

Regione Lazio

DIREZIONE SALUTE E POLITICHE SOCIALI

Atti dirigenziali di Gestione

Determinazione 17 ottobre 2016, n. G11869

Piano di monitoraggio per la ricerca di Escherichia coli produttori di tossina Shiga (STEC) in formaggi a base di latte crudo ovi-caprino. 2016-2018

Oggetto : Piano di monitoraggio per la ricerca di Escherichia coli produttori di tossina Shiga (STEC) in formaggi a base di latte crudo ovi-caprino. 2016-2018

IL DIRETTORE REGIONALE DELLA DIREZIONE SALUTE E POLITICHE SOCIALI

VISTA la Costituzione della Repubblica Italiana;

VISTA la legge regionale 18 febbraio 2002, n. 6, recante la “Disciplina del sistema organizzativo della Giunta e del Consiglio e disposizioni relative alla dirigenza e al personale regionale”, nonché successive modificazioni ed integrazioni;

VISTO lo Statuto della Regione Lazio approvato con legge statutaria 11 novembre 2004, n. 1 ed, in particolare, l’art. 53 che prevede l’attribuzione della gestione tecnica finanziaria amministrativa e la relativa responsabilità dell’azione amministrativa ai dirigenti;

VISTA la legge regionale 18 febbraio 2002, n. 6, e successive modificazioni ed integrazioni, recante la “Disciplina del sistema organizzativo della Giunta e del Consiglio e disposizioni relative alla dirigenza e al personale regionale”, ed in particolare l’art. 18, comma 1, che prevede, tra le competenze del Direttore regionale, l’adozione degli atti che impegnano l’amministrazione verso l’esterno;

VISTO il regolamento regionale 6 settembre 2002, n. 1, e successive modificazioni ed integrazioni, concernente l’organizzazione degli uffici e dei servizi della Giunta regionale ed, in particolare, l’art. 160, comma 1, lettera b);

VISTO il Regolamento regionale del 15 dicembre 2015, n. 16, concernente ”Modifiche al Regolamento regionale 6 settembre 2002, n.1 (Regolamento di organizzazione degli uffici e dei servizi della giunta regionale e successive modificazioni) e, in particolare, l’art. 4 che prevede a decorrere dal 16 dicembre 2015, la soppressione della direzione regionale “Salute ed integrazione socio-sanitaria” e l’istituzione della direzione regionale “Salute e Politiche Sociali”;

VISTA la Deliberazione della Giunta Regionale del Lazio n. 723 del 14 dicembre 2015, con la quale è stato conferito l’incarico di Direttore regionale della Direzione Salute e Politiche Sociali al Dr. Vincenzo Panella;

VISTO il regolamento (CE) n. 178/2002 del 28 gennaio 2002 che stabilisce i principi ed i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l’Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare;

VISTO il regolamento (CE) n. 852/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004 sull’igiene dei prodotti alimentari;

VISTI i regolamenti (CE) n. 853/2004 e 854/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004 che stabiliscono, rispettivamente, norme specifiche in materia d’igiene per i prodotti alimentari di origine animale e norme particolareggiate per l’organizzazione dei controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano;

VISTO il decreto legislativo 191/2006, attuazione della direttiva 2003/99/CE sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonosici;

VISTO il regolamento (CE) n. 882/2004 del 29 aprile 2004 relativo ai controlli ufficiali intesi a verificare la conformità alla normativa in materia di mangimi e di alimenti ed in particolare l’art. 41 con il quale viene disposto che" ... al fine di garantire l’effettiva attuazione dell’articolo 17, paragrafo 2, del Regolamento (CE) n. 178/2002, delle norme sulla salute e sul benessere degli

animali e dell' articolo 45 del presente regolamento, ciascuno Stato membro ... (elabora, ndr) ... un unico piano integrato di controllo nazionale pluriennale";

VISTA l'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 sulla proposta del Ministero della salute concernente il "Piano Nazionale Integrato (PNI) 2015-2018". Repertorio Atti n.: 177/CSR del 18/12/2014;

CONSIDERATO che il perseguimento degli obiettivi strategici del PNI 15-18 viene valutato annualmente attraverso specifici obiettivi operativi che coinvolgono anche la filiera del latte e derivati;

ATTESO che, a loro volta, le Regioni debbono declinare a loro livello un Piano regionale integrato dei controlli (P.R.I.C.) che rappresenta lo strumento di attuazione delle politiche comunitarie relativamente alla programmazione, realizzazione, rendicontazione e valutazione integrata di tutte le attività di controllo ufficiale nel campo dell'igiene e sanità degli alimenti, della sanità e del benessere animale e dei mangimi;

VISTO il Decreto del Commissario ad Acta n. U00366 del 29.07.15 "Recepimento dell'Intesa n. 177/CSR del 18 dicembre 2014 concernente il "Piano Nazionale Integrato (PNI) 2015-2018". Piano Regionale integrato dei controlli 2015-2018 (PRIC 2015-2018) sulla sicurezza alimentare, il benessere e la sanità animale";

PRESO ATTO che la tutela della qualità sanitaria delle produzioni primarie, dall'agricoltura all'allevamento degli animali produttori di alimenti è uno degli obiettivi strategici individuati nel PRIC 2015-2018;

CONSIDERATO che con il Decreto del Commissario ad acta n. U00366 del 29.07.15 è stato decretato di consentire eventuali modifiche ed integrazioni all'allegato, ove si rendessero necessarie nel corso del periodo di vigenza, al fine di completarlo ed aggiornarlo e di dare mandato alla Direzione regionale Salute e Integrazione Sociosanitaria, attuale Direzione regionale Salute e Politiche Sociali, per l'elaborazione dei singoli atti necessari all'attuazione del Piano Regionale integrato dei controlli 2015-2018 (PRIC 2015-2018) sulla sicurezza alimentare, il benessere e la sanità animale;

VISTO il documento "Piano di monitoraggio per la ricerca di Escherichia coli produttori di tossina Shiga (STEC) in formaggi a base di latte crudo ovi-caprino", elaborato dall'Area Sanità Veterinaria, dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lazio e Toscana e dal gruppo di lavoro regionale sulle tematiche relative alla produzione igienica del latte e dei prodotti lattiero-caseari costituito con determinazione 3 febbraio 2015, n. G00795, Allegato A al presente atto, che ne diventa parte integrante e sostanziale;

RITENUTO pertanto di approvare il documento suddetto;

DETERMINA

Di approvare il documento "Piano di monitoraggio per la ricerca di Escherichia coli produttori di tossina Shiga (STEC) in formaggi a base di latte crudo ovi-caprino", Allegato A al presente atto, che ne diventa parte integrante e sostanziale;

Di aggiornare con il documento di cui sopra il Piano Regionale integrato dei controlli 2015-2018 (PRIC 2015-2018) sulla sicurezza alimentare, il benessere e la sanità animale approvato con Decreto del Commissario ad acta n. U00366 del 29.07.15;

Di apportare eventuali ulteriori integrazioni o modifiche al documento “Piano di monitoraggio per la ricerca di Escherichia coli produttori di tossina Shiga (STEC) in formaggi a base di latte crudo ovi-caprino”, allegato A al presente atto, qualora necessario;

Di incaricare i Servizi Veterinari delle Aziende Sanitarie Locali e l’Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, ciascuno per le parti di propria competenza, della realizzazione del piano di cui sopra.

