddisfacente	Il risultato indica un livello di contaminazione microbiologica elevata in relazione al tipo di prodotto, evidenziando problemi nell'approvvigionamento di materie prime o nell'igiene dei processi produttivi.
Potenzialmente dannoso	Il risultato evidenzia quantità di microrganismi tali da rendere il prodotto inadatto al consumo umano o potenzialmente dannoso in caso di batteri inseriti in criteri di sicurezza alimentare. Presenza certa di problemi di approvvigionamento o nei processi produttivi e carenze nella gestione dell'autocontrollo.

1	
ESITO	AZIONI CORRETTIVE
Soddisfacente	Nessuna azione da adottare.
Accettabile	Effettuare verifiche sul processo produttivo e la valutazione dei risultati in autocontrollo. Valutare eventuali ricamponamenti, soprattutto se i risultati borderline sono ripetuti frequentemente.
Non soddisfacente	Formare eventuali prescrizioni su misure correttive da adottare in relazione al riscontro di problematiche inerenti il processo produttivo. Verifiche approfondite sul processo di produzione, sulla qualità delle materie prime, sul mantenimento della catena del freddo, su eventuali risultati delle analisi microbiologiche, registro NC, ... Verifiche sulle misure messe in atto dall'OSA per accertare la causa dei risultati insoddisfacenti, ai sensi dell'art.7 del Reg. CE 2073/2005. Imposizione di misure correttive al fine di riportare il processo sotto controllo, di cui all'art.7 del Reg. CE 2073/2005 e s.m.i. e all'art. 54 del Reg. CE 822/04 (es. miglioramento delle condizioni igieniche durante la produzione, miglioramento della scelta e/o dell'origine delle materie prime, controllo dell'efficacia del trattamento termico e prevenzione della ricontaminazione, ecc.). Imposizione revisione del piano di autocontrollo aziendale (Intesa Stato-Regioni del 10 maggio 2007). Effettuazione di ulteriori esami, ai sensi del Reg. CE 2073/2005 e s.m.i., solo nel caso di rilevamento di Enterobatteriaes nel latte in polvere. A seguito di controllo ufficiale il superamento dei limiti relativi ai criteri indicatori di igiene del processo riportati dal Reg. CE 2073/2005 e s.m.i. o degli altri valori guida riportati in allegato, poiché non può essere considerato un pericolo per la salute del consumatore, a meno che non vengano individuati specifici rischi (es. alimento inadatto al consumo umano per concentrazioni molto elevate di <i>Pseudomonas</i> spp., lieviti o batteri lattici mesofili non innesitati), NON comporta automaticamente azioni sanzionatorie o penali per l'OSA, notifica all'Autorità giudiziaria competente o attivazione di allerta, ritiro o richiamo. " L'alimento può essere considerato "non adatto al consumo umano", e quindi "a rischio", SOLO dopo aver preso in considerazione tutti i punti di cui all'art. 14 commi 2 (lettera b), 3 e 5 del Reg. CE 178/2002 e s.m.i. e aver fatto valutazioni correlate alla fase di vita commerciale del prodotto. Solo ove ritenuto strettamente necessario, l'ente prelevatore potrà richiedere la ripetizione dei parametri interessati anche al fine di decidere, sulla base delle risultanze della valutazione del rischio, la contestazione di sanzioni amministrative o penali nell'ambito di quanto previsto dall'art. 55 del Reg. CE 853/2004 e s.m.i.

Come indicato anche nell'Intesa Stato-Regioni in "Linee guida relative all'applicazione del Reg. CE 2073/2005" del 10 maggio 2007, generalmente, il controllo ufficiale non si affida sui criteri indicatori di igiene di processo mediante campionamento ed analisi su matrici alimentari al termine del processo di lavorazione su prodotti finiti in fase di commercializzazione. Relativamente a tali parametri, di norma l'Autorità competente verifica il corretto operato dell'OSA valutando le modalità di scelta dei campioni e di campionamento; le modalità di conferimento dei campioni al laboratorio di analisi in autocontrollo; l'idoneità del laboratorio di prova a condurre le analisi (accreditamento del laboratorio e delle metodiche appropriate, ai sensi del Reg. CE 882/2004 e s.m.i.); le azioni successive alla comunicazione del rapporto di prova da parte del laboratorio.

