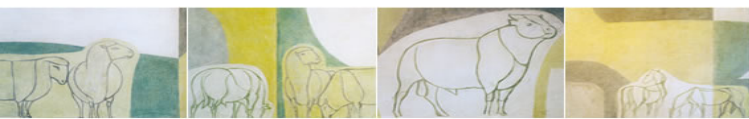


# Gestione dei campioni: analisi dei aspetti critici

Giornate di aggiornamento di Microbiologia degli Alimenti  
III modulo 11-12 settembre 2017

T. Bogdanova

11 settembre 2017

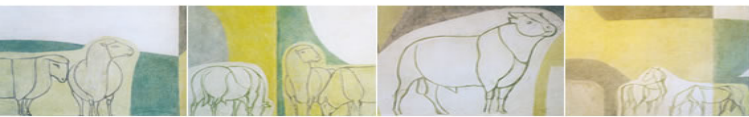


**Campione** alimentare: frazione di un lotto o di una quantità significativa del materiale prelevata secondo le modalità stabilite e trasportata al laboratorio di prova

- ❖ alimenti per l'uomo
- ❖ mangimi

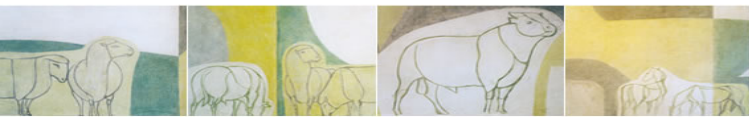
Altre tipologie:

- ❖ campioni ambientali
- ❖ ceppi batterici
- ❖ cadaveri di pesci
- ❖ carcasse
- ❖ campioni prelevati al macello
- ❖ organi animali
- ❖ residui pasti



## In base al tipo di campionamento:

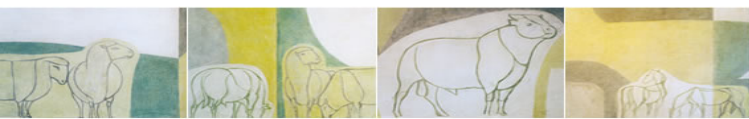
- campioni ufficiali
- nell'interesse del privato
- a scopo di ricerca
- piani di campionamento specifici
- batteriologici d'urgenza
- MTA
- reclamo del privato cittadino



**Campioni ufficiali:** eseguiti dall'autorità competente nell'espletamento delle normali funzioni ispettive di controllo e di vigilanza, con l'obiettivo di verificare la conformità dell'alimento alla normativa vigente in materia di alimenti e di mangimi

## **Prelevatori:**

- Aziende Sanitarie Locali **ASL**
- Uffici periferici e territoriali del Ministero della Salute
  - Uffici Veterinari per gli Adempimenti degli obblighi Comunitari **UVAC**
  - Posti di ispezione frontaliere **PIF**
  - Uffici di sanità marittima, aerea e di frontiera **USMAF**



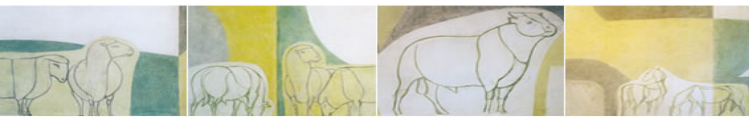
L . 283/62 D.P.R. 327/1980  
D.lgs 123/1993 D.M. 16.12.1993

4/5 aliquote di cui:

- 1) consegnata al detentore;
- 2) utilizzata per l'analisi di prima istanza;
- 3) utilizzata per l'analisi di revisione/ripetizione;
- 4) conservata per 60 gg a disposizione dell'impresa produttrice, in caso di prodotti confezionati
- 5) conservata per un'eventuale perizia ordinata dall'Autorità giudiziaria

*Le analisi di revisione sono eseguite presso l'ISS, limitatamente ai parametri risultati non conformi*

*In caso di alimenti deteriorabili la ripetizione di analisi è eseguita d'ufficio presso il Laboratorio che ha condotto le analisi di prima istanza, limitatamente ai parametri risultati non conformi*

