
ALLEGATO 3

PIANO DI CAMPIONAMENTO PREOPERATIVO PER SUPERFICI A CONTATTO – IMPIANTI DI MACELLAZIONE E SEZIONAMENTO

Autori Ministero della Salute
Direzione Generale per l'Igiene e la Sicurezza
degli Alimenti e la Nutrizione – Ufficio 2
Dr. Nicola Santini
Dr.ssa Anna Beatrice Ciorba

IZS Abruzzo e Molise
Dr. Giacomo Migliorati
Dr. Francesco Pomilio
Dr. Luigi Iannetti

Panoramica

- A. Introduzione
- B. Il Piano di campionamento
- C. Frequenza di campionamento
- D. Tecniche di campionamento
- E. Azioni correttive da effettuare a seguito di positività
- F. Preparazione del campionamento e metodologie asettiche di prelievo
- G. Analisi

A. Introduzione

FSIS sta implementando presso gli stabilimenti di macellazione un piano di campionamento delle superfici destinate a venire a contatto con gli alimenti in fase pre-operativa. Tale procedura ridurrebbe il rischio di contaminazione incrociata dovuta a carenti condizioni igieniche identificando la presenza di eventuali nicchie di Salmonella. Sembrerebbe dimostrata infatti la capacità di questo patogeno a formare biofilm e sopravvivere nell'ambiente.

È stato dimostrato inoltre che la presenza e la sopravvivenza di Salmonella su superfici a contatto all'interno di stabilimenti di lavorazione possono portare a contaminazione incrociata di prodotti a base di carne (Botteldoorn et al., 2003; DeBusser et al., 2013, EFSA, 2008; BIOHAZ, 2010; Van Hoek et al., 2012). Inoltre è stato dimostrato che la Salmonella sopravvive più a lungo in presenza di materiale organico (Allan et al., 2004; De Cesare et al., 2003; Møretro et al., 2010) e che la disidratazione del materiale organico potrebbe far sì che Salmonella risulti più resistente all'utilizzo di taluni disinfettanti (Gruzdev et al., 2011; Kieboom et al., 2006). Pertanto, è importante che gli stabilimenti elaborino un piano di campionamento al fine di verificare l'efficacia delle operazioni di pulizia e disinfezione, nonché identifichino potenziali siti dove Salmonella può produrre biofilm. Il piano dovrebbe riguardare almeno tutti quei siti che potrebbero costituire nicchie per la Salmonella e dovrebbe pertanto considerare tutte le superfici destinate a venire a contatto con alimenti (FCS), l'eventuale riutilizzo di acqua, le vasche di scottatura e le macchine depilatrici.

È opportuno ricordare che tutti gli stabilimenti di macellazione devono inoltre:

1. sviluppare, implementare e mantenere nel loro sistema HACCP procedure scritte per prevenire la contaminazione delle superfici di contatto alimentari in fase pre-operativa da parte di patogeni enterici;
2. incorporare nell'HACCP o nelle SSOP o nei prerequisiti, le procedure scritte che comprendono i piani di campionamento microbiologici.

Si precisa che affinché il piano risulti efficace, le FCS dovrebbero almeno includere:

- ✓ ganci,
- ✓ nastri trasportatori,
- ✓ tavole di lavorazione,
- ✓ macchine o attrezzature per iniezione,
- ✓ coltelli e/o seghe, situati nell'area di macellazione e sezionamento degli stabilimenti.

Il campionamento dovrebbe essere effettuato prima dell'inizio delle operazioni di macellazione e sezionamento e dopo la verifica preoperativa condotta dal personale dell'impianto. Gli stabilimenti non dovranno attendere i risultati del campionamento per iniziare le operazioni di lavorazione. Infatti, la presenza di superfici di contatto con alimenti positive per Salmonella prima dell'inizio delle operazioni di macellazione e sezionamento potrebbero indicare che le sanificazioni effettuate dalla ditta non sono efficaci tuttavia tale situazione non comporta ritardi nell'inizio delle lavorazioni.

