Università Politecnica delle Marche

FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA
CORSO DI LAUREA IN TECNICHE DELLA PREVENZIONE NELL'AMBIENTE E NEI LUOGHI DI LAVORO

Listeriosi nella Regione Marche 2015-2016

RELATORE:
PROF.SSA EMILIA PROSPERO

TESI DI LAUREA DI:
MARTINA CIATTAGLIA

ANNO ACCADEMICO 2018/19

Sommario

1.INTRODUZIONE 2
1.1 *Listeria monocytogenes* 2
1.1.2 Patogenesi 4
1.1.3 Esposizione 6
1.1.4 Prevenzione 7
1.2 Quadro Normative Comunitarie 8
1.3 Quadro Normative Regionali 8
1.4 Listeria e Notifica Obbligatoria 8
1.5 Il Sistema di Allerta Rapido 9
1.6 Le Malattie a trasmissione alimentare: Obblighi Normativi 10
1.7 La Notizia di Reato 10
1.8 Il Campionamento 10
2. OBIETTIVO 12
3. MATERIALI E METODI 13
4. RISULTATI 17
4.1 Listeriosi nelle popolazioni suscettibili nella Regione Marche dal 2015 al 2016 17
4.2 Coordinamento delle Attività d'Indagine 19
4.3 Cronistoria Listeriosi nella Regione Marche 23
4.4 Attività di ricerca della fonte di infezione 24
4.5 Trace back sulla fonte alimentare individuata 27
4.6 Risultati dei campionamenti 29
5. DISCUSSIONE DEI RISULTATI OTTENUTI 36
6. CONCLUSIONI 38
7. BIBLIOGRAFIA 40
7.1 SITOGRAFIA: 42
ALLEGATO 1 43
ALLEGATO 2 48
ALLEGATO 3 51
ALLEGATO 4 58
ALLEGATO 5 60
ALLEGATO 6 63
8. RINGRAZIAMENTI 66

1.INTRODUZIONE

Esistono al mondo più di 250 tossinfezioni alimentari e, secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità, una persona su 10 si ammala dopo aver mangiato cibo contaminato.

La Listeriosi è una malattia batterica, causata da *L.monocytogenes* che, a differenza di altri microrganismi trasmessi con gli alimenti, oltre a provocare forme gastrointestinali, dà luogo a manifestazioni di tipo invasivo come meningite, aborto, setticemia e morte.

Le forme invasive di listeriosi hanno un lungo periodo d'incubazione, superiore anche a 30 giorni. Questo fattore ostacola le indagini epidemiologiche. Sebbene l'incidenza di listeriosi in Europa sia limitata (tasso di notifica pari a 0.47/100000), ciò che rende temibile questa patologia, nelle forme clinicamente evidenti, è l'elevato tasso di mortalità (15.6%) e di ospedalizzazione (97%), associati alla gravità della sintomatologia (Surveillance Atlas of Infectious Diseases, 2018).

Si sta rivelando sempre più un importante problema di Sanità Pubblica e di Sicurezza Alimentare, in quanto ha un notevole impatto sanitario nelle categorie più fragili della popolazione, quali bambini, anziani, donne in gravidanza e soggetti sottoposti a trattamento con farmaci immunosoppressivi, come terapie antitumorali, in costante crescita.

1.1 *Listeria monocytogenes*

L.monocytogenes è un microrganismo patogeno per l'uomo e gli animali, associato ad alimenti di origine animale.

Presenta una struttura a coccobacillo ed è un Gram positivo anaerobio facoltativo – microaerofilo. Può crescere e replicare a 4°C e il suo range di sviluppo °oscilla da -1 a +50°C con un optimum a 0-37°C.

Il suo range pH va da 4.0 a 9.5; è asporigeno e mobile a 25 °C e immobile a 37°C.

L'incidenza della malattia dipende da numerosi fattori, compresi, la dose infettante e lo stato immunitario dell'ospite. Inoltre, è stata ampiamente dimostrata la variabilità nella virulenza a seconda dei ceppi in causa.

La virulenza di *L.monocytogenes* è dovuta all'espressione di numerosi geni responsabili della penetrazione all'interno delle cellule, della proliferazione e della diffusione da cellula a cellula.

La comprensione e la valutazione del rischio posto da questo patogeno richiede, quindi, il rilevamento e l'identificazione di questi geni accanto a delle caratteristiche dei ceppi quali, ad esempio, il sierotipo di appartenenza. Dei tredici sierotipi identificati, infatti, solamente 3 (I/2a,II2b e 4b) sono associati con la maggior parte dei casi clinici nell'uomo, mentre il sierotipo 4b è quello più frequentemente isolato da focolai epidemici. L'applicazione di tecniche molecolari e, in particolare, della reazione polimerasica a catena (PCR) permette di ottenere questi dati in tempi rapidi e riduce i costi delle analisi.

L.monocytogenes è stata spesso isolata dagli animali, sia domestici (pecore, bovini, polli), che selvatici. Ne è stata più volte segnalata la diffusione nei volatili, peraltro poco sensibili all'infezione e, secondo alcuni Autori, anche i ratti rappresenterebbero un importante serbatoio di tale patogeno.

Nell'uomo è stato stimato che una parte della popolazione, dal 2 al 10%, sarebbe portatore sano di listeria a livello intestinale.

Si tratta di un germe ubiquitario, rilevato spesso a livello di acqua, alimenti vegetali e terreno. *L.monocytogenes* può svilupparsi alle temperature di refrigerazione ed è molto resistente agli agenti fisico-chimici e nell'ambiente, dove può permanere a lungo.

È stata isolata da molti alimenti di origine animale (latte, formaggi, gelati, carne, prodotti carnei, prodotti della pesca) ed anche dagli ambienti di lavorazione.

Nei prodotti cotti la contaminazione può avvenire dopo il trattamento termico o essere la conseguenza di un insufficiente processo risanante.

Poiché la frequenza con la quale le persone sono esposte a *L.monocytogenes* appare molto più alta rispetto all'incidenza reale della malattia, viene da tempo discusso il significato dell'ingestione con gli alimenti di cariche basse del microrganismo, specialmente da parte di consumatori non immunologicamente compromessi.

1.1.2 Patogenesi

La principale via di trasmissione di *L.monocytogenes* è la via gastroenterica, è possibile anche che tale microrganismo penetri nell'organismo attraverso piccole ferite presenti nel cavo orale, in faringe o in esofago; più rara è la penetrazione dell'infezione tramite la via respiratoria.

L.monocytogenes è un patogeno opportunista che colpisce più frequentemente alcune categorie di persone: pazienti sottoposti a terapia immunosoppressiva, affetti da AIDS o da malattie croniche come la cirrosi, che compromettono il sistema immunitario; donne in gravidanza, neonati ed anziani.

Le forme cliniche di listeriosi possono essere distinte in due categorie: invasiva e non invasiva.

La listeriosi non invasiva è molto simile ad una gastroenterite febbrile, è caratterizzata da sintomi gastroenterici con diarrea, febbre, cefalea e mialgia, dopo un breve periodo di incubazione.

Nella listeriosi invasiva invece il periodo di incubazione può essere molto lungo: normalmente va da 2 a 3 settimane, ma occasionalmente arriva fino a 3 mesi. In questa forma di malattia, *L.monocytogenes* penetra nella mucosa intestinale e, dopo una prima fase di adesione e moltiplicazione a questo livello, si diffonde per via ematogena al fegato, all'utero gravido ed al sistema nervoso centrale. Oltre a presentare un alto tasso di mortalità, può essere causa di sequele sintomatologiche, la cui incidenza è difficilmente quantificabile.

Le principali forme invasive di listeriosi sono tre:

1) Meningoencefalite: a rapida evoluzione e mortalità elevata;

2) Granulomatosi settica o tifoso-pneumonica: con focolai di tipo miliare a fegato, milza e polmoni e mortalità compresa tra il 30 e il 50%;

3) Granulomatosi infantiseptica o listeriosi neonatale: per lo più conseguente a infezione transplacentare, caratterizzata da formazioni granulomatose nei visceri, dette listeriomi, da lesioni esantematiche e da morte poco prima o poco dopo la nascita.

Sono state segnalate anche altre 32 forme meno comuni: oculoghiandolare, caratterizzata da congiuntivite purulenta ed interessamento dei linfonodi regionali; cervicoghiandolare, con interessamento dei linfonodi cervicali; anginoso-settica, con fenomeni di angina a decorso benigno; esantematica, con eritema di tipo papuloso.

L'infezione da *L.monocytogenes* durante la gravidanza può determinare importanti esiti perinatali quali: aborto spontaneo, parto pretermine, morte endouterina fetale e listeriosi congenita neonatale.

Dal punto di vista epidemiologico, la listeriosi di tipo invasivo è caratterizzata da una relativa frequenza di casi sporadici e dall'occasionale segnalazione di focolai veri e propri. Secondo alcuni Autori il 95% di questi casi sporadici sarebbe di origine alimentare. La listeriosi di tipo non invasivo è stata invece osservata in occasione di alcuni focolai epidemici, nei quali la maggior parte delle persone colpite mostravano sintomi di gastroenterite dopo un breve periodo di incubazione.

1.1.3 Esposizione

Come è ormai ampiamente riconosciuto in tutto il mondo, la principale forma di listeriosi nell'uomo è dovuta al consumo di prodotti alimentari contaminati.

Gli alimenti più spesso associati con la malattia sono quelli di tipo industriale, pronti per il consumo, i cosiddetti ready-to-eat foods (RTE), che presentano le seguenti caratteristiche:

1) sono un ottimo substrato per lo sviluppo di *L.monocytogenes;*

2) hanno una lunga shelf-life a temperature di refrigerazione;

3) vengono consumati tal quali, senza subire alcun trattamento risanante (ad esempio la cottura).

La stima dell'esposizione al rischio *L.monocytogenes* viene effettuata focalizzando l'attenzione sulle variazioni della frequenza e del grado di contaminazione degli alimenti, dal momento della vendita a quello del consumo.

Considerata la resistenza di questo batterio, insieme agli elevati tassi di mortalità nell'uomo, la manipolazione sicura degli alimenti riveste un'importanza capitale per tutelare la salute pubblica.

1.1.4 Prevenzione

La listeriosi umana è una malattia spesso sottovalutata perché, non causa conseguenze preoccupanti nei soggetti immunocompetenti mentre, nelle categorie a rischio, è una malattia grave con un forte impatto sanitario.

Secondo Epicentro, il portale del Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute (CNESPS) dell'Istituto Superiore di Sanità, la strategia migliore per combattere l'infezione da *L.monocytogenes* nell'uomo, è la prevenzione. È fondamentale applicare buone prassi igieniche relative agli alimenti, previste anche per le altre tossinfezioni di origine alimentare. Le raccomandazioni sono:

a) risciacquare attentamente gli alimenti crudi (verdura e frutta) prima di mangiarli, tagliarli o cuocerli; asciugare i prodotti con un panno pulito o carta;

b) lavare le mani, gli utensili e le superfici, dopo la manipolazione e la preparazione degli alimenti; il frigorifero deve essere pulito, lavare accuratamente con acqua calda e sapone liquido le pareti interne e i ripiani;

c) conservare il cibo a temperature adeguate: in frigorifero entro i +4°C, nel congelatore inferiori a -17°C. Non conservare gli alimenti refrigerati oltre la data di scadenza riportata in etichetta, conservare gli alimenti separando le carni crude dalle verdure e dai cibi cotti e pronti al consumo;

d) Cuocere accuratamente e completamente i prodotti di origine animale. Consumare i prodotti ready to eat appena possibile; i cibi avanzati devono essere conservati in contenitori singoli e chiusi, poco profondi (per raggiungere una rapida temperatura di refrigerazione) e consumati entro 3-4 giorni.

e) Evitare di bere latte crudo non pastorizzato e i suoi prodotti (soprattutto formaggi a pasta molle).

1.2 Quadro Normative Comunitarie

Il quadro normativo comunitario di riferimento, in materia di Sicurezza Alimentare, è rappresentato dal Regolamento CE n.178/2002, dal “Pacchetto Igiene” e dal Regolamento CE n.2073/2005. Una sintesi della normative di riferimento è consultabile nell’allegato 1.

1.3 Quadro Normative Regionali

La Regione Marche garantisce la tutela della salute pubblica con verifiche lungo l’intera filiera produttiva, attraverso l’ispezione, il campionamento, le analisi di laboratorio, il controllo delle condizioni igienico sanitarie delle strutture e l’igiene del personale, l’esame dei documenti, le verifiche sui sistemi di autocontrollo adottati dalle imprese con i regolamenti. Una sintesi delle normativa di riferimento è consultabile nell’ Allegato 2.

