

CRITERI MICROBIOLOGICI APPLICATI ALLA RISTORAZIONE: ESPERIENZE DI AUDIT E CAMPIONAMENTO IN MENSE E BAR PIEMONTESI

Microbiological criteria in public catering: sampling and auditing experiences in canteens and cafeterias in Piedmont

Bellio Alberto^{1*}, Gallina Silvia^{1,2}, Traversa Amaranta¹, Monfardini Sara¹, Bianchi Daniela Manila^{1,2}, Adriano Daniela¹, Decastelli Lucia^{1,2}

*Corresponding author. Tel: (+39) 11 2686233; Fax: (+39) 11 2473450. E-mail: alberto.bellio@izsto.it

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino, Italia.

²National Reference Laboratory for coagulase positive staphylococci including *S. aureus*, Torino, Italia.

ABSTRACT

In the period 2006-2011 six public catering establishments (3 canteens and 3 cafeterias) were monitored, through audit and sampling, in order to verify the application of good manufacturing and hygiene practices during food production, handling and serving. The compliance to microbiological food safety criteria (*Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp.) and process hygiene criteria were investigated using ISO standards for microbiological analyses. A total of 612 samples were collected: 192 food samples and 288 environmental swab samples from canteens; 33 food samples and 99 swab samples from cafeterias. Regarding food safety, two samples were in disagreement with criteria fixed in EU Regulation as *Listeria monocytogenes* was isolated from a turkey breast in a canteen and from a sandwich in a cafeteria. Regarding process hygiene criteria, as no microbiological limits are legally defined for catering services, for this study limits were fixed according to the quality standards of tender, scientific literature and laboratory experience. 23.4% foodstuffs and 8.7% swabs resulted non-compliant in canteens; 48.5% foodstuffs and 6.1% swabs resulted non-compliant in cafeterias. The count of coagulase-positive staphylococci (CPS) was higher of the fixed limits in raw turkey meat and in cooked spinach: the presence among CPS of *S. aureus* was confirmed, strains were not able to produce enterotoxins. The most common non-compliance in hygiene criteria was represented by aerobic colony count (60.7% of total non-compliance in canteens and 75.0% in cafeterias) and coliform bacteria (20.3% in canteens and 25.0% in cafeterias). Nine raw foods or raw ready-to-eat food samples were non-compliant for both coliform bacteria and aerobic count; one sample (raw turkey meat) was non-compliant for CPS and aerobic count but resulted to be compliant after cooking. Auditing and sampling are the most effective tools to improve food quality standard and to enhance food business operators' awareness of hygiene procedures.

Keywords: Food hygiene, Food safety, Public catering.

INTRODUZIONE

La sicurezza alimentare viene considerata un requisito nella somministrazione di alimenti, in quanto la tutela della salute del consumatore riveste un ruolo fondamentale. Particolare attenzione viene rivolta ai soggetti più sensibili rappresentati da bambini, anziani, donne in gravidanza e persone immunocompromesse.

A partire dal 2000, il tema della sicurezza alimentare, inasprito da nuove e complesse emergenze sanitarie, ha sensibilizzato l'Unione Europea (UE) nell'emanazione di nuove normative tra cui il Reg. CE 178/2002, i nuovi Regolamenti CE definiti

“Pacchetto Igiene 2004” ed in particolare il Reg. CE 2073/2005 e s.m.i. In tale contesto, gli Operatori del Settore Alimentare (OSA) vengono chiamati ad avere maggiore responsabilità dovendo acquisire nuove sensibilità, conoscenze e competenze, secondo il proprio ruolo nella filiera. Gli OSA sono tenuti a garantire che tutte le fasi di produzione, trasformazione e distribuzione degli alimenti, soddisfino i requisiti di igiene fissati nei sopraccitati regolamenti. Tali requisiti vengono assicurati dall'OSA mediante un'accurata analisi del rischio e dall'applicazione delle buone pratiche di lavorazione (GMP) e delle buone pratiche igieni-

che (GHP). L'applicazione e l'efficacia di tali procedure è valutata sia in fase di autocontrollo sia da parte dell'Autorità Competente. L'applicazione delle procedure di GMP e GHP è spesso inclusa nei capitolati di appalto per la ristorazione pubblica collettiva e la sua efficacia è verificata mediante la conduzione di audit e di attività di campionamento, sia dagli enti appaltatori che dal personale preposto al Controllo Ufficiale.