Il presente atto viene pubblicato sul Bollettino Ufficiale della Regione Lazio.

IL DIRETTORE REGIONALE
(Dr. Vincenzo Panella)

ALLEGATO A

Piano di monitoraggio per la ricerca di *Escherichia coli* produttori di tossina Shiga (STEC) in formaggi a base di latte crudo ovi-caprino**Introduzione**

Gli *Escherichia coli* (*E. coli*) produttori di tossina Shiga (STEC) sono dei germi patogeni in grado di provocare nell'uomo diverse manifestazioni morbose a carattere gastroenterico, quali diarrea sanguinolenta e colite emorragica. In alcuni individui, prevalentemente bambini e anziani, possono inoltre insorgere gravi complicanze come la sindrome emolitico uremica, lesioni renali e danni neurologici. Il motivo per cui gli STEC si differenziano dalle altre classi di *E. coli* rappresenta anche il meccanismo principale con cui esplicano il loro potenziale patogenico ovvero la presenza nel loro DNA di geni in grado di codificare delle esotossine denominate Shiga-tossina 1 (Stx1) e Shiga-tossina 2 (Stx2). E' importante chiarire che in letteratura o nei documenti tecnici di riferimento gli *Escherichia coli* produttori di tossina Shiga sono anche chiamati *Escherichia coli* verocitotossici (VTEC) come anche le loro tossine sono chiamate talvolta "Verocitossina 1 (Vtx1)" e "Verocitotossina2" (Vtx2). Tali dizioni sono da considerarsi equivalenti. Oltre ai geni codificanti le Shiga tossine (una o entrambe), gli STEC più frequentemente associati a casi di tossinfezione umana portatori di uno o più geni che codificano dei "fattori di virulenza". I fattori di virulenza sono delle sequenze geniche che permettono ad un ceppo batterico di produrre sostanze organiche in grado di aumentare la sua patogenicità nei confronti dell'ospite. Sono stati individuati numerosi "fattori di virulenza" nel genoma degli STEC, tuttavia e' stato osservato che sono implicati in casi di tossinfezione alimentare soprattutto gli *E. coli* dotati del gene *eae*. Tale gene consente la sintesi della proteina di membrana intimina, che permette al batterio di aderire efficacemente all'epitelio intestinale e quindi creare lesioni. Gli *E. coli* produttori di tossina Shiga possono appartenere potenzialmente a qualsiasi sierotipo. Tuttavia i dati epidemiologici provenienti dai sistemi di sorveglianza e studi epidemiologici mostrano che alcuni sierotipi di STEC associati a casi di tossinfezione umana sono ricorrenti. In particolare sono stati isolati da alimenti fonte dell'infezione e da feci di pazienti infetti *E. coli* appartenenti ai sierotipi O157, O26, O111, O103, O104 e O145.

Gli STEC possono essere presenti nell'intestino di numerose specie animali tuttavia i ruminanti domestici (bovini, ovini, capre) e selvatici (es. cinghiale, cervo) rappresentano il serbatoio principale di questi batteri. La trasmissione all'uomo avviene tramite l'ingestione di alimenti contaminati e più raramente tramite il contatto con animali portatori e le loro deiezioni. In allevamento, la contaminazione del latte avviene durante la fase di mungitura mediante il contatto diretto o indiretto (es. peli) con materiale fecale proveniente da animali portatori.

L'adozione delle buone pratiche di mungitura e, più in generale, il mantenimento di un adeguato stato d'igiene dell'ambiente di allevamento è necessario per evitare il passaggio di patogeni nel latte. Tali procedure di prevenzione, che devono essere attuate anche qualora sia previsto un successivo trattamento di pastorizzazione (in grado di eliminare cariche elevate di STEC), risultano fondamentali nel caso il latte sia destinato alla produzione di prodotti lattiero caseari per i quali non è previsto alcun trattamento termico di risanamento della materia prima.

I processi produttivi di molti formaggi a latte crudo, infatti, non sempre includono fasi di lavorazione (es. cottura della cagliata, lunga stagionatura) in grado di garantire un abbattimento significativo della carica di *E. coli* produttori di tossina Shiga e quindi la loro assenza nel prodotto finale. Anzi, durante alcune fasi si può assistere ad un significativo aumento della concentrazione di STEC se presenti nella materia prima. Sebbene, per la preparazione di alcuni formaggi sia prevista la termizzazione del latte prima della lavorazione, tale trattamento non è sempre in grado di eliminare il patogeno se non a determinate combinazioni di tempo/temperatura. La stessa fase di stagionatura, solitamente in grado di ridurre efficacemente il rischio microbiologico, potrebbe non essere sufficiente a garantire il risanamento di un lotto contaminato prima della commercializzazione se le caratteristiche biochimiche del formaggio sono congeniali al batterio o se non effettuata per tempi adeguatamente lunghi. Le ragioni di tali capacità di sopravvivenza degli STEC sono legate al fatto che tali microrganismi possono adattarsi a condizioni ambientali ritenute solitamente sfavorevoli per altri batteri patogeni. In particolare, alcuni ceppi di STEC hanno dimostrato di essere in grado di resistere per lunghi periodi in formaggi con basso pH e/o alla presenza di una flora autoctona competitiva.

Secondo i dati 2011-2013 ricavati tramite il Piano Regionale Integrato dei Controlli (PRIC) della Regione Lazio, la presenza di geni *stx*, codificanti le Shiga tossine è stata rilevata nel 15.1% (22/146) di campioni di formaggio a latte crudo o termizzato prelevati dai Servizi Veterinari. Tale prevalenza è simile a quella riportata da studi eseguiti in altri paesi europei sulla stessa categoria di prodotti (Vernozy-Rozand *et al.*, 2005; Zweifel *et al.*, 2010). Tuttavia, l'isolamento tramite metodi colturali di colonie di *E. coli* portatrici di geni *stx* si è verificato per 2 campioni di formaggio (2/146, 1.4%). I dati hanno evidenziato inoltre un maggiore tasso di positività dei formaggi a base di latte ovino rispetto a quelli prodotti con latte di altre specie. La presenza dei geni *stx* è stata infatti rilevata nel 34.9% campioni (15/43), e gli unici isolamenti di colonie STEC precedentemente citati sono stati ottenuti proprio da due diversi formaggi di pecora.