1.4 Listeria e Notifica Obbligatoria

In Italia, la listeriosi è una malattia soggetta a notifica obbligatoria ai sensi del D.M. 15 dicembre 1990.

Accanto al flusso di notifiche ufficiali è attiva dal 2010 un’attività di sorveglianza di laboratorio, coordinata dall’Istituto Superiore di Sanità (Iss) e finalizzata principalmente alla tipizzazione sierologica e molecolare degli isolati clinici e alla loro caratterizzazione sul piano epidemiologico.

I flussi di sorveglianza ufficiale delle malattie infettive e della sorveglianza di laboratorio relativi ai casi e agli isolati clinici costituiscono le fonti utilizzate per alimentare i flussi europei del sistema TESSy (The European Surveillance System) ai quali l’Italia partecipa fin dal loro avvio (2007) e della rete di allerta EPIS event-based.

In tale ambito l'ISS funge da Operational Contact Point (OCP) per l'ECDC (Centro europeo per la prevenzione e il controllo delle malattie) a supporto del ministero della Salute per il coordinamento dei flussi di sorveglianza come previsto dalla Nota circolare del Ministero della Salute "Sorveglianza e prevenzione della listeriosi", del 13/03/2017. Le notifiche di focolai epidemici di listeriosi, nell'ambito della sorveglianza ufficiale delle malattie infettive, sono inoltre trasmessi annualmente all'EFSA (Autorità europea per la sicurezza alimentare).

1.5 Il Sistema di Allerta Rapido

Il Sistema di Allerta Rapido deve essere attivato in caso di sospetto di malattia alimentare o di riscontro di alimenti o mangimi immessi sul mercato che potrebbero essere nocivi per la salute umana o animale perché, a seguito di risultati analitici attendibili, presentano il superamento di limiti fissati dalle normative.

Il regolamento CE 178/2002 stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA) e fissa le procedure nel campo della sicurezza alimentare. In particolare, l'articolo 50 del Regolamento CE 178/2002 istituisce il "Sistema europeo rapido di allerta dei prodotti alimentari e dei mangimi" (RASFF ossia Rapid Alert Sistem for Food and Feed). Il RASFF è istituito "per la notifica di un rischio diretto o indiretto per la salute umana dovuto ad alimenti o mangimi.

A esso partecipano gli Stati membri, la Commissione e l'Autorità. Ognuno di questi, designa un punto di contatto, che è membro della rete. La Commissione è responsabile della gestione della rete". Una sintesi della normativa di riferimento è consultabile nell'allegato 3.

1.6 Le Malattie a trasmissione alimentare: Obblighi Normativi

Le Malattie a Trasmissione Alimentare (MTA) rappresentano una complessa problematica di costante attualità e in continua evoluzione, rispetto alla quale gli Operatori di Sanità Pubblica si confrontano regolarmente. Una sintesi della normativa di riferimento è consultabile all'allegato 4.

1.7 La Notizia di Reato

Secondo l'art. 330 c.p.p., gli organi deputati all'acquisizione della notizia di reato sono il Pubblico Ministero e la Polizia Giudiziaria e quindi riferendosi al loro specifico settore di competenza in materia di igiene di alimenti e bevande, il personale ispettivo e di vigilanza dei Servizi Igiene degli Alimenti di Origine Animale e Igiene degli Alimenti e della Nutrizione.

L'art. 57 c.p.p. conferisce la qualifica di ufficiale di polizia giudiziaria al personale di vigilanza delle ASUR che potrà ricercare ed accertare determinati reati nell'ambito del territorio di propria competenza e durante lo svolgimento di tale servizio. L'approfondimento della normativa di riferimento è consultabile all'allegato 5.

1.8 Il Campionamento

Il Regolamento CE 882/2004, individua l'Operatore del Settore Alimentare (OSA) come principale responsabile della garanzia della sicurezza alimentare e l'Autorità Competente incaricata del controllo come figura responsabile di valutare l'appropriatezza delle scelte gestionali fatte dall'impresa, attraverso il Controllo Ufficiale.

Il Controllo Ufficiale è identificato come una qualsiasi forma di controllo eseguita dall'autorità competente per la verifica della conformità alle normative vigenti in materia di salute e benessere animale, sicurezza di mangimi e alimenti.

Nell'attività del controllo ufficiale dei prodotti alimentari, il campionamento risulta essere una delle attività più importanti. Una sintesi della normativa di riferimento è consultabile nell'allegato 6.

2. OBIETTIVO

OBIETTIVO PRIMARIO:

- Ridurre la mortalità e morbosità per infezione da *L.monocytogenes*

OBIETTIVI SECONDARI:

- Indagare l'incidenza della Listeriosi nella Regione Marche dal 2015 al 2016

- Indagare gli esiti della Listeriosi nelle popolazioni suscettibili (gravidanza, anziani, immunocompromessi) nella Regione Marche dal 2015 al 2016

3. MATERIALI E METODI

È stata condotta un'indagine epidemiologica dei casi di infezione registrati nella Regione Marche nel biennio 2015 – 2016. E' stato consultato il database delle notifiche obbligatorie di classe II (D.M. 15 dicembre 1990) concesso da ARS Marche, PF Prevenzione e Promozione della Salute nei Luoghi di Vita e di Lavoro. I dati ottenuti sono stati analizzati con il software Office Excel versione 2013.

E' stato indagata la modalità operativa di gestione del focolaio di *L. monocytogenes* mediante consultazione del materiale reso disponibile dal SIAOA (Servizio Igiene degli Alimenti di origine Animale) del Dipartimento di Prevenzione di Jesi, che ha preso parte all' indagine e alla gestione del Focolaio di listeriosi della Regione Marche 2015/2016.

Da tale materiale sono stati estrapolati gli organismi coinvolti nella gestione del focolaio, la modalità di coordinamento delle attività di indagine ed è stata ricostruita la cronistoria dell'evento, i campionamenti effettuati e l'attività di trace back effettuata.

Sono stati analizzati i risultati del campionamento effettuato; l'analisi è stata effettuata con il software Office Excel versione 2013.

Il campionamento è stato effettuato nei vari stabilimenti della Regione Marche in particolare l'area maggiormente interessata dal campionamento è stata la provincia di Ancona nel periodo a cavallo tra dicembre e marzo 2016.

Il campionamento sugli alimenti è stato effettuato seguendo le direttive del regolamento CE 2073/2005.

Per quanto riguarda il campionamento ambientale, per valutare la presenza e la distribuzione della contaminazione del patogeno nelle aree di trasformazione, somministrazione e vendita degli alimenti, sono stati effettuati tamponi ambientali su superfici a contatto (SC) e non a contatto (SNC) con gli alimenti.

L’unità di campionamento minima prelevata durante l’attività di verifica, è costituita da 10 SC, 5 SNC e 5 prodotti finiti che sono stati lavorati su tali superfici.

Tra le aree oggetto del campionamento sono state incluse quelle in cui l’alimento è maggiormente esposto alla contaminazione (es. aree di lavorazione) ma anche quelle nelle quali si presuppone una minore esposizione (es. aree di stoccaggio).

Sono stati privilegiati i punti più difficili da pulire e sanificare, quelli che non sono puliti con adeguata frequenza e quelli nei quali è più facile l’accumulo di acqua e residui organici.

I campioni sono stati eseguiti su SC utilizzate nella linea di lavorazione del prodotto prelevato:

- attrezzature
- nastri trasportatori
- taglieri
- piani di lavoro
- trituratori
- tramogge
- utensili
- contenitori
- guanti

Campioni su superfici non a contatto:

- punti di raccolta della condensa
- dispositivi di raffreddamento
- ventole
- guarnizioni
- aree sotto i tavoli
- nastri
- ruote di carrelli
- pannelli di comando
- maniglie, porte
- rubinetti, lavandini
- pozzetti di scarico, canaline di scolo
- abbigliamento operatori
- bidoni rifiuti, strumenti per la pulizia
- pareti, soffitti, ecc..

I prelievi sono stati eseguiti principalmente durante la lavorazione, almeno due - tre ore dopo l'inizio o a fine turno, nessun campione è stato raccolto dopo la pulizia.

Procedura per il prelievo con spugne (SPONGE BAG)

I tamponi ambientali sono stati prelevati con l'ausilio di spugnette sterili di cellulosa, contenute in sacchetti sterili di plastica, di dimensioni non inferiori a 3,5 x 7,5 cm ed inumidite con brodo neutralizzante di Dey-Engley.

Le dimensioni delle superfici da sottoporre a campionamento devono essere più ampie possibili (1000-3000 cm2). Nel caso di superfici di piccole dimensioni è stata campionata l'intera superficie utile. I campioni sono stati prelevati con guanti monouso sterili, strofinando con sufficiente energia la spugnetta 10 volte verticalmente e 10 volte orizzontalmente sull'area individuata con particolare insistenza in fessure, angoli ecc.

Al termine del prelievo la spugnetta è stata riposta all'interno del sacchetto sterile, evitando il contatto con superfici non sterili, favorendo la fuoriuscita dell'aria in eccesso e ripiegando più volte il bordo superiore su se stesso.

Ogni campione è stato opportunamente identificato riportando la denominazione o altro identificativo univoco dell'attrezzatura, della superficie campionata, dell'area di lavorazione in cui è stato eseguito, del tipo di superficie (SC o SNC).

Per identificare in maniera più agevole la superficie campionata è stata fotografata associando la fotografia all'identificativo del campione riportato nella scheda di dettaglio campioni. I campioni ottenuti sono stati refrigerati il prima possibile e l'invio al laboratorio è avvenuto all'interno di contenitore coibentato in grado di garantire una temperatura di + 4°C ed analizzati entro 24 h dal prelievo.

4. RISULTATI

4.1 Listeriosi nelle popolazioni suscettibili nella Regione Marche dal 2015 al 2016

Nel biennio 2015-2016 si è verificato un aumento dell'incidenza di infezione clinicamente manifesta da *L.monocytogenes*.

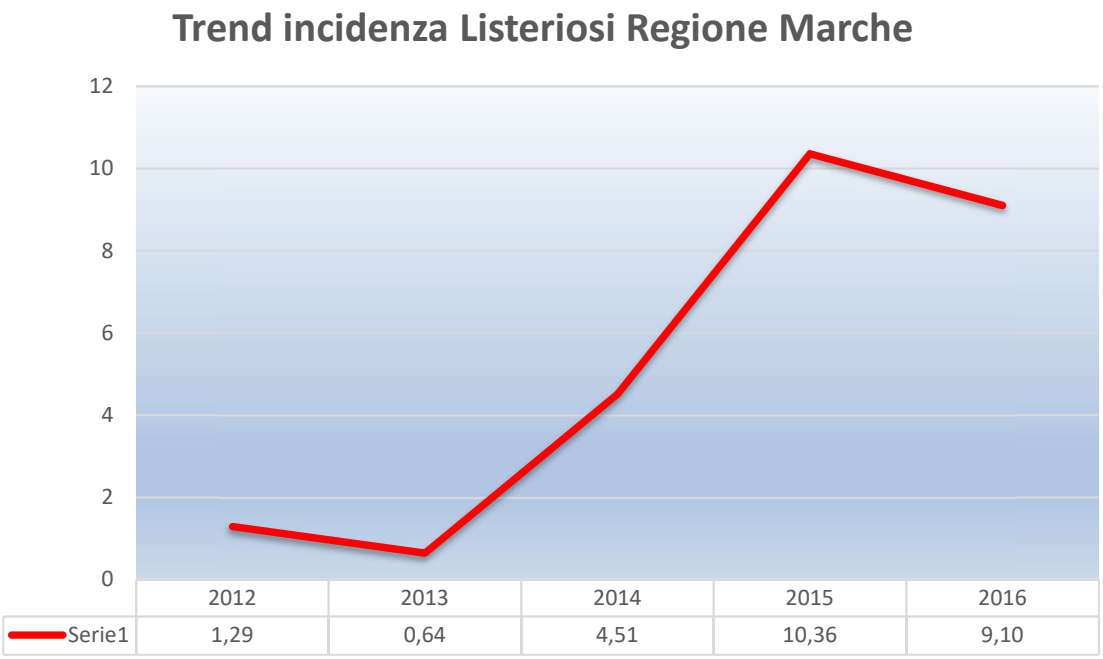

Figura 1: *Trend incidenza Listeriosi Regione Marche;* ASR MARCHE

Dall'analisi delle Notifiche di malattia Classe II è emerso che nel biennio 2015-2016 sono stati notificati 30 casi di listeriosi nella Regione Marche, 23 dei quali appartenenti al focolaio epidemico.

L'età media all'esordio della sintomatologia è di 70,9 anni (età media nel 2015 pari a 68,6 anni – età media nel 2016 pari a 73,4 anni).