Lo scopo del presente lavoro è quello di presentare i risultati di analisi integrative svolte all'interno di mense pubbliche e bar ed effettuate, su richiesta del committente, con lo scopo di verificare il rispetto dei parametri igienico sanitari sia negli alimenti che a livello ambientale.

MATERIALI E METODI

Il programma di verifica si è svolto nel periodo 2006-2011 e ha coinvolto sei strutture di somministrazione di alimenti di cui tre mense e tre bar annessi.

Per ogni anno di attività sono stati effettuati rispettivamente tre e due campionamenti presso le due diverse tipologie di struttura ed un audit presso ogni mensa. Vi è da sottolineare come nell'anno 2009 sia stato condotto un solo sopralluogo presso le singole strutture, durante il quale è stato eseguito il campionamento ed il contestuale audit. Durante gli audit sono stati valutati gli interventi straordinari di manutenzione eventualmente necessari, l'adeguatezza del manuale di autocontrollo, l'applicazione delle buone pratiche igieniche e di lavorazione. Durante ogni sopralluogo presso le mense è stato eseguito un prelievo di 4 campioni di alimento (un alimento crudo, una salsa o un condimento, un alimento cotto, un contorno o un dessert) e di 6 tamponi ambientali (piani di lavoro, frigoriferi, taglieri, affettatrici, utensili e altre superfici ritenute a rischio). Nei bar, invece, è stato prelevato un solo alimento (prodotto di pasticceria, prodotto da forno, prodotto di gastronomia o ingredienti necessari alla loro preparazione) e 3 tamponi ambientali (da superfici quali frigoriferi, piani di lavoro, taglieri, vassoi, stoviglie e altri accessori). Di ogni alimento è stata prelevata un'aliquota rappresentativa, in applicazione delle buone pratiche di campionamento. I tamponi ambientali invece, sono stati eseguiti su superfici ritenute particolarmente a rischio secondo le seguenti modalità: una volta individuata la zona pulita e deterata, si è proceduto al campionamento strofinando il tampone, inumidito con acqua peptonata sterile su un'area di 25 o 100 cm² in base alle dimensioni della superficie da campionare. L'area di campionamento è stata determinata per mezzo di delimitatore sterile. Le aliquote di alimento e i tamponi sono stati riposti in un apposito contenitore sterile e trasportate in laboratorio ad una temperatura non superiore ai 4°C.

I campioni sono stati conservati a 4°C e le analisi

sono state allestite il giorno successivo a quello del prelievo. Il contenitore è stato aperto mediante utensili sterili, prelevando il quantitativo necessario allo svolgimento degli accertamenti richiesti. In laboratorio, dopo l'operazione di pesatura, sono state eseguite le procedure di preparazione dell'alimento secondo la norma ISO 7218:2007.

Sono stati analizzati un totale di 612 campioni così ripartiti: 192 campioni di alimenti e 288 tamponi ambientali prelevati nelle tre mense oggetto dello studio e 33 alimenti e 99 tamponi nei bar annessi. In Tabella 1 sono riportati i microrganismi target e le metodiche di riferimento utilizzate per eseguire le analisi microbiologiche

Il giudizio di conformità dei campioni è stato assegnato in base a criteri individuati secondo gli standard di qualità reperiti nella letteratura scientifica e suggeriti dall'esperienza di laboratorio, in accordo con l'ente committente. Gli Istituti Zooprofilattici italiani (IZZSS) hanno operato una definizione univoca dei limiti di accettabilità attraverso la rielaborazione di quanto proposto dalle linee guida di alcune regioni italiane, dalla letteratura scientifica e dall'esperienza acquisita nel settore di autocontrollo. Sono state dunque individuate delle categorie di materie prime, semilavorati e prodotti finiti e in seguito sono stati definiti i valori limite, secondo un processo di armonizzazione della documentazione di verifica dei Piani di Autocontrollo, nonché delle metodiche e dei criteri di indagine e di valutazione (Tonucci *et al.*, 2005).

