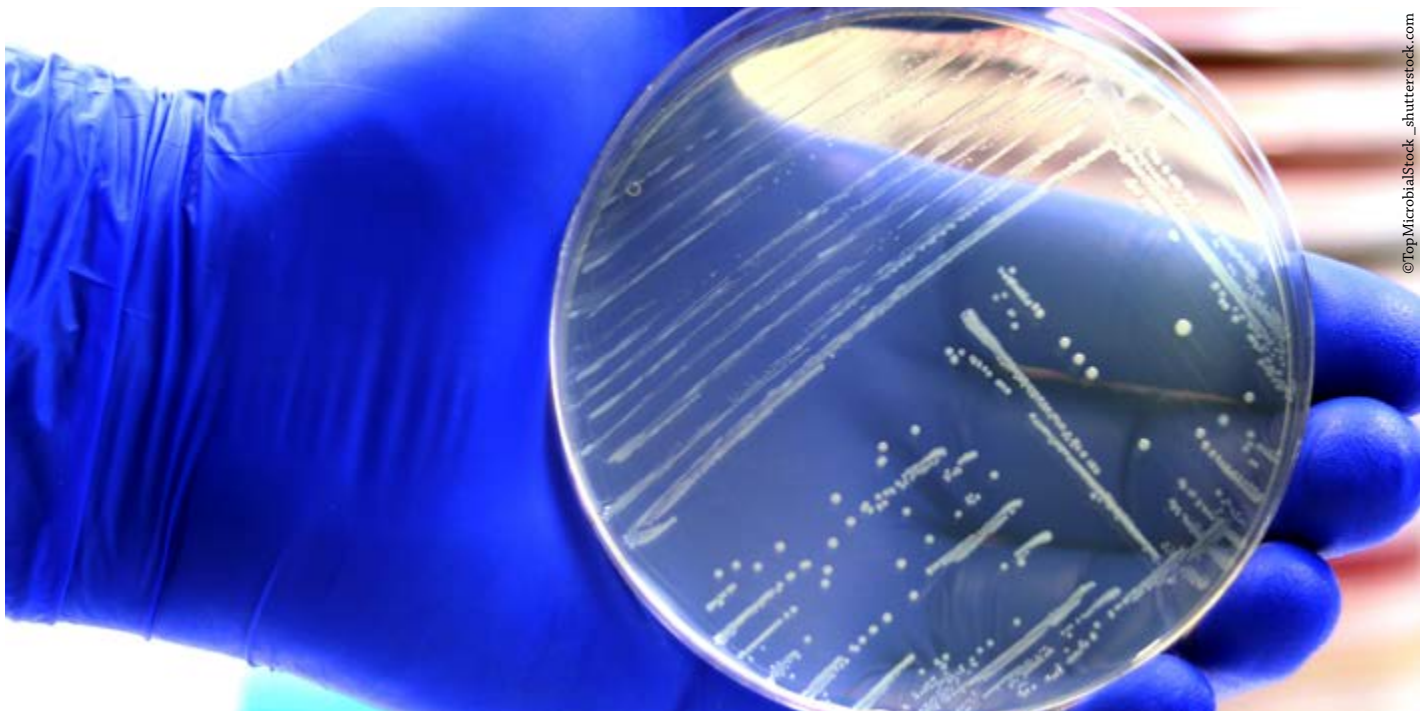


MALATTIE A TRASMISSIONE ALIMENTARE

La gestione del rischio *Listeria monocytogenes* negli stabilimenti di produzione di prodotti Ready-to-eat



©TopMicrobialStock - shutterstock.com

¹MARZIA GNOCCHI, ¹DANIELE CASTIGLIONE, ²VINCENZO DE ROSA, ¹SALVATORE BAVETTA

¹Dirigente Veterinario, S.C. Igiene Alimenti di Origine Animale, ASL3 Genova

²Dirigente Veterinario S.C. Igiene Alimenti di Origine Animale, ASL5 La Spezia

L*isteria monocytogenes* è un batterio Gram-positivo di piccole dimensioni, asporigeno e acapsulato, noto per la sua capacità di sopravvivere e proliferare anche in condizioni ambientali avverse. È in grado di crescere in un ampio range di temperature, da -1,5 °C a 45 °C (con un optimum tra 30-37 °C), e di pH, da 4,3 a 9,4, oltre a tollerare concentrazioni saline elevate (*aw* 0,90-0,92; 11,5% NaCl), caratteristica particolarmente marcata in alcuni ceppi alo-tolleranti. La sua capacità di formare biofilm le consente di resistere alle ordinarie procedure di pulizia e sanificazione, e di persistere negli ambienti di produzione potenzialmente per lunghi periodi, fino a 10 anni.