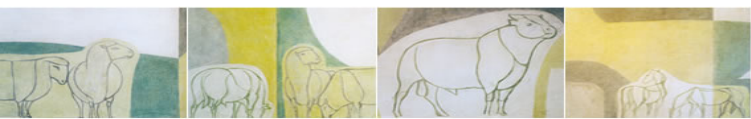


## Campione reperto

- la quantità non sufficiente a predisporre un numero di aliquote necessario
- alimenti con vita commerciale breve

si dovrà procedere con le modalità di prelievo previste per il campionamento in aliquota unica (reperto) con analisi unica irripetibile, facendone specifica menzione sul verbale e dando avviso al detentore e/o al produttore, dell'ora, giorno e del luogo dell'esecuzione dell'analisi, al fine di garantire il diritto alla difesa dell'interessato

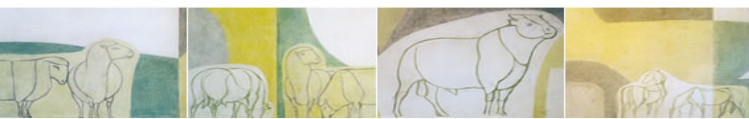
*Art. 223 del D.lgs 271/1989 - Norme di attuazione, di coordinamento e transitorie del codice di procedura penale*





Interessato/perito di parte è autorizzato a:

- presenziare l'apertura del campione
- assistere a tutte le fasi di processo analitico fino all'emissione del rapporto di prova
- richiedere informazioni inerenti al campione e alle metodiche analitiche applicate (temperatura di arrivo e di conservazione del campione, riferimenti normativi, l'incertezza di misura per le prove quantitative, rispetto dei tempi previsti dalla norma)



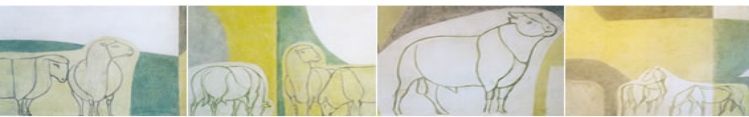
## **Focolaio/caso di MTA**

**Prelevatori:** Servizio Igiene Alimenti e Nutrizione SIAN  
e/o Servizio Veterinario

**Luogo del prelievo:** l'esercizio di  
preparazione/vendita/consumo dove si è manifestato  
l'evento morboso

**Campioni:** eventuali residui del pasto sospetto o pasti  
analoghi o materie prime ed eseguono un controllo  
generale del locale

*Se necessario possono essere eseguite le prove non  
accreditate*





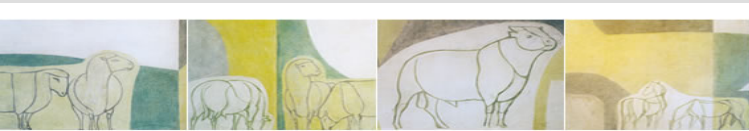
## Reclamo del privato cittadino

Campione è consegnato da privato cittadino alle Autorità sanitarie e/o giudiziarie:

- ASL
- N.A.S. Nuclei Antisofisticazione e Sanità dei Carabinieri
- Stazione dei Carabinieri

### Motivo di reclamo:

➤ corpi estranei, parassiti, alterazione dei caratteri organolettici (colore, odore, consistenza)

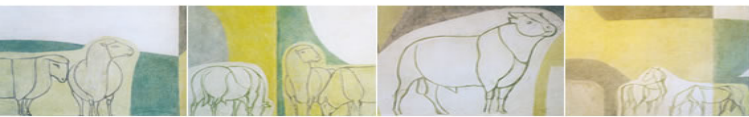


# Batteriologico d'urgenza

BUR - Regione Lazio - n. 71 del 04.09.2014

Determinazione 27.08. 2014, n. G12150 Macellazione d'urgenza -  
Aggiornamento Procedure Operative