RISULTATI

I dati mostrano come nelle mense il 23,4% degli alimenti e l'8,7% dei tamponi ha presentato almeno una non conformità rispetto a quanto definito dai limiti fissati (Tonucci *et al.*, 2005), mentre nei bar questo dato è risultato essere rispettivamente il 48,5% dei prodotti alimentari e il 6,1% dei tamponi ambientali.

Nelle mense, i campioni alimentari che hanno mostrato un superamento del limite fissato per almeno un parametro tra quelli ricercati, appartengono alle seguenti categorie: preparazioni pronte al consumo non manipolate dopo cottura (n=10; 22,2%), carni crude (n=9; 20,0%), preparazioni alimentari pronte al consumo non cotte o con alcuni alimenti crudi (n=8; 17,8%), ortaggi e piante pronti al consumo (n=8; 17,8%), carni lavorate (n=6; 13,3%) e preparazioni pronte per il consumo manipolate dopo cottura (n=4; 8,9%) (Figura 1a). Nello specifico, tra le preparazioni pronte al consumo non manipolate dopo cottura, sono risultati non conformi prodotti di origine avicola (n=4), ittica (n=2), vegetale (n=2), bovina (n=1) e suina (n=1). Le carni crude che sono risultate non conformi sono di diversa origine: avicola (n=3), bovina (n=2), suina (n=2) e mista (n=1). Nei campioni non conformi apparte-

nenti alla categoria ortaggi e piante pronti al consumo sono incluse insalata verde (n=2) e mista (n=6). Le 8 preparazioni alimentari pronte al consumo non cotte o con alcuni alimenti crudi sono: caprese (n=5), insalatona, costituita da ingredienti sia di origine vegetale che animale (n=2) e piatto di insalata verde e formaggio molle (n=1). Le carni lavorate quali prosciutto cotto (n=3), bresaola (n=2) e prosciutto crudo (n=1) e le preparazioni pronte per il consumo manipolate dopo cottura, rappresentate da insalata di riso (n=2), insalata russa (n=1) e salsa tonnata (n=1) sono risultate non conformi solamente per il parametro carica microbica totale.

Per quanto riguarda i bar, invece, i campioni che hanno superato i limiti microbiologici sono soprattutto costituiti da preparazioni pronte al consumo non cotte o preparate con alcuni alimenti crudi (n=14; 87,5%) e preparazioni pronte al consumo non manipolate dopo cottura (n=2; 12,5%) (Figura 1b). Le prime sono rappresentate da tramezzini (n=7) e panini e focacce farciti (n=6) e anche da macedonia (n=1); mentre le altre da toast farciti (n=2). Per quanto riguarda i criteri di sicurezza, le analisi eseguite sugli alimenti campionati hanno permesso di evidenziare la presenza di *Listeria monocytogenes* in un campione di fesa di tacchino prelevato presso una mensa e un campione di tramezzino (carciofini in salsa e arrosto) presso un bar.

Per quanto attiene i criteri di igiene, le più comuni non conformità riscontrate sono rappresentate dal superamento dei limiti fissati relativamente alla carica microbica totale (60,7% nelle mense e 75,0% nei bar) e ai coliformi totali (20,3% mense e 25,0% bar), seguito da miceti (15,2% nelle mense e 0,0% bar) e stafilococchi (2,5% mense e 0,0% bar).