I pazienti colpiti dalla malattia sono stati per lo più anziani (77% con età superiore a 65 anni) e interessati da patologie croniche fortemente debilitanti, oppure sottoposti a terapie immunosoppressive, come ad esempio le terapie cortisoniche.

Quattro pazienti (tre marchigiani e uno umbro) sono deceduti a causa dell'infezione in questione, due pazienti sono deceduti per altre patologie.

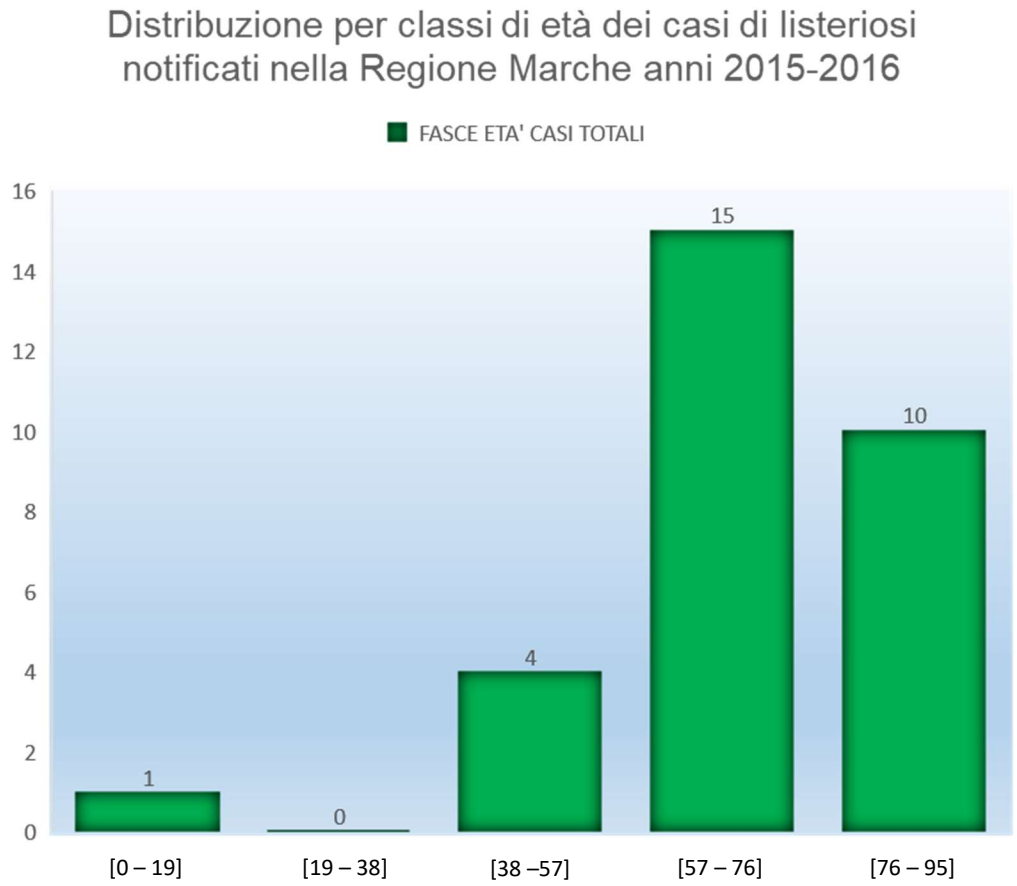

Figura 2: *Distribuzione per classi di età dei casi di Listeriosi notificati nella Regione Marche anni 2015-2016;* ASR MARCHE

Tra i casi notificati uno è riferito ad un caso di listeriosi neonatale, non associato a notifica di malattia materna.

Questo dato ci ha permesso di ipotizzare una probabile lacuna nella identificazione dei casi di infezione da *L.monocytogenes* in gravidanza.

4.2 Coordinamento delle Attività d'Indagine

Le attività di indagine e coordinamento degli interventi sul territorio per affrontare la problematica della listeriosi, sono stabilite dal Decreto Legislativo 4 Aprile 2006 n. 191 in Attuazione della direttiva 2003/99/CE sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici, dove all' Art. 7 Comma 2, stabilisce che: "L'azienda unità sanitaria locale competente per territorio procede ad un'indagine sui focolai di tossinfezione alimentare."

Le indagini hanno lo scopo di acquisire dati sul profilo epidemiologico, sui prodotti alimentari eventualmente coinvolti e sulle cause potenziali del focolaio e comporta inoltre l'esecuzione di idonei studi epidemiologici e microbiologici."

Queste sono state possibili nella Regione Marche, mettendo in atto procedure di collaborazione tra differenti istituzioni e professionalità con compiti multidisciplinari e competenze nei settori della medicina clinica, epidemiologia, diagnostica di laboratorio, microbiologia, sicurezza alimentare e comunicazione e gestione del rischio.

L'Istituto zooprofilattico sperimentale dell'Umbria e delle Marche (IZSUM) è diventato un riferimento regionale per la tipizzazione dei batteri enteropatogeni, responsabili di MTA tra le quali *L.monocytogenes*.

Nel complesso è presumibile che tali attività abbiano reso la notifica di Zoonosi e MTA particolarmente efficace nella Regione Marche e gettato una base di collaborazione tra i vari enti che rende attualmente possibile un'efficiente e tempestiva conduzione delle indagini.

Per quanto riguarda *L.monocytogenes*, l'IZSUM (Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria Marche) raccoglie e tipizza i ceppi batterici isolati nell'uomo, dagli alimenti e dagli ambienti, inoltre si occupa dell'invio dei ceppi al Laboratorio Nazionale di riferimento, presso IZS dell'Abruzzo e del Molise-Teramo (LNR Lm) e all'istituto superiore di Sanità- Roma (ISS).

Tutto ciò permette di alimentare sia il nuovo sistema informativo sanitario delle malattie infettive, sia il Sistema di Sorveglianza Epidemiologica Agenti Patogeni (SEAP) sistema informativo gestito dall'IZS dell'Abruzzo e del Molise (ISZAM) per conto del Ministero della Salute.

In seguito alla rilevazione del Cluster di Listeriosi, la Regione Marche ha istituito il coordinamento delle attività complessive per la gestione del focolaio attraverso le strutture competenti dell'ARS (Agenzia Regionale Sanitaria) in seconda fase con l'attivazione del GORES (Gruppo Operativo Regionale Emergenze Sanitarie).

Il GORES è uno strumento istituito con Decreto del Presidente della Giunta del 2003, per permettere la rapida ed efficace integrazione funzionale tra le diverse competenze sanitarie e tra queste e le diverse istituzioni coinvolte.

Nello specifico alle riunioni GORES hanno partecipato:

- ARS-PF Prevenzione e Promozione della salute
- ARS-PF Veterinaria e Sicurezza Alimentare
- ASUR-AAVV (Azienda Sanitaria Unica Regionale Area Vasta)
- Istituto Superiore Di Sanità (Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare – Dipartimento SPVSA)
- Istituto Superiore Di Sanità (Dipartimento Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate – Dipartimento MIPI)
- Istituto Superiore Di Sanità (Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute - CNESPS)
- Laboratorio Nazionale di Riferimento per *Listeria monocytogenes* (LNR *L.m*)
- IZS-UM (Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria Marche)
- IZS-AM (Istituto Zooprofilattico Sperimentale Abruzzo Molise)

Le posizioni funzionali dell'ARS-PF Veterinaria e Sicurezza Alimentare (PF VSA) e Promozione Della Salute nei Luoghi di Vita e di Lavoro hanno definito le strategie d'azione con la collaborazione dell'IZSUM e del LNR L.m.

Il L.NR L.m. dalle prime fasi delle indagini ha effettuato la caratterizzazione molecolare dei ceppi di *L.monocytogenes* mettendo a disposizione metodiche di laboratorio innovative e necessarie per la caratterizzazione dell'agente patogeno e per la definizione di strategie di azione.

Il LNR *L.m* ha inoltre collaborato nell'esecuzione dei campionamenti, nello svolgimento degli esami di laboratorio e nella formazione specialistica degli operatori dei Servizi IAOA e SIAN dell'ASUR al fine di garantire l'armonizzazione di intervento tra le diverse professionalità in tutte le fasi delle indagini ambientali e dei campionamenti alimentari.

Altra fondamentale collaborazione è stata fornita dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) per la tipizzazione dei ceppi di *L.monocytogenes* e per il supporto nel coordinamento delle indagini sui pazienti. Il personale dell'ISS, in particolare del Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute (CNESPS), del Dipartimento Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare (SPVSA) e del Dipartimento Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate (MIPI), ha fornito un contributo altamente qualificato strutturando un “database epidemiologico” unico dei casi, contenente tutte le informazioni disponibili ad essi relative.

L’ISS sul versante della ricerca epidemiologica, supportando la definizione delle strategie d'intervento, attraverso la revisione dei questionari di indagine epidemiologica dei pazienti e la formazione degli operatori dei Dipartimenti di Prevenzione ASUR coinvolti nella raccolta dei dati epidemiologici derivanti dai casi clinici, ha svolto in particolare:

- Preparazione di un profilo di rischio degli alimenti identificati come potenzialmente implicati considerando le caratteristiche di *L.monocytogenes* e le condizioni di crescita del batterio;
- Aggiornamento delle analisi e delle stime circa la plausibilità che lo stabilimento CEIT1523/L (STABILIMENTO 1) sia l'unica fonte epidemica.

E' stata aggiornata la cartografia delle distribuzioni commerciali dei casi, sono stati ricalcolati i tassi di incidenza dei casi di Listeriosi e il rapporto dei tassi di Incidenza (IRR) nei comuni delle Marche nei quali i prodotti dello stabilimento CEIT1523/L. fossero o non fossero stati distribuiti.

- Aggiornamento dell'analisi per indagare l'associazione fra il consumo di alimenti ed i casi di *L.monocytogenes* pulsotipo cluster (casi) rispetto ai casi di listeriosi con pulsotipo non cluster (controlli) attraverso uno studio caso-caso. Questa analisi ha consentito di verificare eventuali differenze tra i casi dovuti a *L.monocytogenes* cluster e quelli dovuti ad altre *L.monocytogenes*, dando indicazione sui tipi di alimenti da includere nelle indagini di tracciabilità.
- analisi delle liste degli esercizi commerciali collegati ai casi insorti da dicembre 2015 in avanti.

Quest'attività era stata stabilita nel corso delle teleconferenze ed ha avuto l'obiettivo di verificare due aspetti:

- Il collegamento, attraverso gli esercizi commerciali, tra casi e i due stabilimenti: CEIT1523/L_ e CEIT1761M , cui prodotti e ambienti di lavoro sono stati riscontrati positivi a *L.monocytogenes* cluster.
- L'identificazione di altri fornitori potenzialmente collegabili ai casi di *L.monocytogenes* cluster ed in grado di aver contribuito all'epidemia (hot spot).

In base ai dati emersi dalle prime indagini, in Direttore del Dipartimento di Prevenzione ha istituito, il team di indagine, costituito dai Direttori (o delegati) dei Servizi di Igiene Pubblica, Igiene degli Alimenti e nutrizione , Igiene degli Alimenti di Origine Animale e da un rappresentate dell’istituto Zooprofilattico sperimentale Umbria e Marche, al fine di garantire una attività coordinata e rapida sia nello svolgimento delle successive fasi delle indagine che nella valutazione finale.

4.3 Cronistoria Listeriosi nella Regione Marche

Nelle Marche, dal 2015, il numero di casi di Listeriosi umana rilevati dal sistema informativo PreMal ha subito un notevole incremento. Sono stati individuati infatti 21 casi nel 2015 e 13 casi nei primi tre mesi del 2016 rispetto ai 7 casi del 2014 e ai 3 del 2013.

L'analisi molecolare dei ceppi di *L.monocytogenes* isolati dai pazienti colpiti dalla malattia, ha evidenziato lo stesso profilo genetico (cluster) in 23 casi, per un totale di 34, permettendo di rilevare la presenza di un focolaio epidemico di infezione.

Le indagini epidemiologiche e molecolari hanno permesso di identificare, 8 mesi dopo l'evidenziazione del cluster, un insaccato di carne cotta di origine suina (coppa di testa), collegato, anche se indirettamente, al paziente residente in Umbria, contaminato da *L.monocytogenes* cluster e prodotto nello stabilimento marchigiano CEIT1523/L.

A scopo precauzionale sono state prese una serie di misure cautelative sulla produzione dello stabilimento: tutti i prodotti in commercio sono stati ritirati e la produzione è stata sospesa.

Le indagini microbiologiche e molecolari effettuate nello stesso stabilimento hanno evidenziato una diffusa contaminazione da *L.monocytogenes* cluster nell'ambiente, nel salume "coppa di testa" e in altri prodotti sia presenti nello stabilimento sia ritirati dal mercato.