La sua presenza negli alimenti rappresenta un grave rischio

per la salute pubblica, essendo l'agente eziologico responsabile della listeriosi, malattia a trasmissione alimentare che, pur essendo relativamente rara, può manifestarsi in forme gravi, con elevati tassi di ospedalizzazione (94%) e di mortalità (15,9-22%). I sierotipi 1/2a, 4b e 1/2b sono quelli maggiormente coinvolti nei focolai e casi sporadici di infezione.

Secondo i dati dell'*European Union One Health 2023 Zoonoses report*, nel 2023 sono stati segnalati 2.952 casi di malattia nei Paesi Membri dell'Unione Europea, corrispondenti a un tasso di notifica di 0,66 casi per 100.000 abitanti. Si tratta di un incremento del 5,8% rispetto al 2022 e del valore più alto registrato dal 2007, con un aumento

statisticamente significativo di casi dal 2013 a oggi. Già il 2022 aveva registrato un alto numero di decessi (28) da focolai alimentari di *Listeria monocytogenes*, uno dei più elevati degli ultimi dieci anni. In particolare, l'Italia è stata interessata da diverse allerte alimentari per casi di *Listeria* legati al ceppo ST 155 in würstel a base di carni avicole, con oltre 70 casi segnalati e 3 decessi.

Alimenti a rischio

L'ubiquità del patogeno e la sua elevata resistenza nell'ambiente rendono qualsiasi alimento potenzialmente a rischio di contaminazione. Il livello di rischio deve essere valutato tenendo in considerazione sia le caratteristiche chimico-fisiche del prodotto (ingredienti, pH e aw, microflora autoctona, ecc.) sia le modalità di lavorazione e conservazione (temperatura e durata dello stoccaggio). Particolare attenzione deve essere rivolta ai prodotti che subiscono numerose manipolazioni (es. affettati), a lunga shelf-life e mantenuti a temperature di refrigerazione.

Gli alimenti pronti al consumo (ready-to-eat, RTE) sono particolarmente a rischio, in quanto sono consumati senza cottura o altro trattamento in grado di ridurre i livelli di contaminazione del patogeno. La contaminazione può verificarsi in qualsiasi fase della produzione, ma è spesso associata alle fasi successive all'ultimo trattamento letale, a causa della mancanza di competitori, pratiche igieniche carenti o della presenza di biofilm su macchinari e superfici di lavoro.

Normativa di riferimento

A livello europeo, i limiti specifici per la presenza di *Listeria monocytogenes* nei prodotti RTE sono definiti dal Regolamen-

to (CE) n. 2073/2005. Tale normativa impone all'operatore del settore alimentare di classificare i propri prodotti in base alla capacità di supportare o meno la crescita del patogeno, definendo criteri microbiologici distinti in funzione di tale classificazione (tabella 1).

Tra gli alimenti pronti che non costituiscono terreno favorevole alla crescita del patogeno rientrano quelli con queste caratteristiche:

- Periodo di conservabilità inferiore a 5 giorni, o
- $pH \leq 4,4$, o
- $aw \leq 0,92$, o
- $pH \leq 5,0$ e $aw \leq 0,94$.

Possono rientrare in questa categoria anche altre tipologie di alimenti, purché sia fornita una adeguata giustificazione scientifica.

Recentemente, con l'entrata in vigore del Regolamento (UE) 2024/2895 (applicato a decorrere dal 1° luglio 2026), è stato esteso il criterio di non rilevabilità di *L. monocytogenes* in 25 g agli alimenti RTE che supportano la crescita del patogeno per i quali l'operatore del settore alimentare (OSA) non è in grado di garantire il rispetto del limite di 100 ufc/g durante il periodo di conservabilità degli alimenti. Pertanto, per applicare il limite meno restrittivo di 100 ufc/g, l'OSA dovrà effettuare degli studi specifici che comprovino la conformità del prodotto ai criteri microbiologici stabiliti per tutta la durata della *shelf-life*.