Nelle mense il 68,5% delle non conformità riscontrate nei campioni di alimento e il 44,0% nei tamponi ambientali è ascrivibile ad una elevata carica microbica totale. Nei bar, invece, i valori percentuali salgono a 73,3% nei campioni alimentari e 80,0% nei tamponi ambientali.

Nelle mense il superamento del limite relativo al numero di coliformi totali, si è verificato nel 27,8% delle non conformità riscontrate nei campioni alimentari e nel 4,0% nei tamponi ambientali e nei bar rispettivamente nel 26,7% e nel 20,0%.

La maggioranza degli alimenti non conformi analizzati mostra un solo parametro difforme, anche se, in alcuni campioni di alimento provenienti dalle mense, si è riscontrata la contemporanea presenza di due parametri non conformi: in totale, nove campioni (tra cui figurano insalata verde, insalata mista, caprese, riso in bianco, coscia di pollo e braciola crude) sono risultati non conformi sia per elevata conta di batteri coliformi che per conteggio aerobico, mentre un campione (fesa di tacchino cruda) ha mostrato un superamento dei limiti per carica microbica totale e per Stafilococchi Coagulasi Positivi (SCP). Due campioni provenienti dalle

mense hanno presentato una conta di SCP superiore al limite fissato di 100 ufc/g: un campione di spinaci cotti con una carica di 200 ufc/g e un campione di fesa di tacchino cruda con un valore >10.000 ufc/g. In entrambi i casi è stato possibile isolare *Staphylococcus aureus*, tali ceppi tuttavia non sono risultati in grado di produrre enterotossine. Il campione di fesa di tacchino cruda, risultato non conforme oltre che per conta di SCP, anche per elevata carica microbica, ha dato esito negativo alla ricerca dell'enterotossina stafilococcica nell'alimento. Durante il sopralluogo è stato eseguito un campione di fesa di tacchino cotta che ha però mostrato conformità rispetto ai limiti.

Nel 2011 sono stati analizzati 36 alimenti prelevati presso le mense e l'86,1% è risultato corrispondente ai parametri fissati dal capitolato. Al contrario nel 2009 la percentuale di alimenti conformi è stata del 58,3%, a fronte di solamente 12 campioni analizzati. I tamponi superficiali hanno mostrato l'assenza di microrganismi in almeno il 94,4% delle superfici campionate per anno, tranne nel 2008 (64,8%) (Figura 2).

I 6 campioni di alimento prelevati presso i bar nel 2010 sono risultati essere non conformi per almeno un parametro. Al contrario negli anni 2006, 2009 e 2010 i tamponi superficiali sono risultati essere sempre negativi (Figura 3).

Gli audit, infine, hanno evidenziato frequentemente la necessità di interventi aggiuntivi di pulizia e manutenzione delle strutture e attrezzature e la mancanza del rispetto delle temperature di stoccaggio dei diversi alimenti, che sono risultate superiori rispetto a quelle prescritte. Spesso inoltre, si sono evidenziate delle carenze inerenti al manuale di autocontrollo, con la rilevazione dell'assenza dell'elenco dei fornitori e un'incompleta tracciabilità dei prodotti, dovuta alla mancanza di corrette procedure di etichettatura degli alimenti preparati. Tali carenze si evidenziano soprattutto nel caso dei bar.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La possibilità di controllare la qualità igienico-sanitaria degli alimenti somministrati a livello di ristorazione collettiva permette di garantire la salute di molti consumatori che sempre più spesso consumano pasti fuori dall'ambiente domestico.

I limiti microbiologici per il monitoraggio dei criteri di igiene del processo applicabili nei servizi di ristorazione non sono al momento giuridicamente definiti: in futuro si auspica che tale situazione possa venire colmata mediante la definizione di limiti che possano costituire un ulteriore riferimento utile sia per il controllo ufficiale che per gli OSA.

L'utilizzo di valori guida comuni a tutti gli IZZSS coinvolti nell'attività garantisce una valutazione omogenea su tutto il territorio nazionale dei parametri igienico-sanitari da utilizzare nella verifica dell'autocontrollo nella ristorazione collettiva.