I controlli svolti presso i fornitori di materie prime e i clienti dei salumificio CEIT1523/L, hanno permesso di rilevare la presenza di *L.monocytogenes* cluster negli ambienti e nei prodotti degli stabilimenti CEIT1761M (fornitore di materie prime) e CEIT9969L (acquirente del prodotto finito per il confezionamento) e in due punti vendita marchigiani della grande distribuzione organizzata.

Le indagini epidemiologiche hanno inoltre permesso di rilevare un collegamento tra le sedi di acquisto indicate dai pazienti nel corso delle interviste e la distribuzione dei prodotti sia da CEIT1523/L che dagli altri due stabilimenti contaminati.

Il ritiro dei prodotti da parte del stabilimento CEIT1523/L, considerato la fonte più importante di infezione, si è conclusa il 19 febbraio 2016.

L'ultimo caso di Listeriosi è stato notificato l'11 marzo 2016.

4.4 Attività di ricerca della fonte di infezione

Maggio - novembre 2015.

In seguito all'evidenziazione del cluster, le PF VSA (Posizione di Funzione Veterinaria e Sicurezza Alimentare) e PF PPSLVL (Posizione di Funzione Prevenzione e Promozione della Salute nei Luoghi di Vita e di Lavoro) dell'ARS hanno informato e sensibilizzato il personale dei Dipartimenti di Prevenzione per aumentare l'attenzione sull'incremento dei casi di Listeriosi notificati.

I Servizi territoriali dei Dipartimenti di Prevenzione delle Aree vaste - ASUR Marche, coadiuvati dal personale dell'IZSUM, dal LNR *L.m*, hanno approfondito e reso più mirate le normali indagini epidemiologiche che si effettuano sui casi di malattie di origine alimentare.

Da una valutazione della distribuzione spaziale e temporale dei casi di Listeriosi umana, si riteneva necessario indirizzare l'indagine alla ricerca di un alimento il cui consumo fosse riferito dai pazienti, presumibilmente a lunga conservazione, o prodotto in stabilimento con una contaminazione persistente ambientale e commercializzato in diverse province del territorio regionale.

É stato elaborato un questionario e le conseguenti fasi operative sono state l’indagine epidemiologica, condotta in prima battuta dal personale del SISP,

con la somministrazione al paziente ed ai familiari di un questionario specifico per la raccolta delle informazioni sulle abitudini alimentari dei pazienti relative a una vasta gamma di tipologie di prodotti e sugli esercizi commerciali abitualmente frequentati dai pazienti e dai familiari.

Le attività successive sono state realizzate in tempi brevi, per consentire la rapida valutazione dei dati iniziali, l'organizzazione dei sopralluoghi e dei prelievi presso le abitazioni dei pazienti, negli esercizi di vendita e di ristorazione segnalati dai questionari.

Nell'ambito delle indagini, da maggio 2015 a novembre 2015 sono stati analizzati 196 campioni tra tamponi ambientali e campioni di alimenti. Le informazioni e i campioni analizzati però, fino al mese di dicembre, non hanno permesso di individuare alcuna fonte alimentare contaminata dal ceppo di *L.monocytogenes* responsabile dell'infezione umana.

Dicembre 2015- marzo 2016.

Il 14 dicembre è stato notificato un caso di listeriosi in una paziente di Gualdo Tadino (Umbria) di 84 anni; affetto da patologia neoplastica.

Le indagini di laboratorio hanno evidenziato l'appartenenza del ceppo di *L.monocytogenes* isolato dalla paziente al cluster e le informazioni raccolte con il questionario hanno indicato due supermercati frequentati abitualmente sui quali il 4 gennaio 2016 sono stati effettuati, dal Servizio igiene Alimenti di origine Animale territorialmente competente, sopralluoghi e prelievi di alimenti.

Su un campione di salume "coppa di testa", prodotta dallo stabilimento marchigiano CEIT1523/L è stato isolato un ceppo di *L.monocytogenes* indistinguibile dal ceppo cluster.

Nonostante il consumo di questo alimento non sia stato riferito in modo sistematico da tutti i pazienti in cui è stata isolata la *L.monocytogenes* cluster, l'isolamento di *L.monocytogenes* cluster nel prodotto alimentare, ha fatto

supporre un collegamento dei casi di malattia con il prodotto stesso o con altri salumi prodotti nello stesso stabilimento individuati come fonte di infezione.

Sulla base di questo nuovo elemento, associato agli esiti del sopralluoghi effettuati, il Servizio igiene degli Alimenti di Origine Animale dell'ASUR Area Vasta 2, ha disposto, il 3 febbraio 2016, il blocco delle attività di produzione dello stabilimento CEIT1523/L al fine di eliminare dal consumo gli alimenti potenzialmente pericolosi, sono state attivate le procedure di ritiro dal commercio del lotto di salume "coppa di testa" risultato contaminato (L.51209) nonché, considerata la data di scadenza del salume (60 gg dalla data di produzione), di tutti gli altri lotti prodotti a partire dal 01 dicembre 2015 (L60111-L60112-L60118-L-60126).

A titolo precauzionale inoltre, il 09 febbraio 2016, lo stabilimento ha effettuato il ritiro dal commercio di tutti gli alimenti prodotti dallo stesso; tali operazioni si sono concluse il 19 febbraio 2016.

In attuazione delle strategie d'azione condivise dalle diverse Istituzioni competenti in materia, nella riunione del 18 febbraio 2016, presso la sede del Ministero della Salute Direzione generale per l'igiene e la sicurezza degli alimenti e la nutrizione, è stato predisposto sulla base delle indicazioni del LNR *L.m* ed effettuato dall'Autorità competente locale il campionamento su tutti i lotti dei prodotti presenti nello stabilimento CEIT1523/L e non ancora commercializzati, e di tutti gli altri prodotti segregati, ritirati dal commercio.

I responsabili dello stabilimento CEIT1523/L, hanno immediatamente compreso la gravità del problema ed hanno fornito i dati di tracciabilità delle materie prime: fornitori, ricette, schede di lavorazione giornaliere ed elenco dettagliato dei loro clienti con i documenti di consegna dal gennaio 2015 al febbraio 2016.

Oltre ai provvedimenti tesi ad eliminare dal consumo gli alimenti potenzialmente pericolosi presso lo stabilimento, CEIT1523/L sono stati eseguiti campionamenti ambientali, degli ingredienti e dei prodotti.

A conclusione delle fasi discusse in precedenza lo stabilimento ha effettuato le dovute operazioni di sanificazione e bonifica di tutti gli ambienti di lavorazione.

La bonifica (effettuata da una ditta specializzata) consiste in una sanificazione degli ambienti contaminati con metodi e principi attivi atti ad eliminare questa tipologia di batterio patogeno.

Successivamente, ai sensi di legge, la ditta ha proceduto ad effettuare in autocontrollo, tre prove consecutive di campionamento con spugnette degli ambienti, risultati contaminati in precedenza, al fine di valutare al termine della bonifica l'assenza della contaminazione del patogeno in tutte le aree indagate in precedenza.

A seguito di questa fase l'Autorità Competente (A.C.) ai sensi di legge si è recata ad effettuare nello stabilimento 60 campionamenti ambientali, che sono risultati favorevoli.

A conclusione dell'iter lo stabilimento ha ottenuto il risultato di *L.monocytogenes* assente su tutti i campionamenti, ciò ha reso possibile di avviare all'A.C. la richiesta di riapertura dell'attività di produzione e vendita dei suoi prodotti.

4.5 Trace back sulla fonte alimentare individuata

Le attività di individuazione della fonte di contaminazione sono state concentrate sui fornitori diretti di materie prime e di sostanze entrate a far parte di lotti risultati contaminati con il ceppo di *L.monocytogenes* appartenente al cluster epidemico, dando priorità ai fornitori di carni fresche e frattaglie. Seguendo questo criterio 12 aziende sono risultate correlate alla produzione di prodotti contaminati con il ceppo epidemico di *L.monocytogenes.*

Sono stati identificati 6 stabilimenti (3 nella regione Marche, 3 nella regione Emilia Romagna) che hanno fornito carni fresche variamente lavorate, 2 allevamenti di suini (uno nelle Marche, uno in Piemonte) che hanno fornito

animali al macello, un'azienda abruzzese che ha fornito involucri sintetici e naturali impiegati nella produzione di insaccati e 5 aziende (con sedi nelle Marche Emilia Romagna, Lazio, Lombardia e Toscana) che hanno fornito altri ingredienti (spezie, aromi, olive, pistacchi, mandorle ecc.).

Il Servizio Igiene degli Alimenti di Origine Animale dell'ASUR- Area Vasta 2 ha informato le suddette imprese produttive, il Ministero della Salute, l'IZSUM e il LMR *L.m* della necessità di effettuare il rintraccio della fonte di contaminazione e, contestualmente, ha chiesto ai Servizi delle ASL competenti per le medesime imprese, di procedere, previo accordo con il LNR *L.m*, ai necessari campionamenti per valutare la eventuale presenza di *L.monocytogenes* del ceppo epidemico negli stabilimenti.

In questo contesto, il LNR *L.m* per armonizzare le modalità di intervento ha fornito ai Servizi ASL la consulenza tecnico-scientifica e il supporto operativo.

Gli stabilimenti marchigiani: CEIT1761M, CEIT1966M e CEIT1022L, fornitori di carni fresche allo stabilimento CEIT1523/L sono stati sottoposti a specifici controlli ufficiali con campionamenti ambientali e dei prodotti il 4 ed il 9 febbraio 2016 dal personale del Servizio Igiene degli Alimenti di Origine Animale dell'ASUR- Area Vasta 2, coadiuvato dai tecnici dell'IZSUM e del LNR *L.m*.

Sui prodotti sono state eseguite le ricerche qualitative e quantitative di L.*monocytogenes,* nonché la determinazione di pH e a_w che sono elementi determinanti della capacità di supportare la crescita del microrganismo.

Tutti i campioni sono stati esaminati dall'IZSUM ad eccezione del campioni prelevati presso lo stabilimento CEIT1966M esaminati dall'IZSAM.

Sulla base dei risultati disponibili, *L.monocytogenes* cluster è stata rilevata solo nello stabilimento CEIT1761M.

4.6 Risultati dei campionamenti

All'interno dello stabilimento 1(CEIT1523/L) è stato effettuato il campionamento ambientale delle varie superfici (così come descritto nel capitolo 3). Il campionamento ambientale pre-bonifica è composto da per un totale di 86 campioni di cui 26 (pari al 30%) risultati positivi *a L.monocytogenes*.

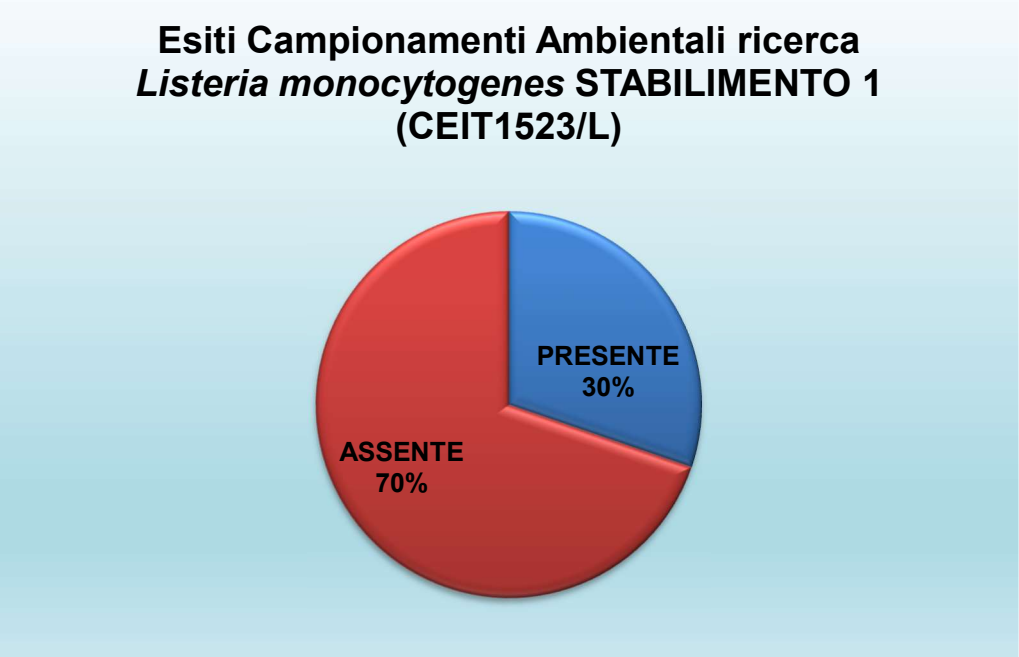

Figura 3: *Esiti analitici campionamenti ambientali nello stabilimento 1 prima della bonifica.*

Analizzando in dettaglio gli esiti dei campionamenti ambientali risultati positivi a *L.monocytogenes*, è risultata una estesa contaminazione da *L.monocytogenes* in molteplici spazi e attrezzature destinate alla stoccaggio e lavorazione delle materie prime e allo stoccaggio del prodotto finito.