- ai sensi del Regolamento CE 853/2004, Allegato III, sezione I, capitolo VI, per macellazione d'urgenza si intende quella che avviene **al di fuori del macello**, su ungulati domestici sani, che abbiano subito un **evento traumatico** (incidente) tale da non poter essere trasportati al macello, onde evitare di arrecar loro inutili sofferenze
- l'esame batteriologico, da effettuarsi sul muscolo della spalla, si rende necessario a fronte delle condizioni spesso di fortuna nelle quali viene condotta la macellazione d'urgenza al di fuori del macello, che potrebbero comportare una contaminazione delle carni



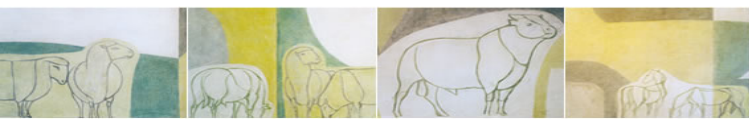
Determinazione n. G12150 del 27 agosto 2014 "Macellazione d'urgenza  
– Aggiornamento Procedure Operative." PRECISAZIONE  
CAMPIONAMENTO

**Campione di muscolo** aliquota unica (cubo di spessore di 10/15 cm)

- prove di default: *Salmonella* spp, *Enterobacteriaceae* *Clostridium perfringens*;
- eventuali altre prove supplementari: STEC, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp, *Yersinia enterocolitica*, Stafilococchi coagulasi positivi

**Campione di fegato**

- *Salmonella* spp.



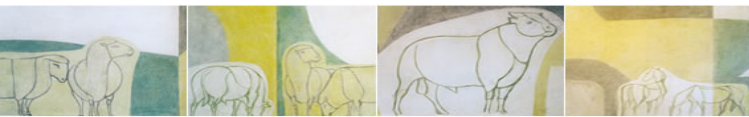
# Campioni UVAC

art. 11, paragrafo 5 e 6 del Regolamento (CE) n. 882/2004

## 4 aliquote di cui 3 inviate al Laboratorio

- 1) consegnata al detentore per conto del produttore/speditore del Paese della UE per un eventuale ulteriore parere di esperti
- 2) utilizzata per l'analisi di prima istanza;
- 3) utilizzata per l'eventuale revisione/ripetizione di analisi da effettuarsi, su richiesta del soggetto produttore/speditore del Paese dell'UE da cui proviene la merce o di un suo legale rappresentante in Italia
- 4) conservata per l'eventuale contenzioso internazionale;

! La merce è sotto vincolo sanitario?

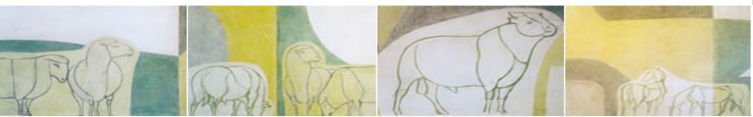


## Campioni PIF USMAF

Nota Ministeriale 10.05.2011 avente per oggetto “Aspetti applicativi del Regolamento (CE) n. 882/2004 – Diritto di controanalisi su alimenti di origine animale e non animale, materiali destinati a venire in contatto con gli alimenti e mangimi sottoposti a controllo ufficiale”

**3 aliquote** di cui 2 inviate al Laboratorio

- 1) utilizzata per l'analisi di prima istanza;
- 2) utilizzata per l'eventuale revisione/ripetizione di analisi da effettuarsi su richiesta del produttore/speditore del Paese esportatore, o di un suo legale rappresentante in Italia;
- 3) consegnata all'operatore interessato al carico o a un suo rappresentante per un eventuale ulteriore parere di esperti



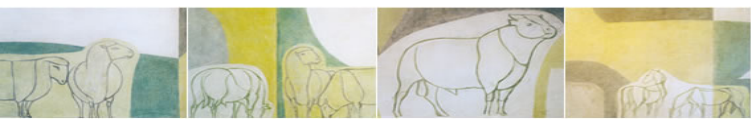
## Piano triennale PNAA

Piano di Controllo della contaminazione microbica  
da *Salmonella* spp

Mangimi per:

- animali da reddito
- animali da compagnia

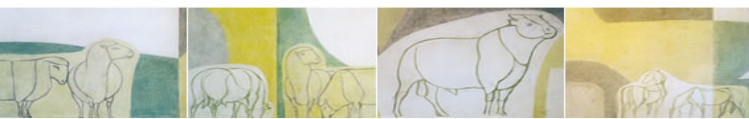
La **ripetizione** del parametro non conforme nell'ambito di applicazione del presente piano per quanto riguarda il riscontro della presenza di *Salmonella* spp, è di **competenza dell'IZS** che ha effettuato l'analisi di prima istanza, da eseguirsi d'ufficio



## Piano triennale PNAA

Controllo ufficiale sull'applicazione delle restrizioni relative al divieto di utilizzo delle Proteine Animali Trasformate (**PAT**) nell'alimentazione degli animali

A partire dal 1 giugno 2013 è consentita la somministrazione agli **animali d'acquacoltura** di **proteine animali** trasformate, diverse dalle farine di pesce, ricavate da **non ruminanti** e di mangimi composti contenenti tali proteine (Regolamento (UE) 56/2013 che modifica gli allegati I e IV del regolamento (CE) n. 999/2001)



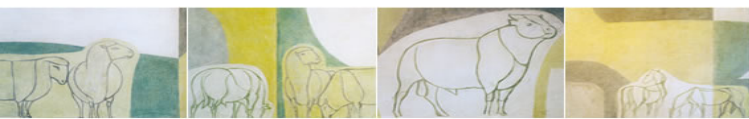


	Ruminanti	Ruminanti non svezzati	Non ruminanti	Acquacoltura	Animali da pelliccia
Proteine animali trasformate (PAT)	NA	NA	NA	NA	A
PAT da non ruminanti	NA	NA	NA	A	A
Farina di sangue da non ruminanti	NA	NA	NA	A	A
Farina di pesce	NA	A	A	A	A
Collagene e Gelatina da ruminanti	NA	NA	NA	NA	A
Collagene e Gelatine derivate da non ruminanti	A	A	A	A	A
Prodotti sanguigni	NA	NA	NA	NA	A
Prodotti sanguigni da non ruminanti	NA	NA	A	A	A
Proteine idrolizzate da ruminanti	NA	NA	NA	NA	A
Proteine idrolizzate derivate da non ruminanti	A	A	A	A	A
Proteine idrolizzate da cuoio e pelli di ruminanti	A	A	A	A	A
Fosfato d'alcico e tricalcico	NA	NA	NA	NA	A
Latte, prodotti a base di latte	A	A	A	A	A
Colostro e derivati	A	A	A	A	A
Uova e prodotti a base di uova	A	A	A	A	A

Reg. 999/2001 e successive modificazioni

NA = non autorizzato

A = autorizzato



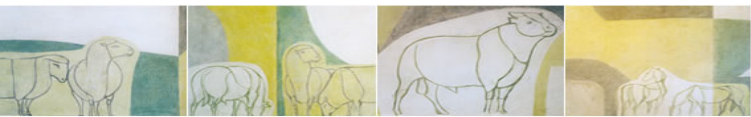


## Nota Ministero della Salute DGSAF 0010848-P-02/05/2016

Per i mangimi composti e materie prime destinate ai pesci deve essere posta particolare attenzione nel controllo dell'etichettatura:

- riportata la presenza di PAT animali terrestri: si esegue solo PCR DNA ruminante
- non riportata la presenza di PAT animali terrestri: esame microscopica, se positivo PCR DNA ruminante
- riportata la presenza di prodotti sanguigni: esame microscopico, se positivo PCR DNA ruminante in 9 campioni su 10; il decimo campione analizzato direttamente in PCR

*I prodotti sanguigni es. emoglobina non sono PAT, come dal Regolamento (UE) 142/2011*

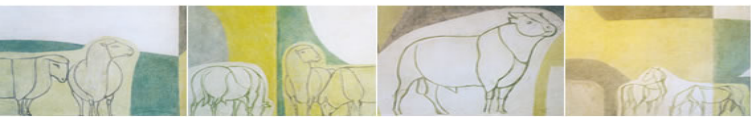


**Determinazione Regione Lazio n. G18976 del 24.12.14**  
**«Attuazione regionale del piano nazionale di controllo ufficiale**  
**sull'alimentazione degli animali 2015-2017» PRAA Prelievo di ulteriore**  
**campione finale**

... se laboratorio non dispone del metodo di  
accreditamento accreditato, **l'autorità competente dovrà**  
**procedere al prelievo di un ulteriore campione finale,**  
al fine di avere un ulteriore CF disponibile per l'inoltro dal  
suddetto laboratorio ad un altro IZS.