Questa uniformità costituisce un prerequisito per comportamenti univoci in rapporto ai parametri non conformi e permette di ottenere dati confrontabili dal punto di vista epidemiologico ed utilizzabili al fine della stesura anche dei Piani di Autocontrollo (Tonucci *et al.*, 2005).

Le categorie di alimenti risultati non conformi non mostrano percentuali molto diverse le une dalle altre, questo ad indicare che non vi sono alimenti da considerare particolarmente a rischio nelle sei realtà oggetto dello studio.

Il riscontro di microrganismi patogeni per la salute dei consumatori, come ad esempio *Listeria monocytogenes*, sottolinea l'importanza dell'applicazione del sistema HACCP a livello di ristorazione collettiva.

Per quanto concerne la valutazione dei parametri atti a valutare il processo produttivo, le non conformità riscontrate possono essere ascrivibili alla carica microbica già presente a livello di materie prime, all'errata temperatura di conservazione degli alimenti o alla non corretta manipolazione da parte degli operatori. Risulta quindi fondamentale prestare particolare attenzione alla preparazione e alla manipolazione degli alimenti e mantenere la corretta temperatura di refrigerazione, specialmente se gli alimenti preparati verranno serviti freddi o se non sia prevista una cottura in grado di abbattere la carica presente sulle materie prime.

Dai risultati dalle analisi effettuate emerge come, nelle mense, rispetto ai primi anni in cui si è svolto lo studio, vi sia stato un miglioramento della qualità microbiologica. Tale trend non si è riscontrato nei bar, in cui permane una carenza dal punto di vista igienico-sanitario, per gli alimenti serviti. Tale risultato può essere parzialmente spiegato dal mantenimento degli alimenti ad una scorretta temperatura.

Gli audit e i risultati delle analisi microbiologiche mostrano come sia fondamentale una corretta applicazione di un sistema HACCP appropriato alle strutture oggetto dello studio. La formazione periodica del personale è il mezzo più efficace al fine di garantire la corretta adozione delle buone pratiche di lavorazione.

BIBLIOGRAFIA

1. AFNOR NF V08-59:2002. Microbiologie des aliments - Dénombrement des levures et moisissures par comptage des colonies à 25 °C. Association Française de Normalisation ed., Saint-Denis, Francia.
2. ISO 4832:2006. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coliforms - Colony-count technique. International Organization for Standardization ed., Ginevra, Svizzera.
3. ISO 4833:2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Colony-count technique at 30 °C. International Organization for Standardization ed., Ginevra, Svizzera.
4. ISO 6579:2002. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. International Organization for Standardization ed., Ginevra, Svizzera.
5. ISO 6579:2002. Technical corrigendum 1, 2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. International Organization for Standardization ed., Ginevra, Svizzera.
6. ISO 6888-2:1999. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 2: Technique using rabbit plasma fibrinogen agar medium AMENDMENT 1: Inclusion of precision data. International Organization for Standardization ed., Ginevra, Svizzera.
7. ISO 7218:2007. Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations. International Organization for Standardization ed., Ginevra, Svizzera.
8. ISO 11290-1:1996. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 1: Detection method. International Organization for Standardization ed., Ginevra, Svizzera.
9. ISO 15123:2003. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of sulfite-reducing bacteria growing under anaerobic conditions. International Organization for Standardization ed., Ginevra, Svizzera.
10. ISO 16649-2:2001. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of b-glucuronidase-positive *Escherichia coli* - Part 2: Colony-count technique at 44 °C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl b-D-glucuronide. International Organization for Standardization ed., Ginevra, Svizzera.
11. Regolamento (CE) n. 178/2002 del parlamento europeo e del consiglio del 28 gennaio 2002 che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*, L 31 del 01.02.2002.
12. Regolamento (CE) n. 2073/2005 della commissione del 15 novembre 2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*, L 338 del 22.12.2005.