5. PANE, PASTICCERIA E BISCOTTERIA DA FORNO

5.1 PASTICCERIA FRESCA E PREPARATI PER PASTICCERIA

PARAMETRI	METODO	NORMA DI RIFERIMENTO ³	VALORI GUIDA CONSIGLIATI (ufc/g)				NOTE	AZIONI CORR.	CAMPO APPLICAZ.	
			Sodd.	Acc.	Non Sodd.	Potenz. dannoso				Riferimenti
Microrganismi mesofili aerobi	ISO 4833		<10 ³	10 ² ≤ x ≤ 10 ⁶	>10 ⁶		Zavanella M (2004); AFSSA (2007); Decreto Netherlands n. 563/79; Tecco (2000); Gebasa L. (1998); Delibera n. 5310/94 Giunta Reg. Umbria; Racc. 022/93 Istituto Italiano Alimenti Surgelati	Prodotti a base di uova e di latte. Anche pasticceria surgelata.	1	A
<i>E.coli</i> β-glucuronidasi positivi	ISO 13649-2		<10 ²	10 ≤ x < 10 ³	≥ 10 ³		FCO (2009); ANZFA (2001); Gilbert et al. (2000)	Limite di accettabilità <10 ² ufc/g per i prodotti con frutta cruda	1	
Coliformi totali	ISO 4832		<10 ⁷	10 ⁷ ≤ x ≤ 10 ⁸	≥ 10 ⁸		Decreto Netherlands n. 563/79; Tecco (2000); Delibera n. 5310/94 Giunta Reg. Umbria; Racc. 022/93 Istituto Italiano Alimenti Surgelati	Pasticceria fresca e surgelata	1	
Enterobacteriaceae	ISO 21528-2		<10 ³	10 ² ≤ x < 10 ⁴	≥ 10 ⁴		ANZFA (2001); Gilbert et al. (2000)	Per prodotti ready-to-eat	1	
Stafilococchi coagulasi positivi	ISO 6888-1		<10	10 ≤ x < 10 ²	≥ 10 ²	230 ³ e SE(+)	Decreto Netherlands n. 563/79; Tecco (2000); Delibera n. 5310/94 Giunta Reg. Umbria; Racc. 022/93 Istituto Italiano Alimenti Surgelati		3	
<i>Bacillus cereus</i> presunto	ISO 7912		<10 ²	10 ² ≤ x < 10 ⁴	≥ 10 ⁴	230 ³ e/o Ct(+)	WDA (2011); ANZFA (2001)		3	
Muffe	NFV08-059		<10 ²	10 ² ≤ x ≤ 10 ⁴	>10 ⁴		WDA (2011)		1	
Lieviti	NFV08-059		<10 ³	10 ³ ≤ x ≤ 10 ⁶	>10 ⁶		WDA (2011)		1	
<i>Salmonella</i> spp.	ISO 6579	Assente in 25 g (n=5, c=0) (Reg. CE 2073/05 e s.m.)	Assente			Presente		Prodotti a base di uova, esclusi i prodotti per i quali il procedimento di lavorazione o la composizione del prodotto eliminano il rischio di <i>Salmonella</i> spp.	2	B
<i>Listeria monocytogenes</i>	ISO 11290-1 ISO 11290-2	Assente in 25 g* (n=5, c=0) (Reg. CE 2073/05 e s.m.)	Assente (n=5, c=0) ufc/g			Presente (n=5, c=0) ufc/g		*limite di riferimento da stabilire secondo quanto disposto dal Reg. CE 2073/05 e s.m.	2	

....quindi abbiamo tanti strumenti per la validazione dei processi e la valutazione dei rapporti di prova



Cosa possiamo intendere per “Interpretazione dei risultati delle analisi microbiologiche nell’ambito delle attività di Controllo Ufficiale”?