Va sottolineato che, secondo quanto riportato in letteratura, è sufficiente l'assunzione di basse quantità di STEC per osservare sintomi clinici di malattia nell'uomo, al contrario di quanto accade per altri patogeni alimentari che necessitano invece di dosi infettanti più elevate (es. *Listeria monocytogenes*). Per tale ragione, il riscontro di una bassa carica batterica (concentrazione) di STEC contaminante una categoria di prodotti alimentari può in ogni caso rappresentare motivo di attenzione per le autorità competenti responsabili della tutela della salute pubblica.

Il latte e i suoi derivati sono ripetutamente segnalati come causa di focolai di tossinfezione da STEC. Un'analisi statistica dei focolai di tossinfezione causati da *Escherichia coli* O157 riscontrati tra il 1982 e il 2006 ha evidenziato che 11 dei 49 (22%) outbreaks di origine alimentare è stato associato al consumo di prodotti lattiero-caseari (Snedeker *et al.*, 2009). Probabilmente alcuni ceppi STEC non-O157 hanno un ruolo epidemiologico nelle derrate di origine lattiero-casearia ancora più importante rispetto al più noto O157 poiché isolati con maggiore frequenza. I formaggi a latte crudo, in particolare a pasta molle e/o breve stagionatura, sono ritenuti tra i prodotti più a rischio e in letteratura sono descritti diversi episodi di tossinfezione originati da tale categoria di alimenti (EspíE *et al.*, 2006; Honish *et al.*, 2006; EFSA, 2013). Anche nella Regione Lazio è stato recentemente segnalato un probabile focolaio di tossinfezione causato dal consumo di un formaggio a latte crudo contaminato di provenienza locale.

La lavorazione di formaggi a latte crudo o termizzato è presente anche nella Regione Lazio ed è tipica, in particolare, dei piccoli caseifici aziendali. In alcuni casi vengono prodotti formaggi registrati nell'elenco regionale dei Prodotti Agroalimentari Tradizionali, e quindi si tratta di produzioni che hanno un rilevante valore storico-sociale ed economico per il territorio, oltre ad una ricaduta diretta sulla salute pubblica in considerazione della loro commercializzazione prevalentemente locale.

Definizioni

Ai fini del presente piano si intende per:

«Formaggio»: Il nome di «formaggio» o «cacio» è riservato al prodotto che si ricava dal latte intero ovvero parzialmente o totalmente scremato, oppure dalla crema, in seguito a coagulazione acida o presamica, anche facendo uso di fermenti e di sale di cucina (R.D.L. Del 15 ottobre 1925, n. 2033);

«Prodotti lattiero-caseari»: prodotti risultanti dalla trasformazione di latte crudo o dall'ulteriore trasformazione di detti prodotti trasformati (Reg. CE 853/2004);

«*Escherichia coli* produttori di tossina Shiga (STEC) o *Escherichia coli* Verocitotossici (VTEC)»: *E. coli* che si caratterizzano per la produzione di tossine chiamate Shiga-tossina 1 (Stx1) e Shiga-tossina 2 (Stx2) per la loro similarità alle tossine prodotte da *Shigella dysenteriae*. Tali tossine sono chiamate anche Verocitotossine ("Vtx") per la loro citotossicità nei confronti delle linee cellulari Vero (EFSA Journal 2013;11(4):3138);

«Stx»: geni presenti nel genoma degli STEC che consentono di codificare la Shiga-tossina 1 (Stx1) e/o Shiga-tossina 2 (Stx2);

«*eae*»: gene codificante l'"intimina", proteina di membrana che consente al microrganismo di causare l'effetto "attaching and effacing" nei confronti della membrana intestinale umana. E' considerato un importante fattore di virulenza perché gli STEC associati a casi di malattia umana causati da alimenti contaminati sono spesso *eae*⁺;

«Presunta presenza di STEC in XX gr. di alimento»: esito presente sul rapporto di prova quando l'analisi di screening per i geni di patogenicità eseguita sul brodo di arricchimento ha evidenziato la presenza di almeno uno dei due geni "Stx" ma non vi è stato il successivo isolamento colturale di colonie di *E. coli* portatrici di geni "Stx" da parte del laboratorio. Per maggiori dettagli consultare la Nota RL prot. 372412 del 2/07/2014 della Direzione Regionale Salute ed Integrazione Socio Sanitaria – Area Sanità Veterinaria;

«Presenza STEC in XX gr. di alimento»: esito presente sul rapporto di prova quando è avvenuto l'isolamento di colonie di *E. coli* portatrici di geni *stx* da parte del laboratorio. Per maggiori dettagli consultare la Nota RL prot. 372412 del 2/07/2014 della Direzione Regionale Salute ed Integrazione Socio Sanitaria – Area Sanità Veterinaria;

«Latte crudo»: latte prodotto mediante secrezione della ghiandola mammaria di animali di allevamento che non è stato riscaldato a più di 40°C e non è stato sottoposto ad alcun trattamento avente un effetto equivalente (Reg. 853/04);

«Latte termizzato»: latte crudo che è stato sottoposto ad un trattamento termico inferiore a quello di pastorizzazione e che quindi presenta una reazione positiva al saggio della fosfatasi;

«Latte pastorizzato» latte sottoposto a pastorizzazione ovvero mediante un trattamento comportante: i) una temperatura elevata durante un breve periodo (almeno 72 °C per 15 secondi); ii) una temperatura moderata durante un lungo periodo (almeno 63 °C per 30 minuti); o iii) ogni altra combinazione tempo-temperatura che permetta di ottenere un effetto equivalente, di modo che i prodotti diano, se del caso, una reazione negativa al test di fosfatasi alcalina immediatamente dopo aver subito tale trattamento (Reg. 2074/05);

«Monitoraggio»: la realizzazione di una sequenza predefinita di osservazioni o misure al fine di ottenere un quadro d'insieme della conformità alla normativa in materia di mangimi e di alimenti, di salute e di benessere degli animali (Reg. CE 882/2004);

Obiettivo del Piano

Il presente piano ha lo scopo di:

- stimare la prevalenza di STEC in formaggi a latte crudo e termizzato ovi-caprino prodotti nella Regione Lazio, in particolar modo dei sierotipi che sembrano essere più frequentemente isolati dai prodotti lattiero-caseari ma per i quali si hanno a disposizione meno informazioni rispetto all'O157;
- ottenere informazioni riguardo la prevalenza di *E. coli* presenti nelle produzioni regionali ovi-caprine e di conseguenza della loro qualità igienica;
- individuare i fattori che possono incidere sulla presenza di STEC nelle produzioni casearie regionali al fine di impostare un eventuale piano di sorveglianza o delle misure di controllo specifiche basate su elementi di rischio oggettivi;
- rafforzare la vigilanza nei confronti di produzioni ritenute maggiormente a rischio per la salute pubblica per tali microrganismi.