13. Tonucci F., Cenci T., Casiere A., Petruzzelli A., Migliazzo A., Montagna C., Mioni R., Bardasi L., Colmegna S., Decastelli L., Saccarese S., Amati S., Lanni L. 2005. Progetto di collaborazione tra gli Istituti Zooprofilattici: limiti di riferimento per la ristorazione collettiva. *Atti del XV Convegno AIVI Tirrenia (PI) 16-18 giugno 2005. pp 351-356.*
14. UNI EN ISO 7932:2005. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus* Colony-count technique at 30 °C". Ente Nazionale Italiano di Unificazione ed., Milano, Italia.
15. UNI EN ISO 7937:2005. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of *Clostridium perfringens* Colony-count technique. Ente Nazionale Italiano di Unificazione ed., Milano, Italia.

Tabella 1. Microrganismi target e metodi utilizzati per le analisi di laboratorio.

Parametri valutati	Riferimento	Alimenti	Tamponi
Carica microbica totale	ISO 4833:2003	x	x
Coliformi totali	ISO 4832:2006	x	x
<i>E. coli</i>	ISO 16649-2:2001	x	x
Stafilococchi coagulasi positivi	ISO 6888-2:1999/Amendment 1:2003	x	x
Muffe e lieviti	AFNOR NF V08-59:2002	x	x
<i>Salmonella</i> spp.	ISO 6579:2002 ISO 6579:2002/Corr. 1:2004	x	
<i>L. monocytogenes</i>	ISO 11290-1:1996 ISO 6579:2002/Corr. 1:2004	x	
Anaerobi solfito riduttori	ISO 15123:2003	x	
<i>B. cereus</i>	UNI EN ISO 7932:2005	x	
<i>C. perfringens</i>	UNI EN ISO 7937:2005	x	

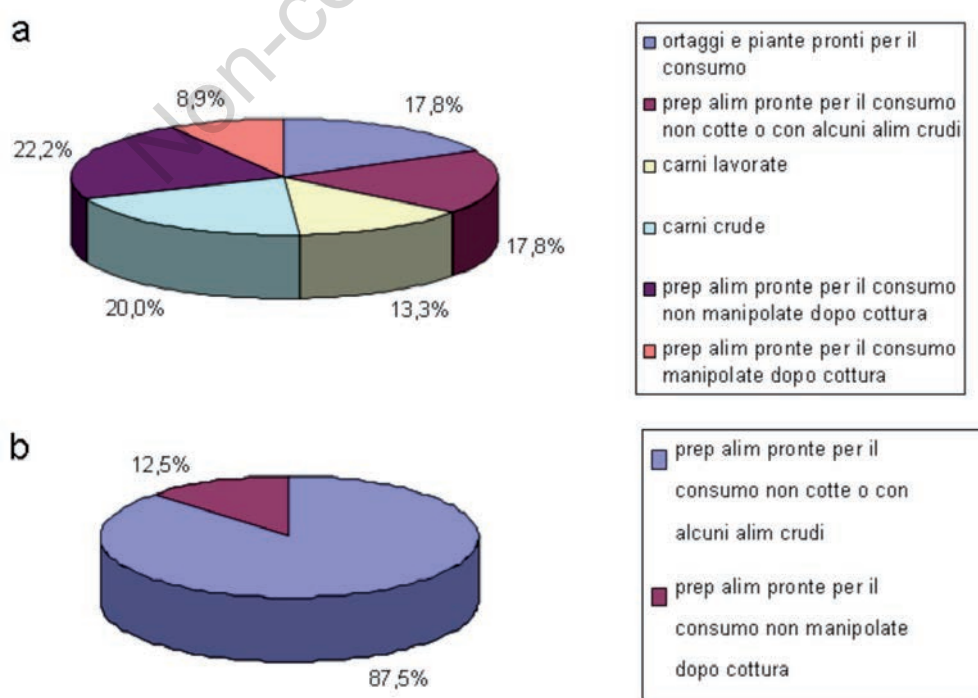


Figura 1. Categorie di alimenti risultati non conformi in mense (a) e bar (b).