La ricerca del DNA ruminante viene eseguita al Centro di  
Referenza Nazionale per la Sorveglianza e il Controllo degli  
Alimenti per gli Animali (C.Re.A.A.) IZS TO

L'analisi di revisione è effettuata presso l'Istituto Superiore di  
Sanità



## Prospettive per il futuro

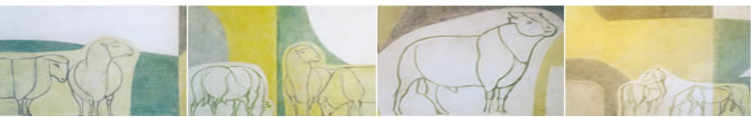
Regolamento (UE) 2017/893 DELLA COMMISSIONE  
del 24 maggio 2017 che modifica gli allegati I e IV del regolamento (CE) n.  
999/2001 e gli allegati X, XIV e XV del regolamento (UE) n. 142/2011 e per  
quanto riguarda le disposizioni in materia di proteine animali

Si applica a decorrere dal 10 luglio 2017

### SEZIONE F

Condizioni specifiche applicabili alla produzione e all'uso delle  
proteine animali trasformate derivate da **insetti d'allevamento** e  
dei mangimi composti contenenti tali proteine da utilizzare  
nell'alimentazione degli **animali d'acquacoltura**

b) i mangimi composti contenenti proteine animali trasformate derivate  
da insetti d'allevamento sono **prodotti in stabilimenti autorizzati** a tal  
fine dall'autorità competente e adibiti esclusivamente alla produzione di  
mangimi per animali d'acquacoltura

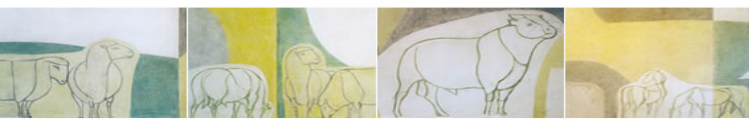


## Ministero della Salute DGSAF 0011399-P- 05/05/2017

E' stata definita, con il supporto de4ll'EFSA, la Lista positiva di specie di insetti che saranno ammesse per la produzione di PAT:

- *Hermetia illucens*
- *Musca domestica*
- *Tenebrio molitor*
- *Alphitobius diaperinus*
- *Acheta domestica*
- *Gryllodes sigillatus*
- *Gryllus assimilis*

Tuttavia, tale regolamento di modifica non è ancora stato pubblicato nella Gazzetta ufficiale dell'Unione Europea quindi le disposizioni ivi contenute non sono attualmente applicabili

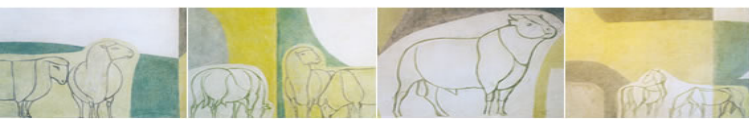


## Piano di monitoraggio per la ricerca di *E. coli* produttori di tossina Shiga (STEC) in formaggi a base di latte crudo ovi-caprino. 2016-2018

I campioni sono prelevati per fini di monitoraggio ai sensi del Reg. CE 882/04 e andranno eseguiti in **singola aliquota** (non sono necessarie le aliquote per la garanzia alla difesa del produttore)

*Limite di sicurezza per i STEC Germogli Reg. UE 209/2013*

1.29 Germogli	<i>E. coli</i> produttori di tossina Shiga (STEC) O157, O26, O111, O103, O145 e O104:H4	5	0	Assente in 25 grammi	CEN/ISO TS 13136	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità
---------------	---	---	---	----------------------	------------------	--