Il presente piano non si sostituisce ai controlli riguardanti la presenza di STEC sui prodotti lattiero-caseari contemplati dal Piano Regionale Integrato dei Controlli. Questi ultimi infatti riguardano formaggi che si trovano già in fase di commercializzazione (oltre ad essere anche di provenienza non necessariamente regionale) ed hanno quindi lo scopo di valutare l'esposizione del consumatore a tale rischio microbiologico.

Prodotti oggetto dello studio e criteri di scelta del campione

Il piano di campionamento si propone di studiare la presenza di STEC e altre *Enterobacteriaceae* in campioni di **formaggio a base di latte ovi-caprino crudo e/o termizzato** prodotto in **caseifici aziendali della Regione Lazio, registrati ai sensi del Regolamento (CE) n. 852/04, annessi all'allevamento.**

Criteri di inclusione

I prodotti oggetto del campionamento devono rispondere ai seguenti criteri di inclusione:

- il latte utilizzato per la produzione del formaggio deve essere crudo o aver subito un trattamento termico inferiore alla pastorizzazione (termizzato);
- il latte utilizzato deve provenire dalle specie ovina o caprina o da entrambe (misto ovi-caprino);
- al momento del campionamento il formaggio deve essere ancora in caseificio, sotto il controllo del produttore. Devono essere prelevati formaggi non ancora posti in vendita (es. nei locali di stagionatura del caseificio), solo nel caso vi sia difficoltà a reperire tali prodotti potranno essere campionati formaggi già in fase di vendita al dettaglio (es. nello spaccio di vendita annesso al caseificio);
- devono essere prelevati formaggi appena prodotti ovvero deve essere scelto per il campionamento il lotto più vicino alla data di caseificazione.

Criteri di esclusione

Non devono essere selezionati (criteri di esclusione) per il campionamento i formaggi per i quali:

- è stato già eseguito un prelievo da un formaggio appartenente allo stesso lotto di produzione;
- sono previsti trattamenti termici sulla cagliata (es. cottura della cagliata o filatura, seppur rara per i prodotti ovi-caprini) o sulle forme (es. stufatura) dopo la fase di coagulazione del latte. Non sono quindi oggetto del piano tutti i formaggi a pasta filata o formaggi a pasta cotta;
- formaggi ottenuti dalla lavorazione del latte di specie bovina o bufalina (compresi formaggi a base di latte ovino e/o caprino per i quali è prevista anche l'aggiunta di latte vaccino o bufalino);
- non devono essere prelevati prodotti lattiero-caseari diversi dai formaggi (es. è esclusa dal presente piano la ricotta).

Qualora il prodotto campionato non soddisfi i criteri succitati, il laboratorio respinge il campione.

Durata del piano

Il piano ha durata **triennale (2016-2018)** e riguarda le produzioni ovine e/o caprine. Il campionamento deve, per quanto possibile, essere distribuito durante l'anno per venire incontro alle capacità analitiche del laboratorio e per poter ottenere dati distribuiti in maniera omogenea tra le diverse stagioni dell'anno (che rappresenta una variabile d'interesse).

Numerosità campionaria

I Servizi Veterinari provvederanno a prelevare **1 campione** per ogni caseificio che presenta le caratteristiche descritte nel paragrafo precedente e che produce formaggi utilizzando latte ovino/caprino senza eseguire un trattamento di pastorizzazione.

Modalità di prelievo

Il prelievo dei campioni del presente piano è affidato ai Servizi Veterinari della Regione Lazio. I campioni sono prelevati per fini di monitoraggio ai sensi del Reg. CE 882/04 (vd. definizione) e andranno eseguiti in singola aliquota (non sono necessarie le aliquote per la garanzia alla difesa del produttore). L'aliquota deve essere composta da una singola unità campionaria ed il peso complessivo deve essere di almeno 250 grammi. Gli operatori dei Servizi Veterinari devono prelevare i campioni quando i prodotti sono ancora in caseificio e quindi sotto il controllo dell'operatore. Devono essere scelti formaggi appena prodotti ovvero appartenenti al lotto più vicino alla data di caseificazione. Durante il sopralluogo gli operatori scelgono il prodotto da campionare in modo casuale all'interno del lotto selezionato. Qualora siano prodotte diverse tipologie di formaggio, è possibile prelevare più campioni ma solo se di formaggi derivanti da processi di lavorazione differenti.

Al fine di fornire al laboratorio un campione rappresentativo della matrice da analizzare, gli operatori possono prelevare se lo ritengono opportuno, l'intera forma di formaggio. Qualora non venga adottata tale procedura (es. le forme sono di pezzatura molto grossa), l'operatore provvede ad asportare uno spicchio di formaggio comprensivo di tutti gli strati del prodotto stesso ovvero sia della pasta che della parte

esterna/crosta (anche se questa è considerata non edibile). Lo spicchio deve essere di spessore tale da garantire un'adeguata quantità di matrice da analizzare anche a "cuore" del prodotto.

Il campione è sottoposto ad analisi di tipo microbiologico quindi l'esecuzione del prelievo, deve avvenire con il rigoroso rispetto delle Buone Prassi di Campionamento (utilizzo di strumenti sterili, dispositivi di contenimento microbiologico, ecc..) in modo da evitare la contaminazione da parte di agenti esterni di origine ambientale o veicolati dall'operatore.

Ogni campione deve essere accompagnato dal verbale di prelievo specifico allegato al presente piano (**Verbale di Prelievo per Piano Monitoraggio STEC in Formaggi a latte crudo - Allegato A/I**) e deve essere compilato in ogni sua parte.