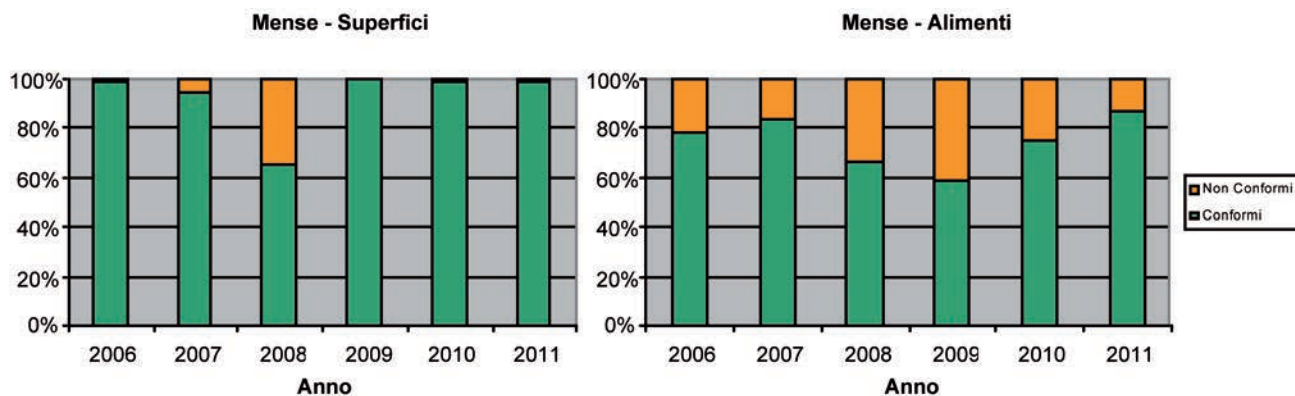


Figura 2. Grafico dei campioni di alimenti e superfici non conformi prelevati nelle mense.

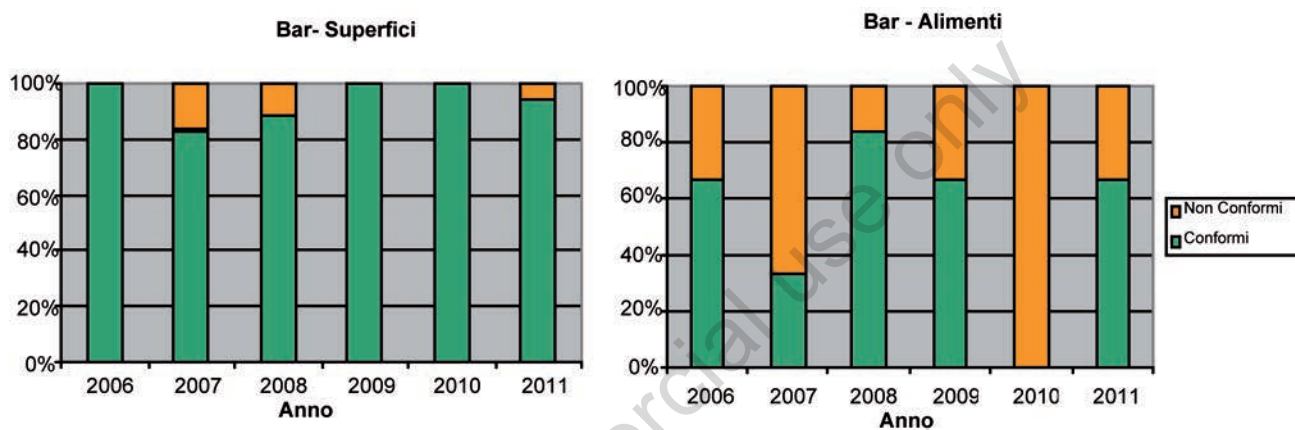


Figura 3. Grafico dei campioni di alimenti e superfici non conformi prelevati nei bar.