La descrizione della localizzazione dei campionamenti ambientali positivi è consultabile nella Tabella 1.

MATRICE	RISULTATO QUALITATIVO	DESCRIZIONE
SPONGE 3	PRESENTE	cella stoccaggio teste - carrello spolpo guanto e bacinella
SPONGE 5	PRESENTE	cella stoccaggio teste pavimento
SPONGE 6	PRESENTE	corridoio tra cella teste e sala cottura tombino raccolta acque
SPONGE 7	PRESENTE	sala lavorazione coppe lavandino
SPONGE 8	PRESENTE	sala lavorazione coppe tubo lavaggio
SPONGE 10	PRESENTE	sala lavorazione tavolo teflon sotto 1
SPONGE 11	PRESENTE	sala lavorazione tavolo teflon sotto 2
SPONGE 12	PRESENTE	sala lavorazione tavolo teflon ruote
SPONGE 15	PRESENTE	sala lavorazione coppe interruttore caldaia
SPONGE 17	PRESENTE	carrello coppe cella raffr. C
SPONGE 18	PRESENTE	carrello coppe cella raffr. C ruote
SPONGE 19	PRESENTE	carrello pesatura coppe
SPONGE 20	PRESENTE	sala lavorazione coppe tombino
SPONGE 24	PRESENTE	sala confezionamento tavolo teflon sotto
SPONGE 25	PRESENTE	sala confezionamento macchina sottovuoto int
SPONGE 29	PRESENTE	macchine (x3) per scotch
SPONGE 30	PRESENTE	bilance (x2) sala confezionamento piatto
SPONGE 37	PRESENTE	traspallet spedizione
SPONGE 48	PRESENTE	tavolo acciaio avanti insaccatrice
SPONGE 52	PRESENTE	tira acqua manico rosso sala freschi
SPONGE 55	PRESENTE	tombino tra tritacarne e insaccatrite sala freschi
SPONGE 56	PRESENTE	lavandino cella budelli

Tabella 1: *Localizzazione dei campionamenti ambientali risultati positivi a Listeria monocytogenes presso lo stabilimento 1.*

Il campionamento alimentare pre-bonifica svolto all'interno dello stabilimento 1(CEIT1523/L) ha coinvolto 1876 U.C. (unità campionarie).

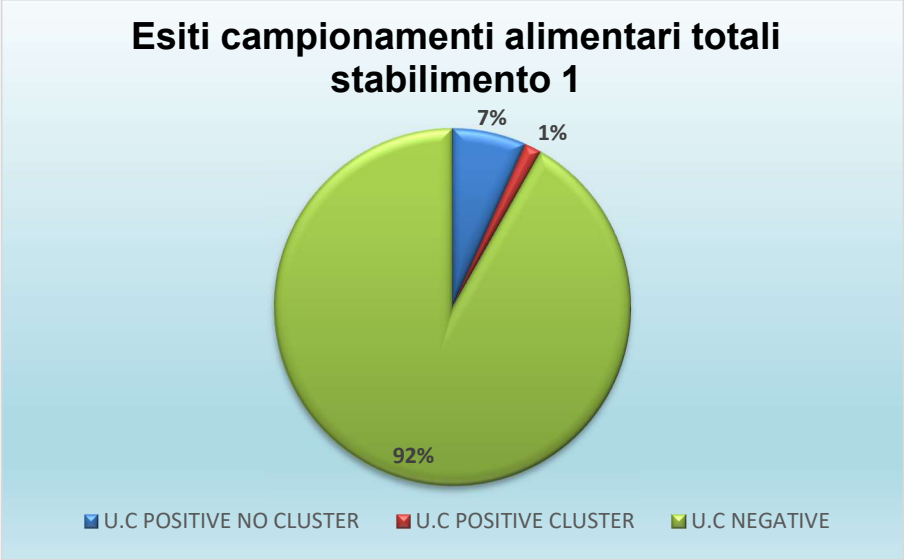

Figura 4: *Esiti analitici campionamenti alimenti nello stabilimento 1 prima della bonifica*

Su un totale di 154 U.C (unità campionarie) risultate positive a *L.monocytogenes* ben 28 U.C risultavano appartenenti al Cluster (Figura 5).

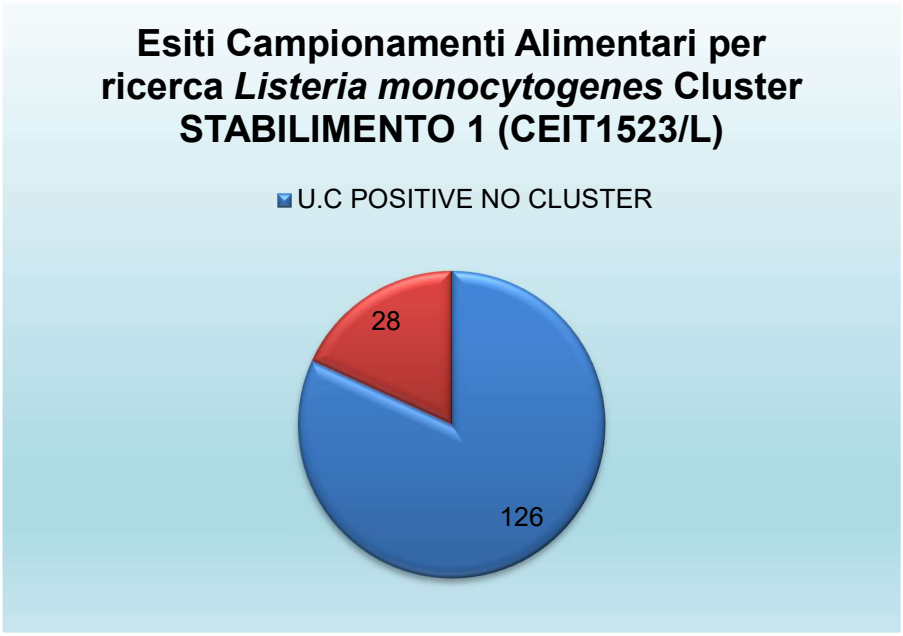

Figura 5: *Esiti dei campionamenti sugli alimenti risultati positivi a L.monocytogenes*

In figura 6 vengono riportati gli esiti dei Campionamenti effettuati nello stabilimento 1 nei giorni 3.02.16 e 22.02.16. Su un totale di 1099 campioni effettuati 178 risultano positivi a *L.monocytogenes* e 19 a *L.monocytogenes* Cluster.

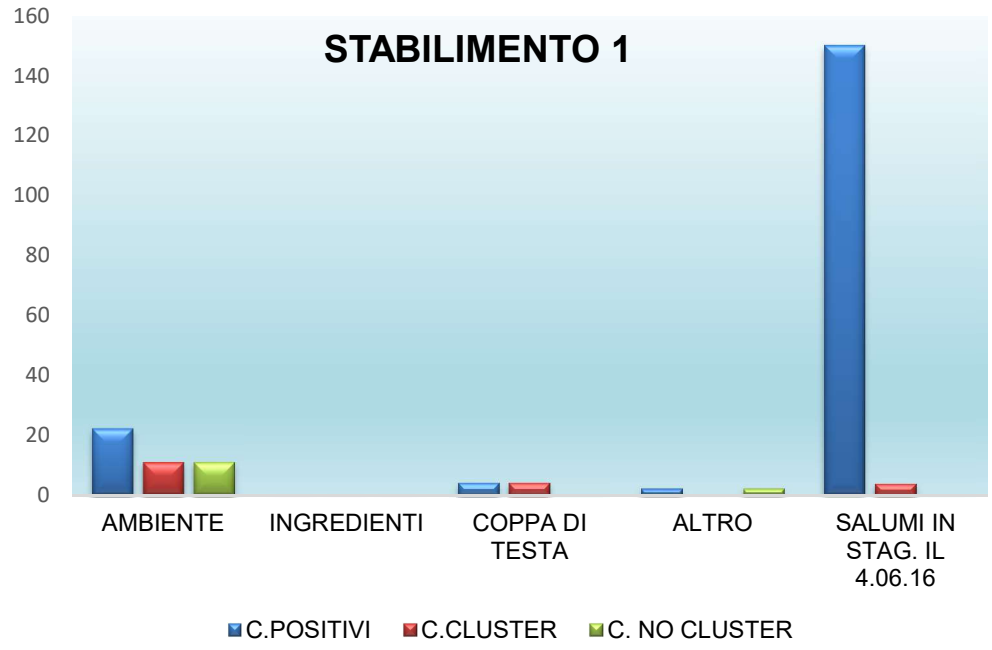

Figura 6: *Resoconto campionamenti per ricerca L.monocytogenes nello stabilimento 1*

Di seguito verranno riportati i grafici con gli esiti dei Campionamenti relativi al Trace-back, effettuati sui vari fornitori di materie prime dello stabilimento 1 (CEIT1523/L)

I campionamenti effettuati nello stabilimento 2 (CEIT 1761M) da febbraio 2016 fino al post sanificazione/bonifica hanno riguardato principalmente l'ambiente e i salumi in produzione ed essiccatura. Su un totale di 448 campionamenti vi sono 52 campioni positivi a *L.Monocytogenes* e 1 a *L.Monocytogenes* Cluster (Figura 7).

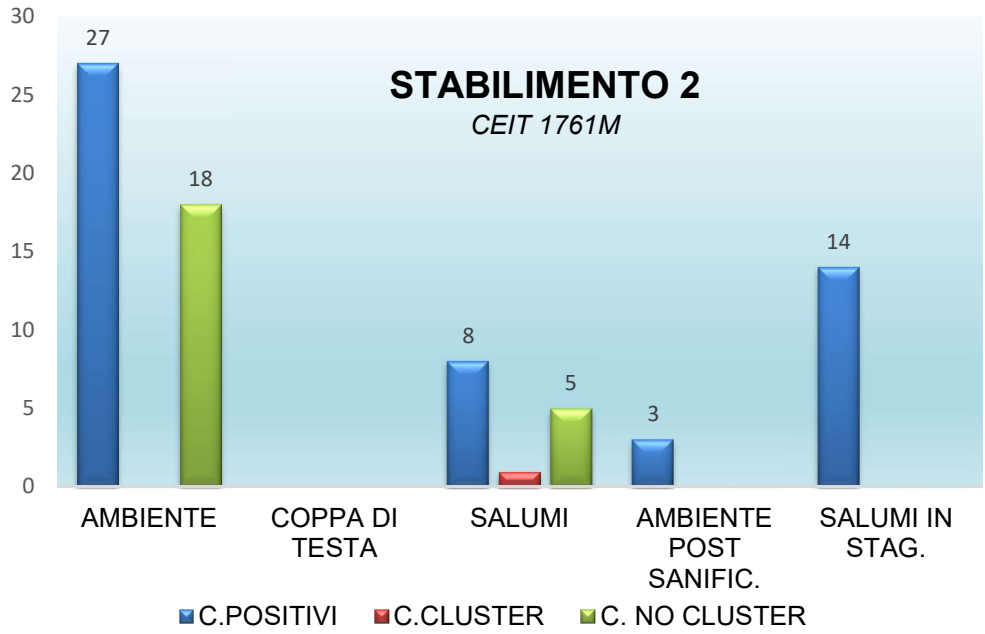

Figura 7: *Esito dei campionamenti effettuati nello stabilimento CEIT 1761M per indagini trace-back.*

Le attività di campionamento ambientale avviate nel febbraio 2016 hanno riguardato anche lo stabilimento 3 (CEIT1966M). Su un totale di 92 campionamenti vi sono 14 campioni positivi a *L.Monocytogenes* e 0 a *L.Monocytogenes* Cluster (Figura 8).