Riguardo la modulistica, gli operatori devono compilare inoltre:

- **Scheda Anagrafica Caseificio - Allegato A/II**: scheda anagrafica per la raccolta di informazioni del caseificio da compilarsi durante il primo sopralluogo presso il caseificio stesso. Qualora siano eseguiti ulteriori sopralluoghi nel medesimo caseificio per ottemperare al presente piano e si ha certezza che la scheda anagrafica sia stata precedentemente redatta, non c'è necessità di compilare nuovamente il modulo se non in caso di cambiamenti significativi nelle informazioni richieste.

- **Scheda Tecnica Tipologia Formaggio - Allegato A/III**: scheda descrittiva che riporta informazioni riguardo il formaggio campionato e il relativo processo di lavorazione applicato dal caseificio per quella tipologia di prodotto. Deve essere compilata una scheda per ogni tipologia di formaggio prodotta dal caseificio (tali tipologie devono essere le stesse che sono state elencate nella **Scheda Anagrafica Caseificio - Allegato A/II**). Qualora vengano eseguiti ulteriori sopralluoghi nel medesimo caseificio e venga campionato lo stesso tipo di formaggio e si ha certezza che la scheda descrittiva sia stata precedentemente redatta, non c'è necessità di compilare nuovamente il modulo a meno che il produttore non riferisca di cambiamenti significativi nel processo di produzione.

Copia degli Allegati C/II e C/III vanno consegnati ai reparti di accettazione dell'IZSLT al momento del conferimento del primo campione prelevato presso il caseificio e saranno successivamente inoltrati alla D.O. Controllo degli Alimenti della Sede Centrale dell'IZSLT di Roma.

Tabella 1: Schema riassuntivo delle modalità di campionamento

Fase del prelievo	Durante la permanenza del prodotto nel caseificio
Numero aliquote e U.C.	Campione in singola aliquota e singola unità campionaria
Matrice	Formaggio appena prodotto: - da latte crudo o termizzato - di latte ovino e/o caprino - senza cottura cagliata NOTA BENE : non prelevare ricotta o latticini diversi dal formaggio
Metodo di scelta della matrice	Selezionare il lotto più vicino alla data di caseificazione (e possibilmente non ancora posto in vendita) e scelta casuale del formaggio
Quantità minima da prelevare	250 g
Numero di campioni per sopralluogo	Massimo 1 per ogni tipologia di formaggio
Precauzioni durante il prelievo	E' possibile prelevare una intera forma di formaggio. In caso di porzionatura asportare uno spicchio rappresentativo di tutti gli strati del prodotto (dal cuore sino alla crosta)

Modulistica	<p>Per ogni campione -Verbale specifico di prelievo (Allegato A/I).</p> <p>Per ogni caseificio coinvolto nel piano -Scheda Anagrafica Caseificio - Allegato A/II</p> <p>Per ogni tipo di formaggio prelevato -Scheda Tecnica Formaggio – Allegato A/III</p>
-------------	--

Trasporto dei campioni

Le AA.SS.LL. trasportano i campioni del presente piano presso la Sezione IZSLT più vicina secondo le modalità descritte nelle procedure adottate per i campioni prelevati per il “Controllo ufficiale degli alimenti”. I campioni devono essere trasportati a temperatura di refrigerazione e non è permesso il congelamento del campione. I campioni devono pervenire all'IZSLT entro 24 ore dal prelievo ed essere consegnati presso la Sede Centrale di Roma o le Sedi Territoriali nei giorni che vanno **dal Lunedì al Mercoledì** (compreso).

Accettazione campioni

I reparti di accettazione dell'IZSLT provvedono alla registrazione e accettazione dei campioni specificando nel Sistema Informativo dei Laboratori la tipologia di richiesta “Piano di monitoraggio STEC in formaggi”. La modulistica allegata al campione (Allegati C/I, C/II e C/III) deve essere inoltrata alla D.O. Controllo degli Alimenti della Sede Centrale dell'IZSLT di Roma.

I reparti di accettazione dell'IZSLT (ed in seconda battuta il laboratorio di analisi) possono accettare con deroga o respingere il campione qualora rilevino che il prelievo o la compilazione della modulistica non sia stata eseguita in conformità alle disposizioni riportate dal presente piano.

Prove analitiche

L'esecuzione delle prove analitiche è affidata alla D.O. Controllo degli Alimenti della Sede Centrale dell'IZSLT di Roma. All'inizio del piano, la D.O. Controllo degli Alimenti designa e comunica un proprio referente interno del piano che avrà il compito di monitorare l'afflusso dei campioni, seguire l'andamento delle prove, rispondere alle problematiche dei Servizi Veterinari in tema di campionamento e comunicare con il Centro Studi riguardo l'andamento e le informazioni relative al piano.

Le analisi che andranno eseguite per ciascun campione sono:

- Attività dell'acqua (a_w)
- Analisi del pH;
- Ricerca *Escherichia coli* produttori di tossina Shiga (STEC) e identificazione dei sierogruppi O157, O111, O26, O103, O145 e O104:H4;
- *E. coli* β -glucuronidasi-positivi;
- *Enterobacteriaceae*.

Qualora l'analisi riveli che il campione analizzato non sia conforme (vd “Prodotti non conformi”), il laboratorio provvede a informare i **Servizi Veterinari dell'ASL interessata e la Regione**.

Campioni non conformi

Ai fini di tale piano, i criteri per la definizione di non conformità per la prova STEC possono essere assimilati a quelli definiti per gli “Alimenti ad Alto Profilo di Rischio” dalla Nota RL prot. 372412 del 2/07/2014 della Direzione Regionale Salute ed Integrazione Socio Sanitaria – Area Sanità Veterinaria (presente sul sito del SIEV). Quindi verranno considerati “non conformi” i campioni dai quali sono state **isolate colonie** di *E. coli* portatori dei fattori di patogenicità “*stx*” (*stx1*, *stx2* o entrambi), anche in assenza del gene *eae* (intimina), appartenenti o meno ai sierogruppi O157, O26, O103, O104, O111 e O145. La non conformità sarà indicata nel rapporto di prova mediante la dicitura “ESITO: PRESENZA” per la “PROVA: ESCHERICHIA COLI STEC-TECNICA: PCR REAL TIME”

Azioni da eseguire in caso di non conformità

Qualora l'analisi eseguita dal laboratorio evidenzi la non conformità del campione (vedi definizione capitoli precedenti), i Servizi Veterinari dovranno recarsi nuovamente presso il caseificio e:

1. verificare che il lotto risultato positivo sia ancora sotto il controllo del produttore;
2. verificare che il produttore abbia attuato provvedimenti utili ai fini della tutela della salute pubblica, (es. evitare la commercializzazione della merce presente, disporre l'adozione di azioni correttive sul prodotto da parte del produttore, ecc...);
3. indagare (in collaborazione con IZS), in base ai risultati analitici, riguardo le cause che hanno provocato la contaminazione del prodotto/materia prima, prescrivendo l'adozione di provvedimenti in allevamento anche sulla base della succitata nota regionale prot. 372412 del 2/07/2014 parte "*Provvedimenti da adottare negli allevamenti degli animali destinati alla produzione di alimenti a seguito di positività per STEC*";
4. raccogliere informazioni dettagliate sul processo di lavorazione del prodotto e studiare l'impatto delle singole fasi sull'eventuale presenza di STEC (in collaborazione con IZS);
5. verificare le procedure di autocontrollo del produttore;
6. intensificare la sorveglianza nei confronti del produttore riguardo tale rischio microbiologico, anche mediante il prelievo di campioni ufficiali;

Elaborazione dei dati e Reportistica

Il Centro Studi per la Sicurezza Alimentare (CSA) dell'IZSLT provvede al monitoraggio trimestrale del piano fornendo alla Regione e alle AA.SS.LL. informazioni riguardo lo stato di attuazione.

Alla conclusione di ogni anno del piano, il CSA esegue l'elaborazione dei dati pervenuti dai Servizi Veterinari e dal laboratorio dell'IZSLT al fine di redigere un report descrittivo :

- 1) dell'attività complessivamente svolta e
- 2) dei risultati ottenuti.

Riguardo i risultati, il documento deve riportare gli outputs minimi per il raggiungimento degli obiettivi del piano ovvero:

- prevalenza degli STEC negli alimenti oggetto del piano prodotti nella Regione Lazio
- informazioni riguardo la presenza dei sierogruppi di *E. coli* rilevati e quali di questi sono maggiormente associati alle produzioni lattiero-casearie nel Lazio
- relazione tra la presenza di geni di virulenza (*stx* e *eae*) nella fase di screening e successivo isolamento colturale di STEC
- prevalenza di *E. coli* ed altre *Enterobacteriaceae* nelle produzioni regionali e grado di contaminazione dei prodotti in base alla tipologia
- analisi dei fattori che possono incidere sul ritrovamento di STEC nel formaggio
- analisi dei fattori associati ai caseifici che possono essere utilizzati per una classificazione del rischio dei produttori
- eventuali proposte riguardo azioni di controllo specifiche sul territorio regionale.

Contatti e Riferimenti

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana

- Referenti Monitoraggio e Rimodulazione Piano: Centro Studi per la Sicurezza Alimentare Tel. 06/79099360-411
- Referenti Attività di Laboratorio: D. O. Controllo degli Alimenti Tel. 06/9099429

Documentazione e Bibliografia

Regione Lazio, Direzione Regionale Salute e Integrazione Sociosanitaria, Area Sanità Veterinaria. Prot.n GR/298106/11/10 del 25 Maggio2014. Oggetto: *Escherichia coli* STEC-elaborazione piano di monitoraggio e nota"Gestione esiti campionamento ufficiale" (Disponibile nel sito SIEV, alla voce Documenti\Comunicazioni Regione Lazio).

- EFSA, 2014. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic agents and Food-borne Outbreaks in 2012. *EFSA Journal* 2014;12(2):3547
- European Food Safety Authority. European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011. *EFSA Journal* 2013;11(4):3129 [250 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2013.3129; Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal
- Vernozy-Rozand C, Montet MP, Berardin M, Bavai C, Beutin L, 2005. Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains from raw milk cheeses in France. *Lett Appl Microbiol.* 41:235–241
- Zweifel C, Giezendanner N, Corti S, Krause G, Beutin L, Danuser J, Stephan R, 2010. Characteristics of Shiga Toxin–Producing *Escherichia coli* Isolated from Swiss Raw Milk Cheese within a 3-Year Monitoring Program. *J Food Protect.* 73:88-90
- Espie E., Vaillant V., Mariani-Kurkdjian P, et al. 2006. *Escherichia coli* O157 outbreak associated with fresh unpasteurized goats' cheese. *Epidemiol Infect* 2006;134:143–146
- Honish, L., Predy, G., Hislop, N., Chui, L., Kowalewska-Grochowska, K., Trottier, L., Kreplin, C., and Zazulak, I. 2005. An outbreak of *E. coli* O157:H7 hemorrhagic colitis associated with unpasteurized gouda cheese. *Can. J. Public Health.* 96: 182–184
- Snedeker, Shaw, Locking, Robin J Prescott, 2009 Primary and secondary cases in *Escherichia coli* O157 outbreaks: a statistical analysis, *BMC Infectious Diseases* 9:144

Allegati

Allegato A/I – Verbale campionamento

Allegato A/II – Scheda Anagrafica Caseificio

Allegato A/III – Scheda Tecnica Tipologia Formaggio

AZIENDA SANITARIA LOCALE

Dipartimento Di Prevenzione
Servizi Veterinari – Distretto di _____

Via _____, N. civ. _____ CAP _____ - TEL. _____ - FAX _____ - @ e-mail: _____

Registro Ufficio N.

Num. Reg. IZSLT

Verbale N del/...../20.....

Data / / 20.....

Temp. rilevata dall'IZS C°

VERBALE PRELEVAMENTO PER PIANO DI MONITORAGGIO PER LA RICERCA DI *ESCHERICHIA COLI* PRODUTTORI DI TOSSINA *SHIGA* (STEC) IN FORMAGGI A BASE DI LATTE CRUDO OVI-CAPRINO – Allegato A/I

RAGIONE SOCIALE:

.....

Sede:

Tel..... Fax:

Responsabile:

Cognome

Nome

nato a

il domiciliato in

Via

..... n

qualifica:

.....

Presente al prelevamento:

Cognome

Nome

nato a

il domiciliato in

Via

..... n

qualifica:.....

L'anno..... il giorno del mese di alle ore i.... sottoscritt....
..... (Ufficial.... di Polizia Giudiziaria) assistit..... da
..... si è/sono presentat... nel **caseificio** di cui si allega Scheda Anagrafica Caseificio – Allegato A/II del quale è già stata compilata la scheda anagrafica Scheda Anagrafica Caseificio - Allegato A/II

sito in Via o P.zza.....

n., ove dopo essersi qualificat..... ed aver reso noti i motivi della visita, ha..... provveduto,
alla presenza del Sig.a lato generalizzato, all'ispezionedei locali dell'esercizio stesso, al controllo dei generi ivi tenuti e al prelevamento di **campioni di**
(riportare denominazione di vendita usata dal produttore e riportata nell'Allegato A/II – Scheda Anagrafica
Caseificio):.....