- Essere in grado di **leggere un rapporto di prova** del laboratorio
- Essere in grado di **dare un significato ai valori** espressi per i diversi parametri ricercati
- Collegare il risultato al campione (tipo di alimento, fase di prelievo, modalità di conservazione, informazioni disponibili per il consumatore...) per arrivare ad **esprimere un giudizio** (favorevole, accettabile o borderline, inaccettabile o inadatto al consumo umano, dannoso)
- Assumere le **decisioni conseguenti dal punto di vista della sicurezza alimentare** e delle garanzie di pratiche commerciali leali
- Assumere **decisioni in merito all’avvio di procedimenti sanzionatori** amministrativi e/o penali

Leggere un rapporto di prova – dare un significato ai valori

Parametri per i quali non esistono limiti di legge ma che svolgono un ruolo in qualità di determinanti di malattia (sorveglianze delle MTA) o di impatto sulle caratteristiche dell’alimento (es. mozzarella blu)

- Microrganismi patogeni (Campylobacter spp., Yersinia)
- Microrganismi patogeni dose o ceppo-correlati (B.cereus, C.perfringens, Stafilococcus, Vibrio spp.)
- Microrganismi alteranti

OPZIONI POSSIBILI

- a. Non cercarli
- b. Cercarli senza fornire indicazioni interpretative
- c. **Cercarli prevedendo a livello di autorità competente regionale o nazionale la individuazione di parametri sulla base di una valutazione del rischio**

Collegare il risultato al campione per arrivare ad esprimere un giudizio (favorevole, accettabile o borderline, inaccettabile o inadatto al consumo umano, dannoso)

Individuare sulla base dei dati epidemiologici e della letteratura i parametri microbiologici significativi per le diverse categorie di alimenti e stabilirne dei livelli di accettabilità in linee guida

9.5 PRODOTTI A BASE DI CARNE (PRODOTTI DI SALUMERIA COTTI O PASTORIZZATI)					Prosciutto cotto, man.			
PARAMETRI	METODO	CRITERIO		NORMA DI RIFERIMENTO*	VALORI GUIDA CONSIGLIATI			
		igiene	sicurezza		Acc.	Borderline	Non acc.	Potenz. pericoloso
Microorganismi mesofili aerobi	ISO 4833	X			<10 ⁴	10 ⁴ ≤ x ≤ 10 ⁶	>10 ⁶	
<i>E. coli</i> β-glucuronidasi positivi	ISO 18649-2	X			<10	10 ≤ x < 10 ²	≥ 10 ²	
Enterobacteriaceae	ISO 21528-2	X			<10	10 ≤ x < 10 ²	≥ 10 ²	
Stafilococchi coagulasi positivi	ISO 6888-1	X			<10 ²	10 ² ≤ x < 10 ⁴	≥ 10 ⁴	≥ 10 ⁶ e SET(+)
<i>Bacillus cereus</i> presunto	ISO 7932	X			<10 ²	10 ² ≤ x < 10 ⁴	≥ 10 ⁴	≥ 10 ⁶ e/o C(+)
Anaerobi solfito riduttori	ISO 15213	X			<10 ²	10 ² ≤ x ≤ 10 ³	>10 ³	
<i>Clostridium perfringens</i>	ISO 7937	X			<10 ²	10 ² ≤ x ≤ 10 ³	>10 ³	≥ 10 ⁶ e CCE(+)

Assumere le decisioni conseguenti dal punto di vista della sicurezza alimentare e delle garanzie di pratiche commerciali leali

Reg.CE 178/2002 – Art. 14 – Requisiti di sicurezza degli alimenti

Gli alimenti sono considerati “**A RISCHIO**” nei casi seguenti:

- Se sono **DANNOSI** per la salute
- Se sono **INADATTI** al consumo umano



1. Qualora i campioni risultino **“NON CONFORMI”** per:

- superamento dei limiti previsti dal Reg.CE 2073/05 e s.m.i. per i criteri di sicurezza (es. *Salmonella* spp., *L.monocytogenes*, *E.coli*, *Enterobacter sakazakii*, Enterotossine stafilococciche)
- presenza di microrganismi e/o tossine patogeni