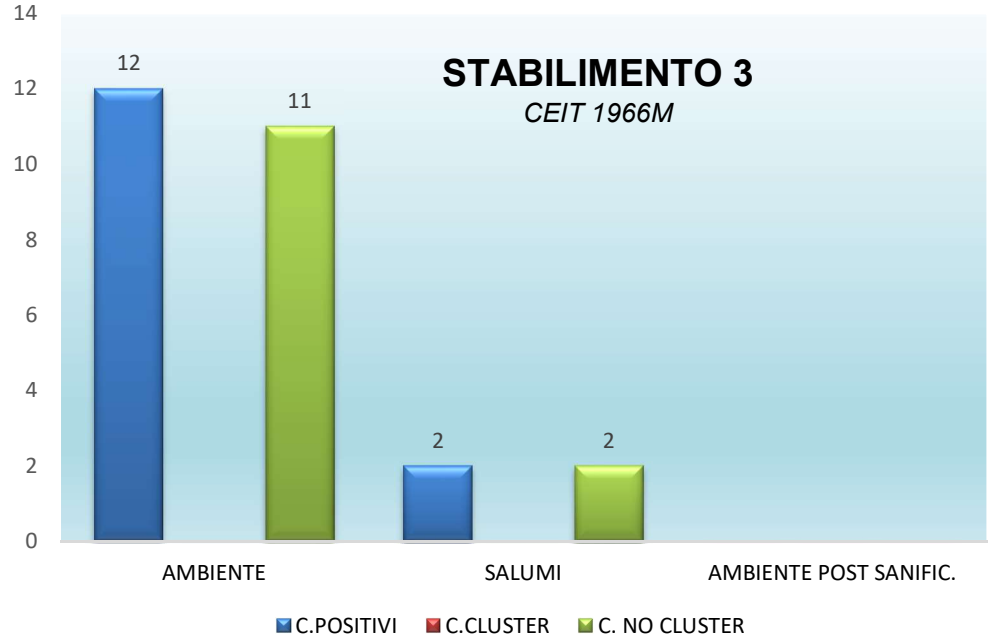

Figura 8*: Esito dei campionamenti effettuati nello stabilimento* CEIT 1966M *per indagini trace-back*

Le attività di campionamento ambientale ed alimentare sono proseguite nello stabilimento 4 (CEIT1022L) dove su un totale di 67 campionamenti vi sono 17 campioni positivi a *L.Monocytogenes* e 0 a *L.Monocytogenes* Cluster(Figura9)

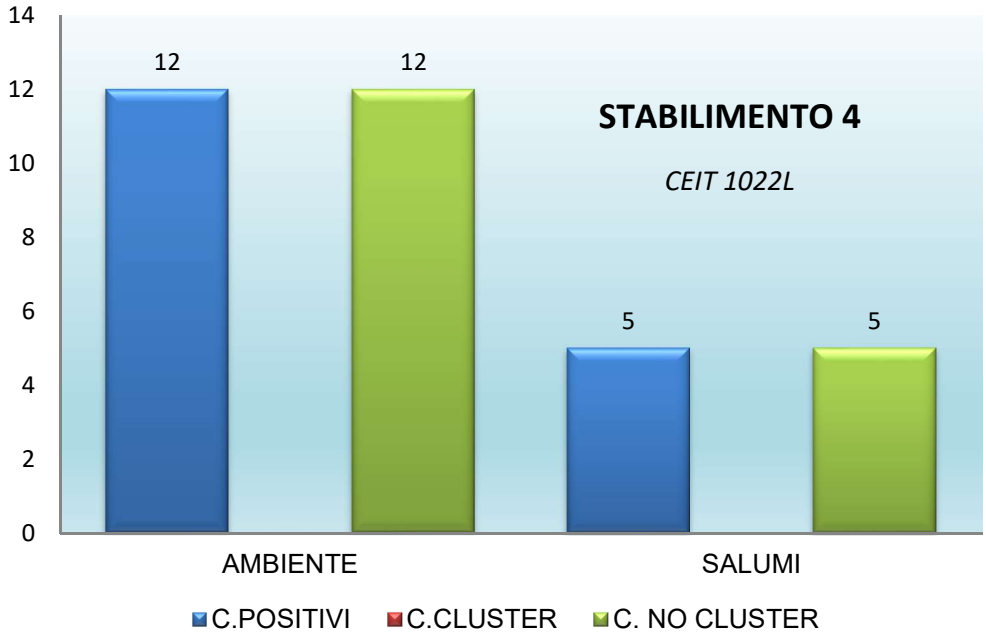

Figura 9: *Esito dei campionamenti effettuati nello stabilimento* CEIT 1022L *per indagini trace-back*

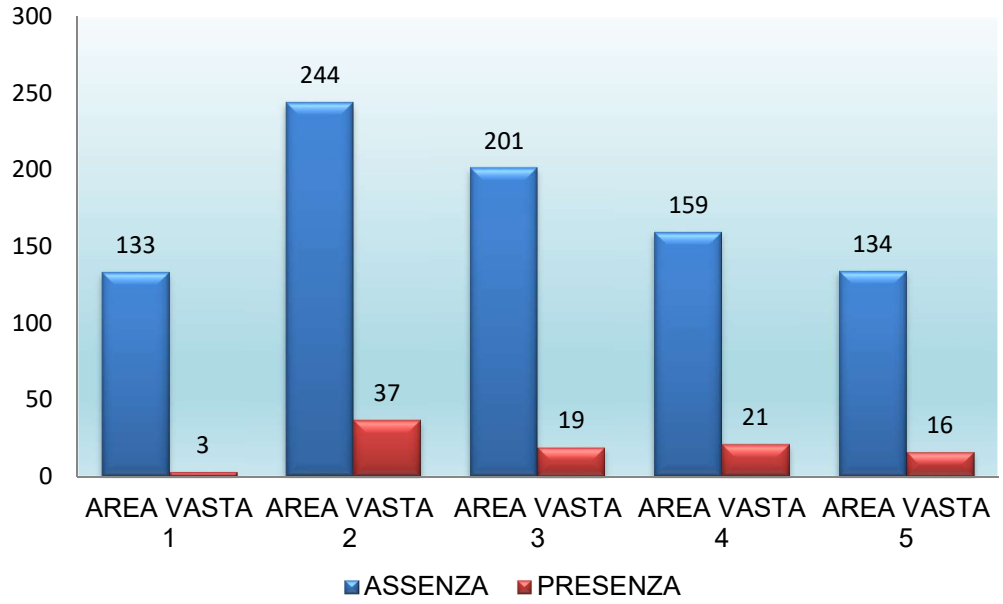

Figura 10: Esiti *Campionamenti effettuati (967) per indagare la presenza del batterio L.monocytogenes nella Regione Marche (suddivisa per Aree Vaste) nel 2016.*

5. DISCUSSIONE DEI RISULTATI OTTENUTI

I dati emersi dalle indagini microbiologiche sugli alimenti, le analisi delle superfici, le ricerche sugli OSA, lo studio della tracciabilità dell'alimento e i risultati dei sopralluoghi sugli esercizi coinvolti, devono permettere di scrivere "la storia della contaminazione dell'alimento" e di poter di conseguenza implementare in futuro misure di prevenzione efficaci.

Dalla consultazione di questi grafici e tabelle, dove sono indicati gli esiti dei campioni alimentari e ambientali svolti negli stabilimenti e analizzati dai laboratori, si conferma il sospetto che a una massiccia contaminazione da *L.monocytogenes* degli ambienti e delle attrezzature di lavorazione, corrispondano valori microbiologici dei prodotti non conformi.

Nella Figura 5 si evidenzia come su un totale di 154 campioni positivi per *L.monocytogenes* il 42% di essi sono risultati appartenenti al cluster di infezione del focolaio.

La consistenza del pulsotipo che ha colonizzato gli ambienti del Salumificio 1 (Figura 6) e dello Stabilimento 2 (Figura 7) spiega il perché la positività al cluster sia stata notevole anche negli insaccati stagionati (Lonzino, lonza stagionata, salame Fabriano) che per la loro fase di stagionatura nel processo produttivo, non avrebbero dovuto costituire terreno favorevole alla crescita di *L.monocytogenes*, a causa del basso tenore di Aw e pH, inospitale per la sopravvivenza del patogeno.

La storia della contaminazione dell'alimento citata in premessa, può essere ricostruita focalizzando l'attenzione sui dati raccolti nella Tabella 1 delle positività.

In riferimento agli esiti dei tamponi agli ambienti e alle attrezzature indagate, si evince di fatto la causa di ingresso e le modalità di propagazione del batterio patogeno, ed il successivo incremento del livello di contaminazione all'interno dello Stabilimento 1.

Di fatto nella Tabella, si distinguono tre fasi precise del ciclo di lavorazione, svolte in tre siti ben definiti:

- stoccaggio (celle di deposito della materia prima in arrivo);
- lavorazione (sala dove il trattamento della materia prima cruda avveniva insieme alla lavorazione e cottura della stessa);
- transito (corridoi dove i carrelli di spostamento delle materie transitano come vettori di propagazione).

È da esempio, come in questo stabilimento di recente costruzione, con attrezzature di lavorazione recenti, con buone condizioni igienico sanitarie, nel quale non si erano mai riscontrate positività per *L.monocytogenes* su campioni ufficiali di alimenti, all'improvviso, una materia prima sicuramente contaminata (teste), ha fatto il suo ingresso dapprima nelle celle di stoccaggio a temperatura, poi è transitata mediante dei carrelli (ad uso non esclusivo) verso i corridoi di accesso alla sala di lavorazione, dove la materia prima ha subìto le successive fasi di "lavaggio" (con getti ad acqua forzata), "preparazione" (su di un piano di lavoro in teflon), e "cottura" in autoclave (con ulteriore passaggio sullo stesso piano di lavoro in teflon).

Al termine, il prodotto cotto, era trasferito dalla sala lavorazione tramite altri carrelli, che lo veicolavano nei successivi reparti di destinazione (celle di raffreddamento, confezionamento etc…).

6. CONCLUSIONI

La Regione Marche nel Febbraio 2016 si è trovata ad affrontare una emergenza sanitaria epidemiologicamente complessa e relativamente sconosciuta fino a quel momento.

Ciò che è emerso dalla gestione del focolaio e dal lavoro svolto sul campo, è l'abilità di questo batterio patogeno di adattarsi e sopravvivere negli ambienti, per periodi molto lunghi, attraverso la formazione del biofilm.

Per questo la reale fonte di contaminazione è rappresentata dagli ambienti di lavorazione e al contrario di quanto ipotizzabile la sua presenza è stata riscontrata nelle superfici non a contatto con gli alimenti, nelle quali l'alimento ha una minore esposizione, trascurate da interventi di pulizia e sanificazione.

Emerge un concetto essenziale, fondato non più soltanto sul controllo a campione della salubrità dell'alimento nelle singole partite, ma sul monitoraggio analitico dei punti critici di controllo (CCP), in tutti i momenti del suo ciclo produttivo.

L'OSA nello svolgimento del suo operato, deve acquisire le conoscenze tecnico-scientifiche che gli consentono di garantire la sicurezza alimentare e la tutela del consumatore.

Pertanto nell'ambito dello studio, predisposizione e attuazione del suo piano di autocontrollo aziendale (HACCP), è vitale la raccolta di tutte le informazioni sull'intero processo produttivo dell'alimento: dall'ingresso della materia prima (stoccaggio), alle procedure utilizzate nelle fasi del ciclo di lavorazione (preparazione, cottura, stagionatura, riesposizione), alle azioni quotidiane degli operatori coinvolti (metodi di pulizia e buone pratiche di igiene), per ottenere l'uscita dallo stabilimento di un prodotto alimentare conforme ai criteri di legge e sicuro per la salute del consumatore (listeria assente).

Il valore ricevuto da questo studio è stato quello di arrivare, tramite l'analisi di una corretta gestione di un'allerta alimentare, all'attuazione di un protocollo strategico sanitario di intervento.

I risultati delle analisi dei campionamenti ambientali svolti, hanno spesso supportato valutazioni e considerazioni scaturite da esperienza e conoscenza della realtà sul campo, avvalorando l'importanza di una corretta ed approfondita conduzione delle indagini al fine di scongiurare ulteriori casi di malattia legati alla stessa fonte e raccogliere dati utili per prevenire ulteriori focolai.

La collaborazione tra i differenti organi e istituzioni delle Marche, ha permesso la stesura di piani integrativi di controlli periodici e preventivi finalizzati alla esclusione di ulteriori possibili fonti di contaminazioni negli alimenti.

In ultimo la redazione da parte della Regione Marche di una innovativa "linea guida di intervento in caso di focolaio di *L.monocytogenes" decreto ars n.51 del 2 agosto 2018* fondamentale per scongiurare la diffusione e l'insorgenza di ulteriori casi.

Il primo obiettivo da perseguire per l'OSA e per l'A.C. è necessariamente la tutela della salute del consumatore lungo tutta filiera e la vita commerciale dell'alimento.