Tali studi, indicati nell'allegato II del Reg. (CE) 2073/2005, possono includere la caratterizzazione chimico-fisica del prodotto, l'uso della letteratura scientifica disponibile e di dati sperimentali sulle caratteristiche di sopravvivenza e sviluppo del microrganismo e, quando necessario, studi di microbiologia predittiva, challenge-test e studi di durabilità.

Tabella 1. Criteri di sicurezza alimentare per *Listeria monocytogenes* (estratto da all. I, Cap. I, Reg. (CE) 2073/2005)

Categoria alimentare	Piano di campionamento		Limiti	Fase a cui si applica il criterio
	n	c		
1.1 Alimenti pronti per lattanti e alimenti pronti a fini medici speciali	10	0	Non rilevabile in 25 g	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità
1.2 Alimenti pronti che costituiscono terreno favorevole alla crescita di <i>Lm</i> diversi da quelli di cui al punto 1.1	5	0	100 ufc/g	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità
	5	0	Non rilevabile in 25 g	Prima che gli alimenti non siano più sotto il controllo diretto dell'OSA che li produce
1.3 Alimenti pronti che non costituiscono terreno favorevole alla crescita di <i>Lm</i> diversi da quelli di cui al punto 1.1	5	0	100 ufc/g	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità

Estratto da all. I, Cap. I, Reg. (CE) 2073/2005.

Gestione del rischio *Listeria monocytogenes*

La gestione del rischio *Listeria monocytogenes* negli stabilimenti di produzione di prodotti RTE deve integrare diversi elementi:

- compartimentalizzazione dello stabilimento;
- procedure di pulizia e sanificazione;
- misure atte a prevenire o ridurre la moltiplicazione del patogeno;
- stato delle attrezzature;
- formazione del personale;
- campionamenti ambientali e sul prodotto.

Compartimentalizzazione

La compartimentalizzazione (o *hygienic zoning*) consiste nell'organizzazione fisica e funzionale dello stabilimento in aree a diversa classificazione igienica allo scopo di prevenire possibili contaminazioni crociate tra aree di rischio differenti. L'approccio deve essere specifico per ogni impianto di produzione tenendo conto delle sue unicità, delle caratteristiche del prodotto e della sua capacità di sostenere la crescita del patogeno, della diversità delle attrezzature e ambiente di produzione nonché del processo produttivo (in particolare la presenza di fasi di abbattimento microbico) e della storia aziendale relativa a contaminazioni precedenti.

Il risultato della valutazione del rischio porterà all'identificazione delle seguenti aree:

1. aree ad alto rischio: dove i prodotti RTE sono potenzialmente vulnerabili alla contaminazione (es. confezionamento post-trattamento, con prodotti esposti);
2. aree a medio rischio, dove l'eventuale contaminazione potrebbe essere gestita da un successivo trattamento;
3. aree a basso rischio, in cui il prodotto è confezionato e il rischio di contaminazione è minimo o nullo;
4. zone di transizione, come ingressi, porte, corridoi e spogliatoi.

Nelle aree ad alto rischio sarà fondamentale applicare requisiti sanitari rigorosi, ridurre al minimo l'accesso di personale e utilizzare attrezzature dedicate. La corretta predisposizione dei flussi operativi del personale, delle attrezzature (es. carrelli) e dei prodotti (materie prime, semilavorati e prodotti finiti) è indispensabile a ridurre al minimo il rischio di contaminazioni crociate. Saranno quindi da preferire flussi unidirezionali (c.d. criterio della marcia in avanti) e la presenza di personale dedicato nelle aree ad alto rischio. L'utilizzo di un codice colore può essere uno strumento utile per differenziare le zone igieniche e facilitare il corretto svolgimento delle attività.

La zonizzazione deve essere affiancata da un piano di monitoraggio ambientale allo scopo di verificare l'efficacia delle misure igieniche adottate e identificare precocemente l'eventuale presenza di ceppi persistenti, così da avviare azioni correttive mirate.