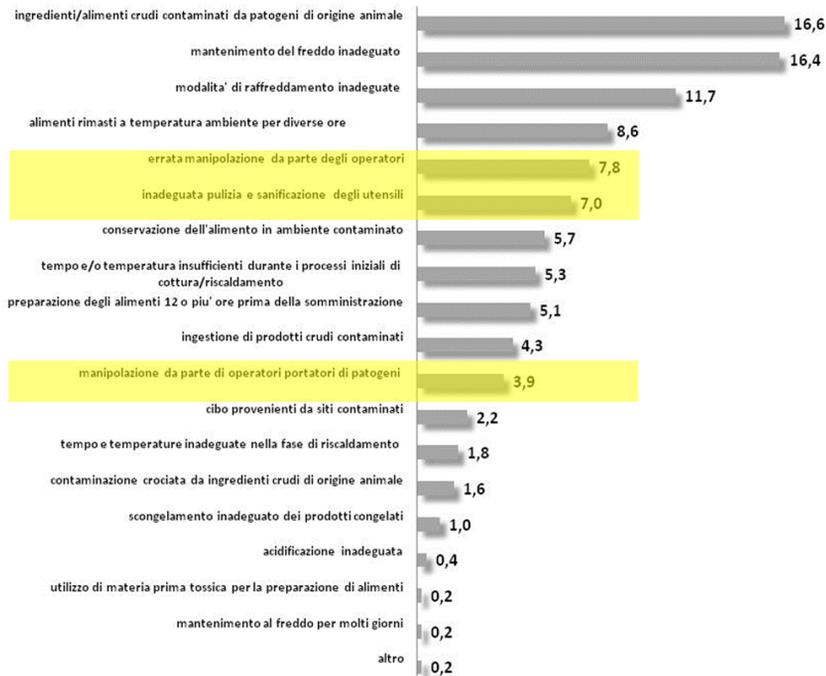


- ✓ ripetizione parametro difforme, ai sensi del D.M. 16/12/1993
- ✓ valutazione effettiva del rischio (tipo di consumo, informazioni rese disponibili al consumatore, ecc...)
- ✓ eventuale attivazione di allerta e adozione di misure sanitarie
- ✓ eventuali procedimenti penali e/o amministrativi al fine di irrogare eventuali (art. 55 del Reg.CE 882/2004).

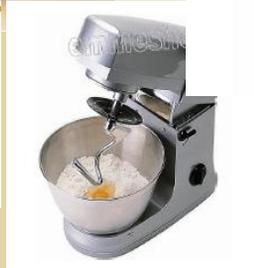
Analisi delle superfici di lavorazione

I FATTORI CHE HANNO GENERATO O CONTRIBUTITO ALLO SVILUPPO DEL FOCOLAIO (dal Report)

	N° di focolai
non determinato	141
ingredienti/alimenti crudi contaminati da patogeni di origine animale	67
mantenimento del freddo inadeguato	23
errata manipolazione da parte degli operatori	20
alimenti rimasti a temperatura ambiente per diverse ore	14
modalita' di raffreddamento inadeguate	13
manipolazione da parte di operatori portatori di patogeni	11
ingestione di prodotti crudi contaminati	10
conservazione dell'alimento in ambiente contaminato	9
inadeguata pulizia e sanificazione degli utensili	8
preparazione degli alimenti 12 o piu' ore prima della somministrazione	6
tempo e/o temperatura insufficienti durante i processi iniziali di cottura/riscaldamento	6
cibo provenienti da siti contaminati	5
contaminazione crociata da ingredienti crudi di origine animale	3
mantenimento al freddo per molti giorni	1
scongellamento inadeguato dei prodotti congelati	1
utilizzo di materia prima tossica per la preparazione di alimenti	1
tempo e temperature inadeguate nella fase di riscaldamento	1



La contaminazione delle superfici



Quali sono le fonti di contaminazione di una superficie ?

- Da prodotti crudi sulla cui superficie sono naturalmente presenti batteri



Da un'indagine EFSA di alcuni anni fa risulta che in Unione Europea circa il 75% delle carcasse di pollo sono contaminate da Campylobacter e il 23% da Salmonella

Batteri	materiale	livello di contaminazione
Campylobacter	Succo di pollo, pelle, carcassa	$10^3 - 10^7$ CFU
	Contenuto cecale di polli da carne	$10^5 - 10^9$ CFU
	Superficie di fette di pollo al dettaglio	$1,9 \times 10^3$ / per fetta
E.Coli O:157 H:7	Carne macinata	5 CFU
	Feci di bovini e ovini	$10^3 - 10^5$ CFU
Salmonella	Succo di pollo, pelle, carcassa	$10^2 - 10^6$ CFU