Trattasi di Formaggio a latte crudo/termizzato:

 Ovino Caprino Ovi-caprino (entrambe le specie)Il latte utilizzato per la produzione del formaggio
deriva da numero mungiture

Il latte è stato caseificato il giorno: __ / __ / __

Il formaggio era posto in vendita non posto in vendita (es. locale di stagionatura)

Temperatura del formaggio al momento del prelievo:

Il prodotto era depositato presso il produttore e al momento del prelievo e sulla confezione stessa o su etichetta o su un cartello, vi era la
seguinte dicitura:

In presenza del Sig., da una partita/ quantitativo di..... lotto.....

è stato prelevato numero 1 campione composto da una singola aliquota (in singola u.c.) che viene inoltrata all'IZSLT Sede di
....., **per eseguire le seguenti PROVE presso la Sede di Roma:**- Attività dell'acqua (A_w)

- Analisi del pH

- *Escherichia coli* produttori di tossina *Shiga* (STEC)- *Enterobacteriaceae*- *Escherichia coli* β -glucuronidasi

Il campione viene trasportato al laboratorio mediante a temperatura

Il peso/quantità dell'aliquota è di circa g e viene determinato a mezzo La merce è stata campionata in
asepsi, con attrezzature sterili e l'aliquota è stata racchiusa in un sacchetto sterile: suggellati mediante sigilli antimanomissione recanti sigla di ufficio e muniti di cartellini identificativi introdotti in buste di materiale plastico autosigillanti e antimanomissione numerata A:

riportante il numero del presente verbale, le firme, la natura del campione, la data di prelievo e l'identificativo dell'aliquota.

La rimanente merce non viene sequestrata poiché il campione è a scopo di monitoraggio tuttavia rimane in custodia del produttore sino
all'esito delle analisi. Del presente verbale sono state redatte **2 copie** che vengono consegnate, previa lettura, al Sig.
..... che dichiara inoltre

..... e al Laboratorio.

FIRMA/TIMBRO DI CHI HA ASSISTITO AL PRELIEVO

I VERBALIZZANTI

.....

.....

	AZIENDA SANITARIA LOCALE <hr/> Dipartimento Di Prevenzione Servizi Veterinari – Distretto _____
--	---

Piano di monitoraggio per la ricerca di *Escherichia coli* produttori di tossina *Shiga* (STEC) in formaggi a base di latte crudo ovi-caprino – Allegato A/II
SCHEDA ANAGRAFICA CASEIFICIO

Compilata da Sig./Dott.

INFORMAZIONI ANAGRAFICHE	
Ragione sociale caseificio:	
Registrato ai sensi del Reg. 852/04 Specie latte lavorato in caseificio: <input type="checkbox"/> Ovina <input type="checkbox"/> Caprina <input type="checkbox"/> Bovina <input type="checkbox"/> Bufalina	
Indirizzo: Via/Piazza	
Città:	Provincia:
Località:	
Stima quantità di latte lavorato: - Ovino: Valore Medio _____; Valore Min: _____ litri; Valore Max: _____ litri; - Caprino: Valore Medio _____; Valore Min: _____ litri; Valore Max: _____ litri;	
Anni di attività del caseificio:	Numero di addetti:
Ambito di commercializzazione dei prodotti	<input type="checkbox"/> Diretta/al dettaglio (es. spaccio di vendita annesso) <input type="checkbox"/> Locale (cessione di piccoli quantitativi ad altri esercizi) <input type="checkbox"/> Provinciale

INFORMAZIONI SULLE PRODUZIONI												
Periodo dell'anno in cui il caseificio lavora il latte ovino	<input type="checkbox"/> Lavora durante tutto l'anno <input type="checkbox"/> Lavora solo alcuni periodi dell'anno (specificare):											
	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; border: none;"><input type="checkbox"/> Gennaio</td> <td style="width: 50%; border: none;"><input type="checkbox"/> Luglio</td> </tr> <tr> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Febbraio</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Agosto</td> </tr> <tr> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Marzo</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Settembre</td> </tr> <tr> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Aprile</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Ottobre</td> </tr> <tr> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Maggio</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Novembre</td> </tr> <tr> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Giugno</td> <td style="border: none;"><input type="checkbox"/> Dicembre</td> </tr> </table>	<input type="checkbox"/> Gennaio	<input type="checkbox"/> Luglio	<input type="checkbox"/> Febbraio	<input type="checkbox"/> Agosto	<input type="checkbox"/> Marzo	<input type="checkbox"/> Settembre	<input type="checkbox"/> Aprile	<input type="checkbox"/> Ottobre	<input type="checkbox"/> Maggio	<input type="checkbox"/> Novembre	<input type="checkbox"/> Giugno
<input type="checkbox"/> Gennaio	<input type="checkbox"/> Luglio											
<input type="checkbox"/> Febbraio	<input type="checkbox"/> Agosto											
<input type="checkbox"/> Marzo	<input type="checkbox"/> Settembre											
<input type="checkbox"/> Aprile	<input type="checkbox"/> Ottobre											
<input type="checkbox"/> Maggio	<input type="checkbox"/> Novembre											
<input type="checkbox"/> Giugno	<input type="checkbox"/> Dicembre											
Periodicità con cui viene lavorato il latte (su base settimanale)	<input type="checkbox"/> Tutti i giorni <input type="checkbox"/> Ogni 2 giorni <input type="checkbox"/> Ogni 3 giorni <input type="checkbox"/> Non tutti i giorni e con cadenza non definita											
Elencare il nome dei formaggi ovi-caprini prodotti dal caseificio*: 1. Formaggio: _____												

<div style="border: 1px solid black; width: 100%; height: 100%;"></div>	AZIENDA SANITARIA LOCALE <hr style="width: 50%; margin: auto;"/> Dipartimento Di Prevenzione Servizi Veterinari – Distretto _____
---	---

Piano di monitoraggio per la ricerca di *Escherichia coli* produttori di tossina *Shiga* (STEC) in formaggi a base di latte crudo ovi-caprino – Allegato A/II

SCHEDA ANAGRAFICA CASEIFICIO

2. Formaggio: _____
3. Formaggio: _____
4. Formaggio: _____
5. Formaggio: _____
6. Formaggio: _____
7. Formaggio: _____
8. Formaggio: _____
9. Formaggio: _____
10. Formaggio: _____

* Per ogni tipologia di formaggio che è stata sottoposta al campionamento deve essere compilata la relativa scheda tecnica (Allegato A/III del piano)