Procedure di pulizia e sanificazione

La corretta applicazione delle procedure di pulizia e sanificazione è fondamentale per garantire il controllo dei microrganismi patogeni e prevenire la formazione di biofilm. Nella pratica industriale, i fattori che possono limitare o compromettere l'efficacia della disinfezione comprendono:

1. applicazione dei disinfettanti senza aver deterso preventivamente le superfici. La detergenza è indispensabile per eliminare eventuali residui di sporco presenti sul substrato, potenziali nicchie di annidamento dei microrganismi;
2. uso di disinfettanti a concentrazioni e con tempi di contatto inferiori a quelli raccomandati;
3. uso di soluzioni poco stabili preparate con eccessivo anticipo rispetto all'impiego;
4. uso di temperature troppo elevate (> 65°) che causano la denaturazione delle proteine e la polimerizzazione dei lipidi, rendendone più difficile la rimozione, e la formazione di aerosol con potenziale diffusione della contaminazione;
5. uso di pressioni troppo elevate, con produzione di schizzi;
6. frequenze ed estensione delle operazioni di pulizia e sanificazione non adeguate;
7. utilizzo di contenitori non idonei, sporchi o con materiali in grado di reagire con il disinfettante.

Le superfici non a contatto (pavimenti, pareti e soffitti) devono essere disinfettate prima delle superfici a contatto, per evitare il trasferimento di microrganismi dalle nicchie alle superfici di lavoro.

L'eventuale presenza di biofilm può essere rilevata attraverso kit colorimetrici. Nel caso si evidenzino la presenza di biofilm, sarà necessario applicare un trattamento straordinario o trattamento shock, che può essere di tipo chimico ossidativo o enzimatico.

Misure atte a prevenire o ridurre la moltiplicazione del patogeno

La prevenzione della crescita di *Listeria monocytogenes* negli alimenti RTE comporta il rigoroso mantenimento della catena del freddo (< 4 °C) in tutte le fasi perché il patogeno è in grado di proliferare anche a basse temperature. È essenziale applicare scrupolosamente le GMP e ridurre al minimo l'acqua disponibile, impedendo la formazione di ristagni nella pavimentazione e di condensa negli ambienti di lavorazione.

Formazione del personale

Il personale deve essere adeguatamente formato e sensibilizzato affinché applichi tutte le precauzioni necessarie ad assicurare il controllo del rischio microbiologico. Le GMP e le GHP devono essere conosciute e scrupolosamente applicate. Dovrà essere prevista una formazione specializzata per gli addetti che manipolano i prodotti e per quelli coinvolti nelle attività di sanificazione, idealmente almeno una volta l'anno o con

frequenze diverse a seconda della necessità. Può essere utile attuare audit periodici per la verifica della corretta applicazione della formazione ricevuta.

Stato delle attrezzature

La progettazione delle strutture e degli impianti è un punto critico nella prevenzione della contaminazione da *Listeria monocytogenes* e deve rispettare requisiti rigorosi per facilitare le operazioni di sanificazione e minimizzare il rischio di formazione di nicchie microbiologiche. In particolare, è fondamentale prevedere:

1. superfici lisce, non porose e resistenti alla corrosione, facilmente accessibili e sanificabili;
2. assenza di giunzioni taglienti, fessure, spigoli vivi e cavità cieche, che possono favorire l'accumulo di residui organici e umidità e quindi la formazione di biofilm;
3. componenti smontabili per consentire un'adeguata pulizia manuale o automatica;
4. sollevamento da terra dei macchinari per prevenire la contaminazione da schizzi dal pavimento;
5. progettazione razionale dei sistemi di cablaggio e tubazione, evitando intersezioni complesse, punti morti e zone difficili da raggiungere durante la sanificazione;
6. evitare che passerelle o scale con griglia aperta siano posizionate sopra gli alimenti esposti per evitare la caduta di particelle e di condensa.

Le attività di manutenzione ordinaria e straordinaria devono essere pianificate al di fuori dell'orario di lavoro per ridurre il rischio di contaminazione accidentale e devono essere seguite da rigorosi protocolli di pulizia e sanificazione.