• Dalle mani degli operatori

dopo aver usato il WC



dopo ogni contatto con attrezzature o oggetti non attinenti la manipolazione degli alimenti



dopo aver manipolato materie prime potenzialmente contaminate



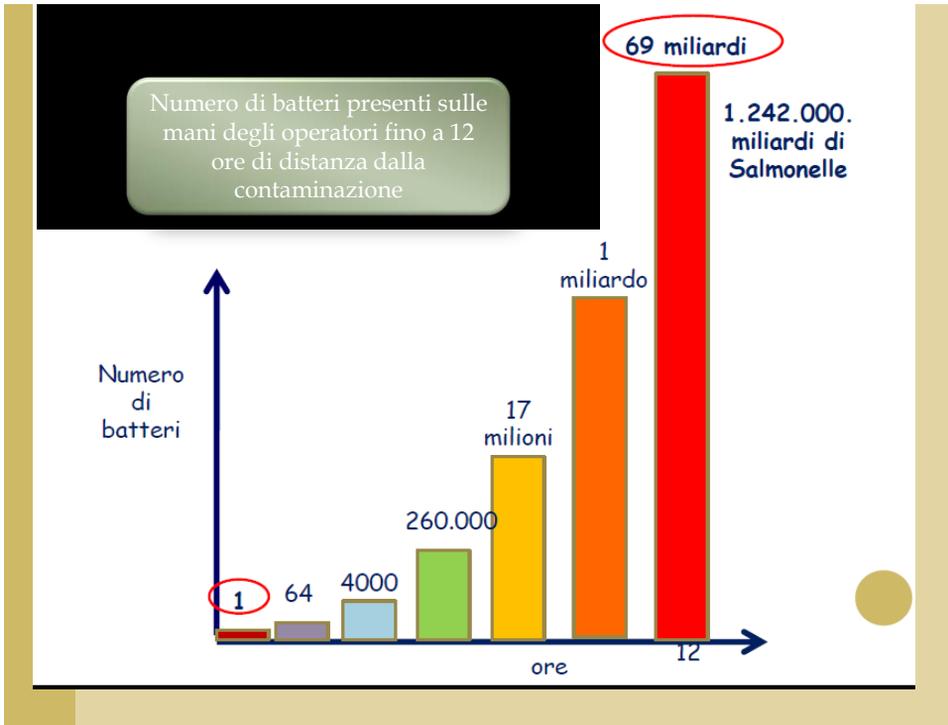
carne cruda di bovino



dopo essersi soffiato il naso



carne cruda di pollo



- Dagli imballaggi



- Alcuni autori americani hanno dimostrato la presenza di *Campylobacter* nel 3 % dei campioni nei quali è stata analizzata la pellicola esternamente e nel 34% dei campioni in cui è stata analizzata anche internamente



- Dall'aria ambientale

- Nell'aria sono sempre presenti microrganismi che
↑ **pulviscolo**
- Nel pulviscolo: materiale inorganico ed organico (anche batteri, virus, muffe, lieviti)
- Umidità: influenza la presenza dei microrganismi e la tipologia (es muffe)

- Dall'utilizzo di acqua non potabile per la pulizia delle superfici



Come persistono i microrganismi sulle superfici ?

Il pericolo maggiore è la formazione sulle superfici a contatto con gli alimenti di BIOFILM

BIOFILM = matrice biologica adesa ad una superficie solida costituita da microrganismi e sostanze polimeriche, di solito esopolisaccaridi prodotti dai microrganismi stessi

Lo scopo della formazione di biofilm è quello di proteggere i microrganismi negli ambienti ostili e di agire come una trappola per le sostanze nutritive

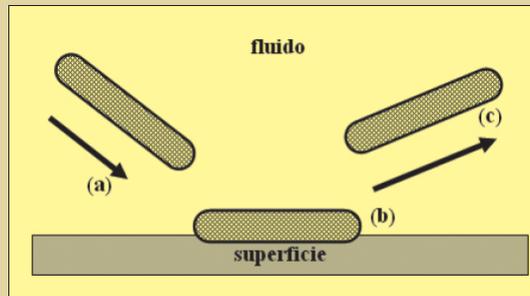
Come si forma il biofilm ?

Fase 1 : condizionamento della superficie

I batteri, insieme a molecole organiche e inorganiche, come per esempio proteine derivanti dalla lavorazione di latte e carne, si adsorbono sulla superficie formando il **FILM CONDIZIONANTE**.