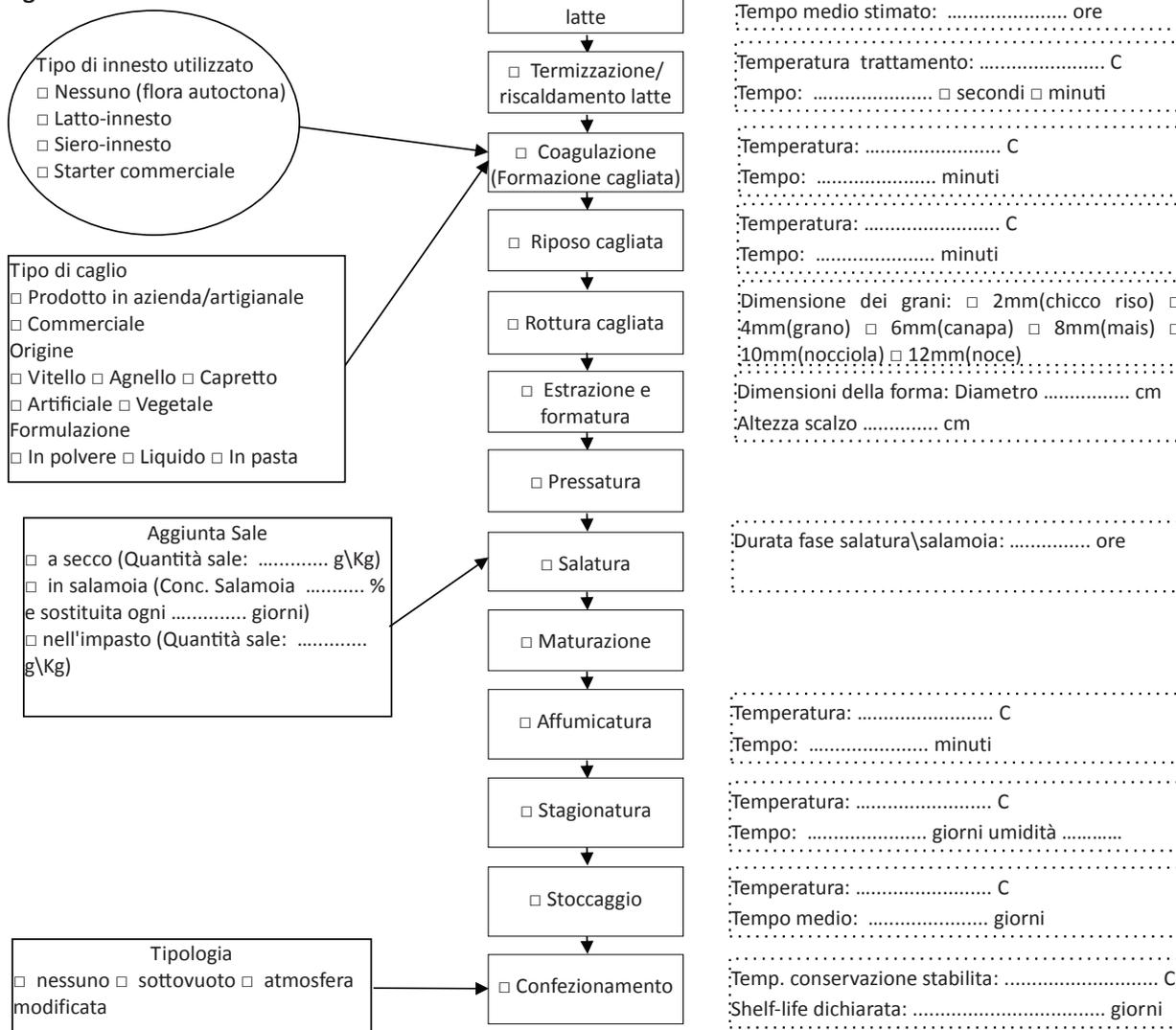
INFORMAZIONI ALLEVAMENTO ANNESSO AL CASEIFICIO	
Specie allevata: <input type="checkbox"/> Ovini <input type="checkbox"/> Caprini	Numero complessivo capi allevati: _____ Numero capi in lattazione: _____ Numero complessivo capi allevati: _____ Numero capi in lattazione: _____
Razza Ovini: _____ Razza Caprini: _____	
Gli animali vanno al pascolo?	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si: Numero mesi _____
Tipo di mungitura:	<input type="checkbox"/> manuale <input type="checkbox"/> meccanica (mungitrice a carrello/mobile) <input type="checkbox"/> meccanica (sala mungitura)
Numero di mungiture giornaliere	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2
Uso di pre-dipping e/o post-dipping	<input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Si
Modalità conservazione latte munto	<input type="checkbox"/> Bidone coibentato <input type="checkbox"/> Cisterna latte
Modalità trasporto latte al caseificio	<input type="checkbox"/> Nessuno (es. allevamento annesso caseificio) <input type="checkbox"/> Bidone coibentato <input type="checkbox"/> Automezzo refrigerato
Annotazioni	

	AZIENDA SANITARIA LOCALE <hr/> Dipartimento Di Prevenzione Servizi Veterinari – Distretto di _____
--	--

PIANO DI MONITORAGGIO PER LA RICERCA DI *ESCHERICHIA COLI* PRODUTTORI DI TOSSINA *SHIGA* (STEC) IN FORMAGGI A BASE DI LATTE CRUDO *OVI-CAPRINO*
SCHEDA TECNICA PER TIPOLOGIA FORMAGGIO – Allegato A/III

Ragione sociale del caseificio:	
Denominazione formaggio (come riportata su scheda caseificio – Allegato A/II):	
Il prodotto è: <input type="checkbox"/> Prodotto Agroalimentare Tradizionale (PAT) <input type="checkbox"/> Denominazione di Origine protetta (DOP) <input type="checkbox"/> Nessuno	
Specie di origine del latte: <input type="checkbox"/> Ovina <input type="checkbox"/> Caprina <input type="checkbox"/> Ovicaprina (specificare % di latte): % latte ovino, % latte caprino.....	Periodo produzione (es. Marzo-Ottobre):
Consistenza pasta prodotto finito: <input type="checkbox"/> molle <input type="checkbox"/> semi-dura <input type="checkbox"/> dura	Peso della forma gr.
DURATA DELLA STAGIONATURA DEL PRODOTTO FINITO: GIORNI Periodo minimo Periodo massimo	Ingredienti (specificare anche eventuali additivi):

Diagramma di flusso*



*Segnare la casella di ogni fase prevista dal processo di produzione e riportare le specifiche di processo riportate accanto