La presenza di attrezzature obsolete, spesso non progettate per poter essere facilmente smontate e disinfettate, può favorire la formazione di serbatoi cronici del patogeno, per cui sarà necessario valutare l'adeguamento o la sostituzione dell'impianto, almeno delle superfici più usurate e difficili da sanificare.

Campionamento

La predisposizione in autocontrollo di un adeguato piano di campionamento riveste un ruolo fondamentale per verificare l'efficacia delle misure preventive e di controllo adottate e svelare precocemente eventuali nicchie di annidamento del patogeno. Tale attività rientra tra gli obblighi normativi previsti per gli OSA che producono alimenti pronti al consumo, come previsto dall'art. 4 (campionamento su prodotto finito) e dall'art. 5, par. 2 del Reg. (CE) 2073/2005 (campionamento di ambienti e attrezzature).

Nel caso in cui *Listeria monocytogenes* sia identificata all'interno dello stabilimento, il monitoraggio ambientale ha anche lo scopo di verificare l'efficacia delle procedure di pulizia e sanificazione adottate a seguito del riscontro della positività o, se gli isolamenti sono ripetuti, di svelare la presenza di biofilm



che richiederà trattamenti specifici. Nel caso di indagini su focolai di listeriosi, i campionamenti in azienda permettono di risalire all'origine della contaminazione e, attraverso la caratterizzazione genomica del ceppo, di verificare l'eventuale corrispondenza tra il ceppo rilevato nell'ambiente e quello isolato nei pazienti.

I campioni devono essere prelevati da:

- superfici a diretto contatto con gli alimenti, come nastri trasportatori, miscelatori, taglierine, bilance, utensili e guanti degli operatori;
- superfici non a contatto, come pavimenti, guide, guarnizioni, grembiuli e scarpe degli operatori, pozzetti di scarico;
- materie prime e semilavorati, per monitorare i fornitori e identificare i punti critici lungo la linea produttiva.

Il piano deve essere basato su un'analisi del rischio e prevedere una frequenza più elevata nelle aree ad alto rischio e nelle superfici a contatto, dove il potenziale impatto sulla sicurezza del prodotto è più elevato. Particolare attenzione va rivolta alle superfici difficili da pulire e a quelle che, come le ruote dei carrelli e le calzature del personale, possono diventare veicoli di contaminazione tra aree a diverso profilo igienico, soprattutto in assenza di una netta unidirezionalità dei flussi operativi.

Le linee guida EURL Lm suggeriscono di effettuare il campionamento durante la produzione, dopo almeno 2 ore dall'inizio delle attività, o a fine turno.

Le aree e le attrezzature che sono pulite periodicamente

andrebbero campionate sia prima, in modo da validare la frequenza di applicazione dei protocolli igienici, sia dopo la sanificazione, per verificarne l'efficacia.

In caso di positività, il piano di campionamento andrà intensificato per individuare tempestivamente l'origine della contaminazione e adottare misure correttive efficaci, prevenendo così il reiterarsi della non conformità.

Conclusioni

La gestione del rischio *Listeria monocytogenes* negli stabilimenti di produzione di prodotti RTE è una sfida che richiede un approccio sistemico, basato su un sistema di gestione della sicurezza alimentare solido e aggiornato. Le più recenti ricerche scientifiche, supportate dall'uso di tecniche di sequenziamento genomico, hanno messo in luce l'elevata variabilità genetica del genere *Listeria*, che dal 2010 a oggi è passato da 6 a 28 specie, svelando quanto ci sia ancora da comprendere sul suo comportamento, la sua virulenza e la sua adattabilità agli ambienti di produzione. Gli aspetti analizzati in questo articolo rappresentano alcuni elementi chiave di una strategia efficace di controllo del patogeno.

Considerata l'estrema complessità della gestione del rischio, in alcune imprese si sta affermando l'uso di tecnologie ad alta pressione (HPP), applicate sul prodotto confezionato, al fine di avere un'ulteriore barriera in grado di inattivare *Listeria*, preservando al contempo le caratteristiche sensoriali e nutrizionali degli alimenti.

Il controllo del rischio non si esaurisce però nella fase di produzione.