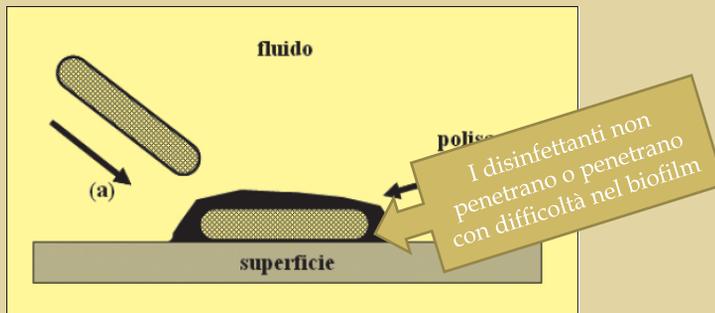
Il processo di condizionamento delle superfici non è indice di sicura formazione di biofilm

Fase 2 : adesione reversibile delle cellule



ADESIONE REVERSIBILE : le cellule in sospensione nel fluido (a) vengono in contatto con la superficie solida (b) quindi si staccano e tornano in sospensione (c)

Fase 3 : adesione irreversibile

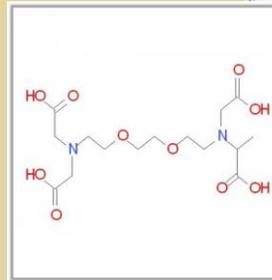


ADESIONE IRREVERSIBILE : le cellule in sospensione nel fluido (a) vengono in contatto con la superficie solida (b). Se le forze che trattengono le cellule sulla superficie sono sufficientemente forti le cellule non si staccano e possono produrre esopolimeri che aiutano l'ancoraggio alla superficie

Come si rimuove il biofilm ?

METODI CHIMICI

1. Detergenti con effetto chelante
2. Biocidi con effetto ossidante

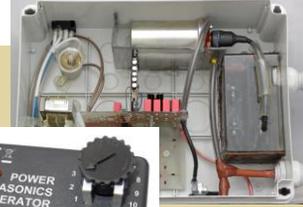


Capacità dei biocidi di rimuovere i biofilm

Performance del biocida	Principio attivo
ottima	perossiacidi
	iodofori
	biguanidi
	cloro
	anfoteri
pessima	quaternari d'ammonio

METODI FISICI

1. Procedure meccaniche (spazzole e/o raschiamento)
2. campi magnetici ad alta frequenza
3. Ultrasuoni
4. Applicazione di campi elettrici pulsati ad alta frequenza

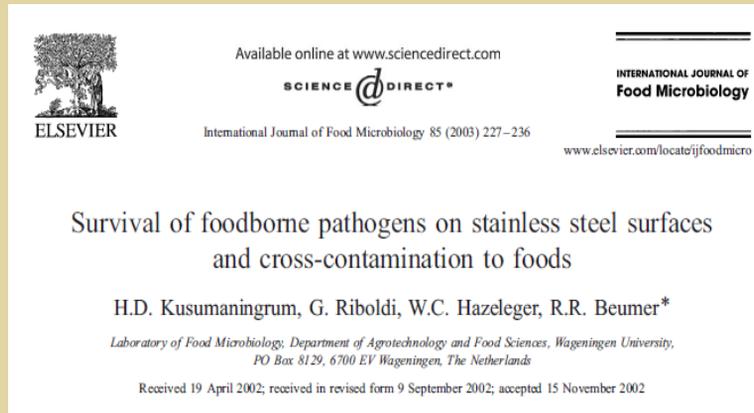


METODI BIOLOGICI

Adsorbimento di molecole bioattive come batteriocine e enzimi sulle superficie destinate a venire a contatto con gli alimenti (es. NISINA per ridurre *L. monocytogenes*, batteri lattici e loro estratti per inibire l'adesione di alteranti e patogeni sulla superficie del pollame)



Quanto sopravvivono i batteri sulle superfici ?



Sono state eseguite **prove di sopravvivenza** di patogeni su superfici di acciaio inossidabile contaminate con spugne contenenti un numero standard di batteri

Microrganismo	Livello di contaminazione	Sopravvivenza
Staphylococcus aureus	$10^3 - 10^5$ CFU/cm ²	4 giorni stesse concentrazioni
	10 CFU/cm ²	2 giorni
Salmonella enteritidis	High level	4 giorni stesse concentrazioni
	Moderate level	Low level dopo 1 ora Non rilevabile dopo 24 ore
Campylobacter jejuni	High level	Non rilevabile dopo 4 ore

Sono state effettuate prove di cross-contamination contaminando superfici di acciaio con **spugnette impregnate di sospensioni batteriche** quindi si è determinata la quantità di microrganismi rilevabili su : **fette di cetriolo appoggiate sulla superficie esercitando e no pressione**