# *Listeria monocytogenes*

**Linee guida Reg. CE 2073/2005 s.m.i. sui criteri microbiologici applicabili agli alimenti, del 03.03.2016**

Nel caso di campionamento ufficiale per la verifica del criterio di sicurezza alimentare *Listeria monocytogenes*, qualora nel verbale di prelievo non sia specificato se è richiesta l'analisi quantitativa o quella qualitativa, i laboratori effettueranno la determinazione di **aw** e **pH** e sulla base dei risultati ottenuti procederanno nel modo seguente :



➤ **non costituisce** terreno favorevole: analisi quantitativa  $< 100$  ufc/g

*Appartengono a questa categoria :*

- prodotti con  $pH \leq 4,4$  o  $aw \leq 0,92$
- prodotti con  $pH \leq 5,0$  e  $aw \leq 0,94$
- prodotti con conservabilità  $< 5$  gg,  
*se i valori di pH e aw sono superiori a quelli indicati*

➤ **costituisce** terreno favorevole: analisi qualitativa presenza/assenza in 25 g + analisi quantitativa  $< 100$  ufc/g

... a meno che l'OSA possa dimostrare, con soddisfazione dell'Autorità competente, che il prodotto non supererà le 100 ufc/g durante tutto il periodo di conservabilità

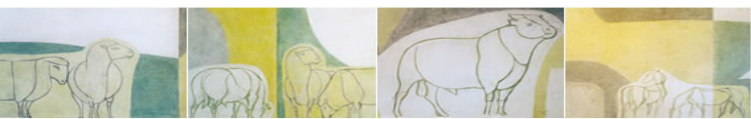


**Nota Regione Lazio del 9 agosto 2017**

**Oggetto: CE 2073/2005 - *Listeria monocytogenes* -**

**Risposta a quesito su autorità competente**

L'autorità competente alla quale l'OSA deve dimostrare con opportuna documentazione, che la *Listeria monocytogenes* nel prodotto alimentare oggetto di valutazione non supererà il limite di 100 ufc/g per tutta la durata della sua shelf-life, è il Servizio Veterinario o il SIAN della ASL competente per lo **stabilimento di produzione** dell'alimento



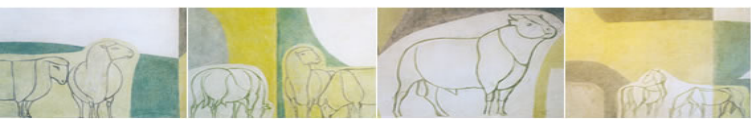


# Linee guida Reg. CE 2073/2005 s.m.i. sui criteri microbiologici applicabili agli alimenti, del 03.03.2016

## Normativa nazionale

“ In caso di prodotti nazionali, oltre a quanto previsto dalla pertinente normativa comunitaria, si rimanda alla normativa ancora in vigore”

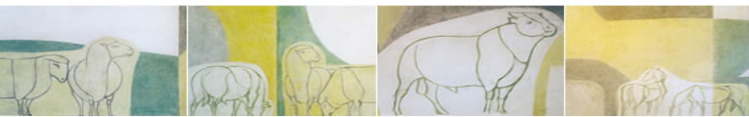
Categoria alimentare	Parametri e criteri da normativa nazionale	Parametri e criteri da normativa comunitaria	Note
Alimenti da consumarsi previa cottura	<i>L. monocytogenes</i> (O.M. 11/10/1878 s.m.i.)	/	Il Reg. 2073/2005 prevede la ricerca di <i>L. mono</i> solo in alimenti pronti



**O. M. 7 dicembre 1993** Limiti di *L. monocytogenes* in alcuni prodotti alimentari. (GU n.291 del 13-12-1993)

Prodotti alimentari	Determinazioni analitiche	u.c.	Limiti di tolleranza
Alimenti crudi non sottoposti a trattamento di riscaldamento	<i>Listeria monocytogenes</i>	3	non oltre 11/g in 1 u.c. non oltre 110/g in 2 u.c.
Alimenti congelati o surgelati	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	non oltre 11/g in 2 u.c. non oltre 110/g in 3 u.c.
Alimenti precotti o pastorizzati	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	non oltre 11/g in 4 u.c. non oltre 110/g in 1 u.c.