Questa linea guida, deve tutelare in particolar modo le categorie più soggette a rischio di infezione da listeriosi emerse in questo focolaio: anziani, immunodepressi, donne in gravidanza e neonati.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Alahi MEE, Mukhopadhyay SC. Detection Methodologies for Pathogen and Toxins: A Review. Sensors (Basel). 2017;17:E1885.
2. Codice di Procedura Penale, art. 57, 223, 330, 347.
3. Decreto Legislativo 191/2006 Attuazione della direttiva 2003/99/CE sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici.
4. Decreto Ministeriale 15 dicembre 1990 “Sistema informativo delle malattie infettive e diffusive”.
5. Decreto Ministeriale 17 gennaio 1997, n. 58 Regolamento concernente la individuazione della figura e relativo profilo professionale del tecnico della prevenzione nell'ambiente e nei luoghi di lavoro.
6. Decreto Ministeriale 27 febbraio 1996, n. 209 Regolamento concernente la disciplina degli additivi alimentari consentiti nella preparazione e per la conservazione delle sostanze alimentari in attuazione delle direttive n. 94/34/CE, n. 94/35/CE, n. 94/36/CE, n. 95/2/CE e n. 95/31/CE.
7. Dhama K, Rajagunalan S, Chakraborty S, Verma AK, Kumar A, Tiwari R, Kapoor S. Food-borne pathogens of animal origin-diagnosis, prevention, control and their zoonotic significance: a review. Pak J Biol Sci. 2013;16:1076-1085.
8. Donato A., Attanzio G., Broccolo P., Farina C., Izzi G., Presutti L., Principessa M. L’attività dei Posti di Ispezione Frontaliera e Uffici Veterinari per gli adempimenti comunitari 2016. A cura di: Ministero della Salute - Direzione Generale della Sanità Animale e dei Farmaci Veterinari.
9. DPR 327/80 Disciplina igienica per norme alimentari. Regolamento di esecuzione della Legge 30 aprile 1962, n.283, e successive modificazioni, in materia di disciplina igienica della produzione e della vendita delle sostanze alimentari e delle bevande. GU n. 193 del 16 luglio 1980

10. Legge Regionale 20 giugno 2003, n. 13 Riorganizzazione del Servizio Sanitario Regionale.
11. Legge regionale 1 agosto 2011, n. 17. "Ulteriori modifiche della Legge Regionale 20 giugno 2003, n. 13: "Riorganizzazione del Servizio Sanitario Regionale", della Legge regionale 17 luglio 1996, n. 26: "Riordino del Servizio Sanitario Regionale" e modifica della legge regionale 22 novembre 2010, n. 17" Riferiti a Regione Marche.
12. Lena R., Gargiulo M., Agostini C. Ministero della Salute, RASFF Rapid Alert System for Food and Feed, Sistema di Allerta Rapido per Alimenti e Mangimi; 2016.
13. Nanni R., Toni F. Manuale per il personale di vigilanza e ispezione delle A.U.S.L. Tecnico della prevenzione, Maggioli Editore, 2004.
14. Pisanello D., Biglia C., Pellicano C.M. Guida alla legislazione alimentare. L'applicazione pratica, il controllo ufficiale, l'audit, le responsabilità, le sanzioni, l'etichettatura, la pubblicità, cap.1, pagg. 69-70; cap. 5, pagg. 249-255; EPC LIBRI, 2010.
15. Regolamento (CE) n. 178/2002 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 28 gennaio 2002, che stabilisce i principi e i requisiti della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare. G.U. CE L 31 del 1 febbraio 2002.
16. Regolamento (CE) n. 853/2004 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004 che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale.
17. Regolamento (CE) n. 854/2004 DEL Parlamento europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004 che stabilisce norme specifiche per l'organizzazione di controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano. GU L 139 del 30 aprile 2004.

18. Regolamento (CE) n. 882/2004 del Parlamento Europeo e del Consiglio, del 29 aprile 2004, relativo ai controlli ufficiali intesi a verificare la conformità alla normativa in materia di mangimi e di alimenti e alle norme sulla salute e sul benessere degli animali. GU L 165 del 30 aprile 2004.
19. Regolamento (CE) n. 2073/2005 della Commissione del 15 novembre 2005, sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari. G.U. CE L 338 del 22 dicembre 2005.
20. Report finale - Cluster di Listeriosi nelle Marche: aspetti epidemiologici e studio delle fonti di infezione; Regione Marche Giunta Regionale, Agenzia Regionale Sanitaria

7.1 SITOGRAFIA:

1. European Centre for Disease Prevention and Control. Listeria. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2016. Stockholm: ECDC; 2018 (Consultato il 17 Luglio 2019 all'indirizzo https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER_for_2016-listeriosis.pdf)
2. Listeriosi (Consultato il 22 Luglio 2019 all'indirizzo http://www.izslt.it/listeriosi/)
3. Listeria Informazioni generali (Consultato il 3 Agosto 2019 all'indirizzo https://www.epicentro.iss.it/listeria/)
4. Epidemiologia e controllo della listeriosi nella Regione Marche Zizzi c. 2016 (Consultato il 2 Luglio 2019 all'indirizzo https://www.epicentro.iss.it/listeria/)

ALLEGATO 1

Normative Comunitarie

1) Reg. CE n. 178/2002, introduce il principio fondamentale di un approccio integrato di filiera, considerando l'intera catena di produzione un unico processo. Esso stabilisce i principi generali della legislazione alimentare atti a garantire la sicurezza degli alimenti. Istituisce l'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA), la quale fornisce consulenza e assistenza scientifiche sui rischi associati agli alimenti, contribuendo ad un livello elevato di tutela della vita e della salute umana, e un sistema di allerta rapido (RASFF, "Rapid Alert System for Food and Feed"), sotto forma di rete, per la notifica in tempo reale di rischi diretti o indiretti per la salute, associati ad alimenti (o mangimi), a cui partecipano gli Stati membri, la Commissione Europea e l'EFSA.

2) "Pacchetto Igiene" (Reg. CE n.852/04; Reg. CE n.853/04; Reg. CE n. 854/04; Reg.CE n. 882/04), in vigore dal 2006, ha uniformato la legislazione degli Stati membri, definendo i medesimi requisiti di sicurezza alimentare. Esso ha identificato e distinto le singole responsabilità attribuendo, agli Operatori del Settore Alimentare (OSA), la corretta applicazione delle norme in materia di igiene e, alle Autorità competenti, l'incarico del controllo ufficiale sulla conformità degli operatori alla normativa. In particolare, i Regolamenti CE nn. 852-853/04, dettano le disposizioni generali e specifiche in materia di igiene dei prodotti alimentari e sono rivolti agli OSA, mentre i Regolamenti CE nn. 854-882/04, riguardano l'organizzazione dei controlli ufficiali da parte delle Autorità Competenti.

3) Reg. CE n.2073/2005, applicabile dal 2006, stabilisce i criteri microbiologici riferiti ai prodotti alimentari e si rivolge prevalentemente agli Operatori del Settore Alimentare (OSA). Secondo il Reg. CE n.178/2002, "l'operatore del settore alimentare è la persona fisica o giuridica responsabile di garantire il

rispetto delle disposizioni della legislazione alimentare nell'impresa alimentare posta sotto il suo controllo".

Al fine di contribuire alla protezione della salute pubblica, i criteri microbiologici istituiti dal Reg. CE n.2073/05, devono essere osservati dagli Operatori del Settore Alimentare nella produzione di alimenti destinati al consumo umano; indicano l'accettabilità di un prodotto alimentare o di una partita, compresi i relativi processi di lavorazione, manipolazione e distribuzione e vendita al dettaglio, in base all'assenza, presenza, quantità di microrganismi e/o ai relativi metaboliti e tossine per unità di massa, volume, area o partita. Tali criteri sono distinti in: «criteri di sicurezza alimentare», i quali definiscono l'accettabilità di un prodotto o di una partita alimentare e sono applicabili ai prodotti immessi sul mercato e, «criteri di igiene di processo», che indicano il funzionamento accettabile del processo di produzione. Gli Operatori del Settore Alimentare hanno la responsabilità primaria della salubrità e sicurezza degli alimenti, garantendo che tutte le fasi di produzione, trasformazione e distribuzione soddisfino i requisiti in materia di igiene (Reg. CE n.852/04); sono tenuti a rispettare i criteri microbiologici e adottare azioni e interventi correttivi in caso di non conformità ai requisiti di legge (Reg. CE n. 2073/2005).

I criteri microbiologici rappresentano uno strumento di monitoraggio sull'efficacia delle procedure HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point), un sistema finalizzato ad aiutare gli Operatori del Settore Alimentare a conseguire un livello elevato di sicurezza alimentare (Reg CE 852/2004).

Il Reg. CE 2073/2005 indica all'Operatore le norme specifiche sul metodo di analisi e le modalità di campionamento, le quali vengono inserite all'interno del piano di autocontrollo (sistema di prevenzione dei pericoli e gestione dei rischi) dell'impresa alimentare.

Per il criterio di sicurezza alimentare *L.monocytogenes*, gli OSA eseguono controlli su alimenti pronti al consumo, i cosiddetti ready-to-eat foods (RTE, alimenti pronti che non necessitano di cottura o altri trattamenti per ridurre a

un livello accettabile o eliminare i microrganismi presenti), procedendo anche al prelievo di campioni dalle aree di lavorazione e dalle attrezzature negli stabilimenti, che realizzano prodotti pronti, per valutare l'efficacia delle procedure di pulizia e sanificazione.

Il Reg. n. 2073/2005 ha stabilito determinati limiti di presenza di *L.monocytogenes* negli alimenti, nell'ambito dei criteri di sicurezza alimentare (CSA). Tali criteri, oltre ad essere utilizzati dall'Operatore del Settore Alimentare nel contesto delle pratiche di gestione della sicurezza, vengono applicati anche ai campioni prelevati dalle Autorità Competenti, per la verifica della conformità degli alimenti, durante i controlli ufficiali.

La ricerca del criterio di sicurezza *L.monocytogenes* è prevista solo nelle seguenti categorie di prodotti alimentari:

a) Alimenti pronti destinati ai lattanti ("alimenti per lattanti: i prodotti alimentari destinati alla particolare alimentazione dei lattanti nei primi quattro-sei mesi di vita, in grado di soddisfare da soli al fabbisogno nutritivo di questa fascia di età"; definiti dalla Direttiva 91/321 CEE), e ai fini medici speciali, ("alimenti dietetici destinati a fini medici speciali, una categoria di prodotti alimentari per fini nutrizionali particolari, lavorati o formulati in maniera speciale e destinati alla dieta di pazienti, da utilizzare sotto la sorveglianza di un medico"; definiti dalla Direttiva 1999/21/CE) .

In essi è prescritta l'assenza di *L.monocytogenes* in 25 mg di prodotto immesso sul mercato, per l'intero periodo di conservazione (shelf life, "vita del prodotto sullo scaffale"), inteso come "il periodo che corrisponde al periodo che precede il termine minimo di conservazione o la data di scadenza", stabilito dagli Articoli 9 e10 della Direttiva 2000/13/CE.

b) Alimenti pronti ("i prodotti alimentari destinati dal produttore o dal fabbricante al consumo umano diretto, senza che sia necessaria la cottura o altro trattamento per eliminare o ridurre a un livello accettabile i microrganismi presenti"; (Reg. CE 2073/2005).

Nei prodotti ready to eat (RTE), diversi da quelli destinati ai lattanti e ai fini medici speciali, si valuta la capacità dell'alimento di sostenere e promuovere la crescita del batterio.

I limiti di accettabilità sono diversi a seconda che si tratti di alimenti pronti che:

- costituiscono terreno favorevole alla crescita di *L.monocytogenes*, tutti i prodotti con una vita commerciale superiore a 5 giorni e pH > 4.4, oppure aw (activity water) >0.92, oppure pH > 5.0 e, contemporaneamente, aw > 0.94.

L'Operatore del Settore Alimentare deve dimostrare che il prodotto, immesso nel mercato, non superi 100 ufc/g, durante l'intero periodo di conservabilità oppure, se non è in grado di darne prova, dovrà garantire l'assenza di *L. monocytogenes* in 25g di prodotto, fino a che l'alimento è sotto il controllo diretto del produttore;

- non costituiscono terreno favorevole alla crescita di *L.monocytogenes*; rientrano in questa categoria i prodotti con una shelf life inferiore a 5 giorni, oppure, alimenti con pH ≤ 4.4 o aw ≤ 0.92, oppure pH ≤ 5 associato ad aw ≤ 0.94 , come indicato nella nota n. 8, Cap.1 Allegato I, del Reg. CE 2073/2005.

In questo caso è prescritto il limite di 100 UFC/g, per il prodotto commercializzato nell'intero periodo di conservabilità.

Le attività di controllo ufficiale delle Autorità Competenti, per la verifica del rispetto dei criteri di sicurezza alimentare, previsti dal Reg. CE n. 2073/2005, da parte degli Operatori del Settore Alimentare, sono finalizzate a garantire l'accettabilità che gli alimenti devono avere una volta messi in commercio, destinati al mercato nazionale, comunitario o esportati in uno Stato terzo.