Organismo	Livello di contaminazione e della spugnetta	Momento del campionamento	Livello di contaminazione della superficie	% di trasferimento (pressione 500gr/fetta)	% di trasferimento (senza pressione)
Staphylococcus aureus	6,8 ± 0,1 log CFU/spugnetta	Subito dopo la contaminazione	2,8 ± 0,2 log CFU/cm ²	117 ± 48	95 ± 30
		Dopo 15' dalla contaminazione	2,9 ± 0,1 log CFU/cm ²	100 ± 59	74 ± 41
Salmonella enteritidis	7,3 ± 0,0 log CFU/spugnetta	Subito dopo la contaminazione	3,0 ± 0,2 log CFU/cm ²	105 ± 26	65 ± 21
		Dopo 15' dalla contaminazione	3,1 ± 0,3 log CFU/cm ²	90 ± 27	50 ± 18
Campylobacter jejuni	8,4 ± 0,1 log CFU/spugnetta	Subito dopo la contaminazione	4,2 ± 0,2 log CFU/cm ²	185 ± 75	177 ± 72
		Dopo 15' dalla contaminazione	3,8 ± 0,2 log CFU/cm ²	134 ± 89	153 ± 99

Sono state effettuate prove di cross-contamination contaminando superfici di acciaio con **spugnette impregnate di sospensioni batteriche** quindi si è determinata la quantità di microrganismi rilevabili su : **fette di pollo appoggiate sulla superficie esercitando e no pressione**

Organismo	Livello di contaminazione della spugnetta	Momento del campionamento	Livello di contaminazione della superficie	% di trasferimento (pressione 500gr/fetta)	% di trasferimento (senza pressione)
Staphylococcus aureus	6,8 ± 0,1 log CFU/spugnetta	Subito dopo la contaminazione	2,9 ± 0,2 log CFU/cm ²	76 ± 36	62 ± 28
		Dopo 15' dalla contaminazione	2,9 ± 0,2 log CFU/cm ²	74 ± 17	56 ± 20
Salmonella enteritidis	7,3 ± 0,0 log CFU/spugnetta	Subito dopo la contaminazione	3,1 ± 0,3 log CFU/cm ²	94 ± 42	49 ± 21
		Dopo 15' dalla contaminazione	3, ± 0,0 log CFU/cm ²	55 ± 21	32 ± 9
Campylobacter jejuni	8,4 ± 0,1 log CFU/spugnetta	Subito dopo la contaminazione	4,1 ± 0,2 log CFU/cm ²	101 ± 42	66 ± 26
		Dopo 15' dalla contaminazione	3,7 ± 0,4 log CFU/cm ²	24 ± 16	70 ± 83

Dai dati presentati relativi alle indagini effettuate su superfici a contatto con alimenti in Toscana nel corso di inchiesta per focolaio di MTA non sembra che le indagini siano state capaci di fornire nessi causali con forti evidenze.

Nei casi in cui sono state riscontrate superfici positive per patogeni le uniche conclusioni risultate possibili sono state quelle dell'evidenza di una cattiva igiene ambientale e di gestione dei processi



E allora ?

Le analisi delle superfici nel corso di MTA acquistano un significato se :

- E' noto il patogeno responsabile dell'episodio
- I tamponi vengono eseguiti **immediatamente dopo l'episodio e prima** delle operazioni di pulizia effettuate nei locali
- I tecnici sono in possesso di notizie emerse dall'inchiesta epidemiologica che possono in qualche modo indirizzare sul tipo di superficie da campionare e su quali patogeni ricercare
- Si è certi che la contaminazione di una superficie è stata responsabile di contaminazione di alimenti e questo è possibile solo se sono stati chiariti i flussi di lavorazione e la gestione dei processi (presenza di alimenti ready-to-eat nel menù, livelli di cottura inadeguati, processi di sanificazione non idonei)

UNA DOMANDA DA FARSI SEMPRE
PRIMA DI TRARRE CONCLUSIONE
CHE POTREBBERO ESSERE
AFFRETTATE DUNQUE E'.....

**E' la superficie che ha contaminato l'alimento o
viceversa????**

L'unico mezzo per rispondere correttamente alla domanda è la conoscenza approfondita dei processi di produzione dell'alimento sospetto.

BUON LAVORO A TUTTI e.....