Conferma con il test biologico su topino ???



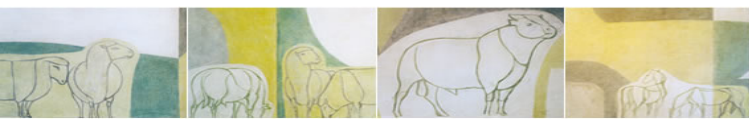
## Nuovi limiti di *E. coli* in molluschi

Nota Regione Lazio RU 0005643 15.01.2017

Applicazione del Regolamento 2285/2015 – criteri microbiologici di sicurezza alimentare

Campionamento di Molluschi bivalvi vivi ed echinodermi, tunicati e gasteropodi marini in fase di produzione post primaria/esercizi commerciali

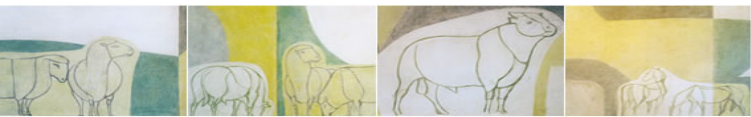
- parametri: Salmonella spp, E. coli
- numero di u.c.: 5
- numero di aliquote: 1
- peso dell'aliquota: 2,5 kg (0,5 kg per u.c.)
- verbale: Verbale regionale per il prelevamento di campioni ufficiali
- diritti alla difesa: SI



**A partire dal 01.01.2017**

<b>1.25 Molluschi bivalvi vivi ed echinoder mi, tunicati e gasteropo di marini</b>	<b>E.Coli</b>	<b>n= 5</b>	<b>c=1</b>	<b>m=230M PN/100g di carne e liquido intervalv ale</b>	<b>M=700M PN/100g di carne e liquido intervalv ale</b>	<b>Prodotti immersi sul mercato durante il loro periodo di conserv abilità</b>
--	---------------	-------------	------------	--	--	--

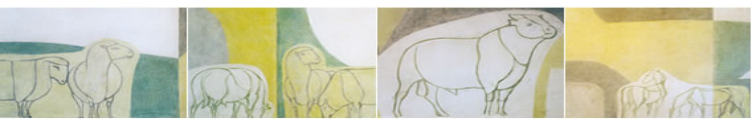
- **soddisfacente** se:  $5 \text{ u.c.} \leq 230 \text{ MPN/100g}$   
o  
 $1 \text{ u.c.} > 230 \text{ MPN/100g}$ , ma  $\leq 700 \text{ MPN/100g}$
- **insoddisfacente** se:  $1 \text{ u.c.} > 700 \text{ MPN/100g}$   
o  
almeno  $2 \text{ u.c.} > 230 \text{ MPN/100g}$



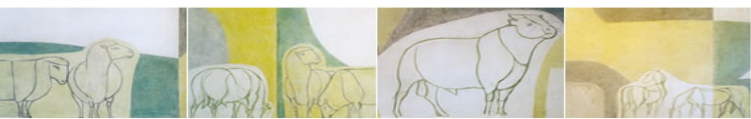
Regolamento (UE) 2017/1495 della Commissione del 23 agosto 2017 che modifica il regolamento (CE) n. 2073/2005 per quanto riguarda il *Campylobacter* nelle carcasse di polli da carne

In vigore dal 01.01.2018

<b>2.1.9</b> <b>Carcasse</b> <b>di polli</b> <b>da carne</b>	<b>Campylob</b> <b>acter spp.</b>	<b>n=</b> <b>50</b>	<b>c=</b> <b>20</b>	<b>m=M=</b> <b>1000</b> <b>ufc/g</b>	<b>EN ISO</b> <b>10272-</b> <b>2</b>	<b>Carcasse</b> <b>dopo il</b> <b>raffredda</b> <b>mento</b>	<b>Miglioramento</b> <b>delle condizioni</b> <b>igieniche della</b> <b>macellazione</b>
---	--------------------------------------	------------------------	------------------------	--	--	---	--



# Altre criticità??



Grazie per la vostra attenzione!