B. Il Piano di Campionamento

Il piano di campionamento degli stabilimenti dovrebbe includere sia un piano routinario di campionamento sia azioni di follow up a seguito di riscontro di positività.

Il piano routinario deve identificare:

1. la lista dei siti che devono essere sottoposti a campionamento
2. la frequenza di campionamento
3. il numero dei campioni da prelevare
4. le dimensioni dei siti da campionare
5. il metodo di campionamento utilizzato.

Nella tabella di seguito si riportano le frequenze minime attese per stabilimenti in relazione al volume di capi macellati e alle dimensioni dell'impianto.

DIMENSIONI IMPIANTO		FREQUENZA MINIMA DI CAMPIONAMENTO*
Molto piccolo	Meno di 10 addetti alla macellazione/sezionamento e volume di affari inferiore a \$2.5 milioni.	1 volte/mese/linea (mensile)
Volume di macellazione ridotto	Il numero di suini macellati per anno è inferiore a 20,000, oppure, se nello stabilimento sono macellate più specie, non supera i 6,000 capi bovini e i 20,000 capi totali.	
Piccolo	<ul style="list-style-type: none">• 10 – 499 addetti alla macellazione/sezionamento• Volume di affari superiore a \$2.5 milioni	2 volte/mese/linea (ogni 2 settimane)
Grande	+ di 500 addetti alla macellazione/sezionamento	4 volte/mese/linea (settimanale)
<p>*ciascuna sessione di campionamento dovrebbe prevedere di effettuare almeno 3-5 campioni per linea produttiva. Gli stabilimenti possono decidere di ricercare <i>Salmonella</i> o altri microrganismi indicatori (es. CMT, Generic <i>E. coli</i> and <i>Enterobacteriaceae</i>).</p> <p>FSIS raccomanda di campionare per la ricerca di <i>Salmonella</i> poiché questo è l'organismo più specifico da testare e lo scopo del campionamento delle FCS è quello di verificare le condizioni igieniche. Se viene scelto un organismo indicatore, invece, FSIS raccomanda di selezionare un organismo che è in grado di identificare un gruppo più piccolo di batteri (cioè <i>Enterobacteriaceae</i>) ma che è ancora considerato un germe indicatore per la <i>Salmonella</i>. Lo scopo di questo campionamento sarebbe quello di determinare la presenza o l'assenza di micro-organismi sulle superfici di contatto con gli alimenti in fase preoperativa, FSIS non si aspetterebbe metodi di numerazione, tuttavia anch'essi sono ben accettati.</p>		

Tenuto conto di quanto previsto da FSIS si suggerisce fortemente di indirizzare effettuare prove di ricerca della *Salmonella* spp..

Se uno stabilimento sceglie di campionare per un organismo indicatore invece che per Salmonella, è necessario che le operazioni di follow up a seguito di positività, vengano svolte in ogni caso. È per questo motivo che gli stabilimenti devono identificare le dimensioni e i siti di campionamento per condurre azioni correttive efficaci a seguito di positività.

b.1 Mappatura dell'impianto

Gli stabilimenti devono progettare i propri piani di campionamento in modo tale che vengano raccolti sia campioni casuali che mirati. Inizialmente, i campioni dovrebbero essere raccolti a caso, per garantire che tutte le superfici abbiano le stesse possibilità di essere campionate. In ogni caso è necessario che lo stabilimento si adoperi affinché tutte le possibili superfici a contatto individuate vengano campionate nell'arco dell'anno.

b.2 Campionamento mirato

Una volta che lo stabilimento ha mappato l'impianto e ha dimostrato con soddisfazione all'Autorità Competente che il sistema di controllo è efficace, può adottare un piano di campionamento basato sul rischio. Il campionamento basato sul rischio dovrebbe includere campioni mirati raccolti insieme ai campioni casuali. Questi campioni possono essere raccolti a discrezione dello stabilimento in base a risultati positivi o ad altre condizioni osservate nello stabilimento (es. verifiche preoperative).