Come mostrano i dati EFSA, circa un terzo dei casi di listeriosi invasiva è attribuibile alla crescita di *L. monocytogenes* in ambiente domestico.

I consumatori svolgono quindi un ruolo chiave nel controllo dell'infezione: occorre puntare su strategie di comunicazione del rischio, che aumentino la consapevolezza e sensibilizzino sulle corrette pratiche di conservazione e manipolazione degli alimenti, rivolte soprattutto alle popolazioni più vulnerabili, come donne in gravidanza e anziani.

Per saperne di più

1. Atti del corso "Verifica dei sistemi di sicurezza alimentare nella produzione di prodotti pronti per il consumo", organizzato dalla Direzione Generale del Ministero della Salute, in collaborazione con IZS Teramo, IZS Brescia e SSICA Parma.

2. Atti del corso "Microbiological criteria and control of zoonoses - Microbiological criteria for *Listeria*, RTE food and shelf life" (2022), reperibili sul sito BTSF ACADEMY.

3. Atti del corso "STM PROGRAMME on *Listeria monocytogenes*" (2023), reperibili sul sito BTSF ACADEMY.

4. European Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes* (EURL Lm) technical guidance document on sampling the food processing area and equipment for the detection of *Listeria monocytogenes* (Version 4 -3/10/2023). <https://zenodo.org/records/8406616> European Food Safety Authority (EFSA) & European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2024) The European Union One Health 2023 Zoonoses report. Approved: 11 November 2024. DOI: 10.2903/j.efsa.2024.9106

5. Kirk MD, Pires SM, Black RE, Caipo M, Crump JA, Devleeschauwer B, Döpfer D, Fazil A, Fischer-Walker CL, Hald T, Hall AJ, Keddy KH, Lake RJ, Lanata CF, Torgerson PR, Havelaar AH, Angulo FJ. 2015. World health organization estimates of the global and regional disease burden of 22 foodborne bacterial, protozoal, and viral diseases, 2010: A data synthesis. PLoS Med 12:e1001921. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001921>

6. Griglio B., Marro S., Cravero M., Rossignoli M. *Listeria monocytogenes* negli alimenti: valutazione del rischio e indicazioni operative per i controlli ufficiali alla luce del quadro normativo. Veterinary & Food, numero 2, 2014.

7. McMeekin TA, Hill C, Wagner M, Dahl A, Ross T. Ecophysiology of food-borne pathogens: Essential knowledge to improve food safety. Int J Food Microbiol. 2010 May 30;139 Suppl 1:S64-78. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.041. Epub 2010 Feb 1. PMID: 20171753.

8. "Orientamenti in materia di igiene per il controllo della *Listeria monocytogenes* nella produzione di ortaggi surgelati", Orientamenti PROFEL sulla *Listeria* - novembre 2020.

9. Orsi RH, Liao J, Carlin CR, Wiedmann M. Taxonomy, ecology, and relevance to food safety of the genus *Listeria* with a particular consideration of new *Listeria* species described between 2010 and 2022. mBio. 2024 Feb 14;15(2):e0093823. doi: 10.1128/mbio.00938-23. Epub 2023 Dec 21. PMID: 38126771; PMCID: PMC10865800.

10. Quereda JJ, Morón-García A, Palacios-Gorba C, Desaux C, García-Del Portillo F, Pucciarelli MG, Ortega AD. Pathogenicity and virulence of *Listeria monocytogenes*: A trip from environmental to medical microbiology. Virulence. 2021 Dec;12(1):2509-2545. doi:10.1080/21505594.2021.1975526. PMID: 34612177; PMCID: PMC8496543.

11. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widowson M-A, Roy SL, Jones JL, Griffin PM. 2011. Foodborne illness acquired in the United States-major pathogens. Emerg Infect Dis 17:7-15. <https://doi.org/10.3201/eid1701.p11101>

12. Troller J.A. Sanitation in Food Processing, second edition. Academic Press, inc. 1993.

13. Regolamento (CE) n. 2073/2005 della Commissione, del 15 novembre 2005, sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari.

14. Regolamento (UE) 2024/2895 DELLA COMMISSIONE del 20 novembre 2024 che modifica il regolamento (CE) n. 2073/2005 per quanto riguarda *Listeria monocytogenes*.