Gli stabilimenti dovrebbero campionare più frequentemente le aree in cui sono stati individuati problemi di igiene. Si possono anche raccogliere campioni mirati per dimostrare l'efficacia delle azioni correttive dello stabilimento. I risultati dei campioni mirati possono essere collegati alle osservazioni effettuate in sede di campionamento da parte dei campionatori in modo tale da raccogliere maggiori informazioni su eventuali nicchie presenti in stabilimento.

b.3 Riscontro di positività

Se vengono riscontrate positività, lo stabilimento deve intraprendere azioni correttive e effettuare follow-up come descritto nel piano di campionamento. La presenza di Salmonella o altri indicatori è sinonimo di condizioni igieniche non adeguate. Ciò nonostante i prodotti di quel giorno lavorativo non devono essere considerati adulterati.

C. Frequenza di campionamento

La frequenza di campionamento dovrebbe prendere in considerazione i seguenti criteri:

1. Grandezza dell'impianto (vedi tabella sopra)
2. Storia dello stabilimento (risultati campionamenti anni precedenti; evidenze ispettive)

Quando lo stabilimento utilizza le frequenze di campionamento specificate nella tabella, è necessario campionare almeno 3-5 campioni di FCS per linea di produzione (linea di macellazione; linea di sezionamento a caldo; linea di sezionamento a freddo) ogni volta che si effettua il campionamento (mensilmente, bisettimanale o settimanalmente). I campioni devono essere prelevati in giorni diversi durante

l'anno, il trimestre, il mese o la settimana, per garantire che il campionamento sia realmente rappresentativo delle condizioni di lavorazione. Le frequenze elencate nella tabella si basano su un programma di macellazione tipico (5 giorni alla settimana).

Una volta che una struttura ha identificato una frequenza di campionamento, deve seguire la frequenza selezionata. Se il campionamento non viene eseguito alla frequenza stabilita, lo stabilimento deve giustificare le motivazioni.

D. Tecniche di campionamento

Servirsi di tecniche di campionamento adeguate è importante per garantire che vengano rilevati sulle superfici di contatto con alimenti bassi livelli di Salmonella o di organismi indicatori. Lo stabilimento dovrebbe fornire istruzioni scritte in merito alle procedure di campionamento che dovrebbero essere effettuate assicurando tecniche asettiche.

Il campionamento deve essere eseguito da una persona addestrata e i campioni devono essere raccolti utilizzando spugne sterili o altri dispositivi di campionamento.

d.1 Area di campionamento

Deve essere campionata un'area corrispondente a 30x30 cm, quando possibile. Se la superficie da campionare è inferiore, è necessario campionare l'intera superficie.

d.2 Campionamento

La spugna deve essere idratata con tampone neutralizzante sterile, brodo DeyEngley (DE) o un altro brodo sterile contenente componenti in grado di neutralizzare gli effetti dei disinfettanti che possono essere presenti nel campione.

d.3 Integrità

I campioni devono essere conservati in frigorifero (mai congelati) prima dell'analisi. I campioni devono essere etichettati correttamente ("per export USA") per evitare confusione riguardo ai risultati dei test.

Campionamento di Acqua

Alcuni stabilimenti riutilizzano l'acqua nell'ambiente di macellazione. A seconda che l'acqua venga utilizzata sulle carcasse, l'acqua potrebbe essere considerata una FCS.

d.4 Campionamenti in pool

I campioni di FCS possono essere effettuati in pool. Se viene utilizzata tale procedura, FSIS raccomanda di non raccogliere più di 5 campioni e di utilizzare spugne separate per raccogliere ciascun campione, al fine di evitare possibili contaminazioni incrociate. Quindi, il campionamento è separato, l'analisi può essere effettuata in pool.

In caso di positività le azioni di follow up dovranno riguardare tutte le superfici analizzate in pool.

In riferimento ai metodi di analisi da utilizzare, questi dovrebbero prevedere:

- 1) Un passaggio in brodo di arricchimento utilizzato per consentire il recupero degli organismi non integri e la crescita di organismi a livelli che possono essere rilevati dalla maggior parte dei metodi di prova. Molti metodi di analisi comunemente usati non sono in grado di rilevare livelli inferiori a 100 cellule / campione. Pertanto, è importante che la fase di arricchimento sia progettata in modo da consentire a concentrazione bassa di microrganismi di moltiplicarsi fino a livelli rilevabili. È anche importante permettere ai microrganismi il tempo di moltiplicazione, in modo tale da poter essere rilevati dal metodo di prova. Nella maggior parte dei casi, l'arricchimento richiede almeno 8 ore per raggiungere livelli adeguati di crescita microbica per il rilevamento.
- 2) Deve essere analizzato la spugna intera o il dispositivo di campionamento utilizzato. Alcuni metodi prevedono che nel test si includa una piccola parte del brodo o altro diluente utilizzato per idratare la spugna o il dispositivo di campionamento. Gli studi hanno dimostrato che i batteri possono rimanere intrappolati all'interno della spugna o di altri dispositivi. Pertanto, FSIS suggerisce che l'intera spugna o il dispositivo di campionamento siano inclusi nella fase di arricchimento così da aumentare la probabilità di rilevare i microrganismi
- 3) Il metodo di analisi deve essere stato accettato da ACCREDIA e l'analisi effettuata in un laboratorio accreditato.

E. Azioni Correttive da effettuare a seguito di positività

Quando viene riscontrata una positività per FCS per Salmonella o per un microrganismo indicatore, è chiaro che le azioni di sanificazione non risultano sufficienti.

Lo stabilimento dovrà mettere in atto le opportune azioni correttive che comprenderanno almeno:

- Rivalutazione delle procedure operative standard di sanificazione (SSOP)
- Rotazione dei disinfettanti
- Formazione del personale
- Verifica del design delle attrezzature, nonché del loro stato di manutenzione, ed eventuale sostituzione con attrezzature facili da pulire
- Esecuzione di campioni di follow-up per verificare l'efficacia delle azioni correttive. A tale proposito è necessario precisare che lo stabilimento dovrà inserire nella procedura indicazioni relative al numero di campioni che devono essere prelevati durante il campionamento di follow-up. FSIS raccomanda di prelevare almeno 3-5 campioni includendo la FCS riscontrata positiva e l'area circostante. Nelle azioni correttive è necessario registrare le motivazioni che portano a selezionare un sito di campionamento di follow-up piuttosto che un altro. Il campionamento di follow-up potrebbe anche includere altre FCS che non erano state precedentemente testate. Lo stabilimento dovrebbe anche includere una breve descrizione delle azioni correttive e preventive che verranno intraprese in risposta a risultati positivi (i dettagli possono essere inclusi nelle SSOP).

F. Preparazione del campionamento e metodologie asettiche di prelievo

Microorganismi estranei provenienti da mani, indumenti, attrezzature di campionamento o dall'ambiente di lavorazione possono contaminare i campioni e determinare risultati analitici errati. Le tecniche di campionamento asettico dovrebbero essere seguite per garantire risultati accurati che siano rappresentativi del prodotto e del processo.

Prima di iniziare la raccolta dei campioni, è importante preparare i materiali di campionamento, come guanti sterili, soluzioni di campionamento sterili e soluzione igienizzante. Le soluzioni di campionamento sterili, come il brodo DeyEngley (DE), devono essere conservate secondo le istruzioni del produttore a temperatura ambiente; tuttavia, almeno il giorno prima della raccolta del campione, è opportuno controllare tali soluzioni per la torbidità e non utilizzare soluzioni torbide o contenenti materiale particolato.

Un'area dovrebbe essere designata come sito per la preparazione del campionamento. È possibile utilizzare una superficie sanificabile, come un tavolo in acciaio inossidabile o un carrello a ruote. I guanti sterili devono essere utilizzati durante la manipolazione di carcasse o delle apparecchiature di campionamento sterili (ad es. Spugna di campionamento) durante il processo di raccolta del campione. E' necessario prestare attenzione al fine di evitare la contaminazione della superficie esterna dei guanti prima o durante il processo di raccolta del campione.

G. Analisi

Lo stabilimento dovrebbe garantire che i test microbiologici soddisfino le esigenze di sicurezza alimentare. Uno stabilimento deve riportare nella procedura di campionamento se l'analisi del campione sarà eseguita da un laboratorio esterno o nel proprio laboratorio di analisi (se disponibile).

Si rammenta che in entrambi i casi i laboratori devono essere accreditati così come i metodi di analisi utilizzati. E' inoltre necessario che lo stabilimento invii al laboratorio una specifica con le esigenze di campionamento ed analisi conformi al seguente piano.

Per prevenire la contaminazione incrociata, FSIS raccomanda che il laboratorio di analisi sia separato dalle aree di produzione e che l'accesso allo spazio del laboratorio sia limitato. Se lo stabilimento verifica i patogeni sul posto, allora dovrebbero avere le seguenti misure di sicurezza aggiuntive per garantire la sicurezza alimentare:

- Seguire i requisiti per le operazioni di laboratorio di livello di biosicurezza;
- Limitare l'accesso al laboratorio a personale addestrato;
- Assicurarsi che il laboratorio funzioni sotto la supervisione di un microbiologo qualificato o equivalente.

Gli stabilimenti possono analizzare campioni per organismi non patogeni come E. coli generico e conta della carica batterica mesofila in aerobiosi (CBMT) sul posto. Il metodo di prova utilizzato deve essere validato per gli organismi bersaglio e per la matrice di campione analizzata per garantire l'accuratezza dei risultati.

Per ottenere risultati più precisi, i campioni devono essere analizzati non appena possibile dopo il campionamento. Se i campioni devono essere trasportati in un laboratorio fuori sede, devono essere refrigerati e spediti in frigorifero, lo stesso giorno in cui sono stati raccolti. Più campioni raccolti nello stesso giorno possono essere spediti nello stesso contenitore. I campioni raccolti nello stesso giorno dovrebbero essere analizzati individualmente. Il campione dovrebbe essere analizzato entro il giorno successivo alla raccolta.

Se la raccolta, il ritiro o la spedizione del campione e le analisi di laboratorio non possono essere eseguite entro questo lasso di tempo, la carcassa o il prodotto selezionato per il campionamento devono essere conservati in frigorifero fino a quando il processo può essere eseguito nell'arco di tempo appropriato. Lo stesso principio si applica ai campioni analizzati all'interno dell'impianto: se una carcassa non può essere campionata e il campione analizzato, entro il giorno successivo a quello in cui viene prelevato, la carcassa deve essere tenuta in frigorifero fino a quando ciò è possibile. I campioni costituiti da spugne o di tessuto devono essere conservati a temperatura refrigerata, non congelati e spediti in laboratorio in un contenitore isolato a temperatura di refrigerazione. Infine, l'identificazione dei campioni deve essere garantita durante l'esecuzione delle prove per garantire l'identificazione dei siti campionati.

Infine si segnala che i ceppi di Salmonella isolati dovranno essere inviati al Laboratorio Nazionale di Riferimento per le Salmonelle presso l'IZS delle Venezie, dove verranno sottoposti a tipizzazione sierologica e, se del caso, ad ulteriori caratterizzazioni.