Come contemplato nel Reg. CE n. 882/04, i controlli ufficiali devono essere eseguiti periodicamente con regolarità e senza preavviso, con una frequenza proporzionata al rischio identificato e associato alle aziende del settore alimentare e ai relativi prodotti, tenendo conto anche dei precedenti dati, relativi alla conformità o non conformità ai requisiti di legge degli Operatori del

Settore Alimentare, all'affidabilità dei controlli già eseguiti e a qualsiasi informazione, che dimostri assenza di conformità.

È necessario valutare l'intera catena di produzione come un singolo complesso e garantire che gli alimenti a rischio non siano immessi sul mercato;

La normativa europea, tramite il Reg. CE n.178/2002, ha stabilito precisi obblighi che prevedono adeguate procedure di tracciabilità e rintracciabilità degli alimenti e dei relativi ingredienti, mediante le quali, l'Operatore del Settore Alimentare è in grado di ritirare (se non ha raggiunto il consumatore finale) o richiamare (se ha raggiunto il consumatore finale) il prodotto o la partita contaminati. La collaborazione degli OSA è necessaria per consentire alle Autorità Competenti di effettuare i controlli ufficiali in maniera efficace.

La qualità microbiologica del prodotto o partita esaminata è dimostrata dai seguenti risultati, riferiti ad ogni unità campionaria sottoposta a prova.

Secondo l'esito delle prove si avranno:

- risultati soddisfacenti: nessuna misura da adottare;

- risultati non soddisfacenti: superamento dei limiti previsti dal Reg. CE n.2073/2005.

Il laboratorio ufficiale considera il campione "non conforme" e viene sottoposto ad ulteriore indagine, per accertare la causa dell'esito insoddisfacente.

In seguito a risultati non soddisfacenti, si procede con la segnalazione all'Operatore del Settore Alimentare, il quale adotta misure per accertare la causa di non conformità del prodotto e seguirà l'imposizione di misure correttive, sotto il controllo dell'Autorità attivazione delle procedure di ritiro o richiamo dell'alimento o partita non conforme.

I risultati delle prove, oltre ad essere interpretati, possono essere utilizzati come prova di efficacia della procedura HACCP o di corretta igiene del processo.

ALLEGATO 2

Normative Regionali

Il Reg. CE n. 882/2004 prevede che ciascun Stato Membro elabori un Piano di Controllo Nazionale Pluriennale, che contenga le informazioni generali sulla struttura e sull'organizzazione dei sistemi di controllo ufficiali a livello nazionale, regionale e locale.

Nella Regione Marche, la revisione del PRI (Piano Regionale Integrato) è stata approvata con la delibera di giunta del 19 ottobre 2015, n.880.

Sulla base di tale contesto normativo, sono stati predisposti atti per la regolamentazione dell'attività di controllo ufficiale dei servizi territoriali, presso le imprese alimentari, comprensivi dell'attività di campionamento degli alimenti.

Tutti gli stabilimenti che svolgono attività di produzione, trasformazione e distribuzione nel settore alimentare devono essere obbligatoriamente registrati (Reg. CE n.852/04); l'obbligo di registrazione riguarda anche i produttori primari; gli Operatori del Settore Alimentare che producono, trasformano e commercializzano prodotti di origine animale, devono essere riconosciuti dall'Autorità sanitaria competente (Reg. CE n. 853/04). Con riferimento al Reg. CE n. 882/2004, i controlli ufficiali devono essere eseguiti periodicamente in base alla valutazione dei rischi e con frequenza appropriata.

La Regione Marche, al fine di garantire l'efficacia dei controlli nel settore alimentare, ha emanato:

1) D.D.P.F. VSA n. 45/2015, di modifica del DDPF n.156/2006, che fornisce le linee guida per i Dipartimenti di Prevenzione, per la valutazione del rischio delle imprese alimentari ai fini del controllo ufficiale.

Definisce le modalità di esecuzione e le frequenze dei controlli ufficiali, negli stabilimenti di produzione (riconosciuti/registrati) e nelle ristorazioni collettive, che effettuano preparazioni, eseguiti per il riconoscimento degli stabilimenti e

per il mantenimento dei requisiti previsti in base alla categorizzazione del rischio, attraverso l'ispezione, l'audit e il campionamento.

La categorizzazione delle imprese rappresenta un elemento fondamentale per definire la programmazione dei controlli ufficiali e stimare un'appropriata frequenza, che sarà proporzionata al rischio associato alle aziende e ai relativi alimenti prodotti, tenendo conto anche delle caratteristiche produttive del territorio e delle risorse disponibili.

Per la classificazione degli stabilimenti alimentari, in base al livello di rischio igienico-sanitario, vengono adottati determinati criteri di valutazione raggruppati in sei categorie:

a) caratteristiche dello stabilimento: data di costruzione o di ristrutturazione significativa; condizioni generali e di manutenzione e condizioni igieniche di lavorazione;

b) entità produttiva: dimensione dello stabilimento; dimensioni del mercato servito;

c) caratteristiche dei prodotti: complessità delle attività produttive; grado di deperibilità; destinazione d'uso;

d) sistema di autocontrollo: completezza formale dei piani di autocontrollo; grado di applicazione ed adeguatezza del piano;

e) igiene della produzione: professionalità e disponibilità alla collaborazione del personale; formazione igienico sanitaria e competenza degli addetti;

f) dati storici: irregolarità e non conformità pregresse e presenti riscontrate.

Ad ogni stabilimento viene attribuito un dato numerico relativo alla categorizzazione, direttamente proporzionale al rischio. La categorizzazione degli stabilimenti è sottoposta ad una rivalutazione periodica, con frequenza almeno biennale, salvo irregolarità o riscontro di non conformità.

2) D.D.P.F. n.3/2009, fornisce le linee di indirizzo per la programmazione dei controlli ufficiali sugli stabilimenti di produzione, definendo modalità e frequenze di controllo minime, basate sulla categorizzazione del rischio, sugli stabilimenti produzione all'ingrosso di alimenti. Tra le modalità viene dettagliata l'attività di ispezione, verifica e audit.

3) D.D.P.F. VSA n.38/2013, indica le linee di indirizzo per la programmazione dei controlli, negli Stabilimenti che operano al dettaglio, intesi a verificare la conformità della normativa in materia di igiene e sicurezza alimentare, ai sensi del

Reg. CE n. 852/04; tale decreto ha permesso di allargare il concetto di categorizzazione delle imprese anche alle realtà produttive che operano prevalentemente al dettaglio (come supermercati e ipermercati, gastronomie/rosticcerie, macellerie, produzione/vendita formaggi, etc.) e di definire una classificazione degli stabilimenti in base al rischio per categorie omogenee di attività (attività operanti prevalentemente al dettaglio, trasporti, ristorazione pubblica, ristorazione collettiva) e non più per singola unità.

Gli strumenti del controllo ufficiale sono l'ispezione (condizioni strutturali, condizioni igienico gestionale, piano di autocontrollo, controllo documentazione) e l'audit, che riguarda le procedure di buone prassi igieniche e quelle basate sull'HACCP. Nella ristorazione collettiva e nella grande distribuzione organizzata (GDO).

ALLEGATO 3

Il Sistema di Allerta Rapido

In caso di riscontro di alimenti che risultano essere un grave rischio per la salute del consumatore, utilizzando il RASFF, che può essere definito come una procedura codificata, si riesce a garantire la rapidità delle comunicazioni e dei provvedimenti da adottare per scongiurare il rischio o mantenerlo a livelli accettabili.

L'11 gennaio 2011 è stato pubblicato il nuovo regolamento UE n. 16/2011, per aggiornare le procedure del RASFF e per migliorare il coordinamento tra le Amministrazioni sanitarie degli Stati membri, l'EFSA e la Commissione europea. Inoltre, il Regolamento 16/2011 ha stabilito due tipologie di segnalazione di allerta: notifica di allarme e notifica di informazione.

La Regione Marche, con Delibera di Giunta Regionale n. 1454 del 15/10/2012, ha emanato le linee guida relative al sistema di allarme rapido per gli alimenti e i mangimi ai sensi del regolamento UE n. 16/2011.

Punti di contatto

Il sistema di allerta rapido è composto dai diversi membri della rete che scambiano informazioni tra di loro. In particolare, tra questi possiamo trovare uno stato membro dell'unione, la commissione europea, l'EFSA, paesi terzi o organizzazioni internazionali che abbiano stabilito un accordo con l'Unione Europea, che vanno a designare un punto di contatto che li rappresenti.

Nel sistema di allerta rapido per gli alimenti e i mangimi, sono coinvolti quindi i seguenti soggetti:

- P.F. Prevenzione Veterinaria e Sicurezza alimentare della Regione Marche;
- Competenti Servizi SIAN (Servizio Igiene Alimenti e Nutrizione)/SIAOA()/SIAPZ (Servizio Igiene degli Allevamenti e delle Produzioni Zootecniche) delle Aree Vaste;

- Uffici periferici Ministero della Salute;
- Ministero della Salute: Dipartimento della Sanità Pubblica Veterinaria, della Sicurezza Alimentare e gli Organi Collegiali per la tutela della salute.

Competenze, funzioni e responsabilità

All'interno del RASFF, è importante definire le singole competenze che, se rispettate correttamente, garantiscono un buon funzionamento dell'intero sistema.

La P.F. Prevenzione Veterinaria e Sicurezza Alimentare della Regione Marche rappresenta il Nodo Regionale.

È quindi il punto di contatto designato dalla Regione per lo scambio rapido e capillare delle informazioni con gli altri componenti della rete (nodi regionali e ministero) e con i competenti servizi territoriali.

Ha dunque la responsabilità di gestire i Sistemi d'Allerta in arrivo ed in partenza ed i rapporti con gli altri punti di contatto. Coordina tutte le operazioni successive alla segnalazione del prodotto oggetto di allarme con la possibilità di disporre ulteriori provvedimenti qualora lo ritenga necessario.

Il Nodo Regionale può anche produrre e rendere noti rapporti periodici (report) relativi alle allerte gestite, che possono essere utilizzati per la programmazione dell'attività del Controllo Ufficiale.

Il Direttore SIAOA, è il responsabile a livello territoriale del Sistema di Allerta e dell'attivazione delle varie procedure conseguenti.

Una volta stabilita ed identificata la gravità del rischio, il periodo di vita commerciale del prodotto, l'ampiezza della rete di commercializzazione per quanto di competenza, ha il compito di stabilire le procedure operative da adottare, le tempistiche e gli esercizi da controllare.

Il Dirigente Veterinario SIAOA è responsabile dell'attivazione tempestiva del sistema di allerta, coordina le attività conseguenti e mantiene i contatti con il Nodo Regionale P.F. Veterinaria ed altri soggetti interessati (es. altre aree vaste, ASL, Imprese, ecc.).

Il Tecnico della Prevenzione SIAOA, in caso di attivazione di allerta, collabora ed opera con il Direttore SIAOA e il Dirigente Veterinario nell'effettuazione dell'indagine epidemiologica. In particolare, si occupa di acquisire dati ed effettuare verifiche attraverso controlli ufficiali ed eventuali campionamenti.

A seguito dei sopralluoghi quindi, il personale ispettivo dovrà aver raccolto tutti i dati, le informazioni e la documentazione necessaria per relazionare al Direttore/ Dirigente SIAOA quanto rilevato e per procedere poi alla compilazione della modulistica e degli allegati previsti tramite S.I.V.A. per il successivo inoltro al Nodo Regionale PF Veterinaria. Queste attività di verifica sono coordinate dal Tecnico della Prevenzione Coordinatore che deve garantire che l'attivazione dei sopralluoghi e delle altre attività avvenga entro i tempi stabiliti.

Attivazione del sistema di allerta: procedure di notifica e gestione del flusso informativo

Il sistema di allerta viene attivato quando un membro della rete dispone di informazioni relative all'esistenza di grave rischio per la salute dei consumatori. E' suo compito trasmetterle immediatamente a tutti i membri della rete interessati nell'allerta permettendo una diramazione rapida dell'allarme.

In particolare la segnalazione va effettuata qualora un alimento o un mangime non risponda ai requisiti di sicurezza definiti rispettivamente dagli articoli 14 e 15 del Regolamento (CE) 178/2002.

L'articolo 7 del Regolamento CE 178/2002 definisce il principio di precauzione.

Qualora in determinate circostanze, si abbiano informazioni che possano far sospettare la possibilità di effetti dannosi per la salute, pur non disponendo di dati scientifici e quindi pur essendo in una situazione di incertezza, occorre procedere all'attivazione immediata del sistema di allerta e possono essere adottate le misure provvisorie di gestione del rischio necessarie per garantire un livello elevato di tutela della salute.

Le misure adottate devono essere proporzionate e possono prevedere la restrizione del prodotto dal commercio. Queste poi saranno riesaminate entro un periodo di tempo idoneo per una valutazione più esauriente del rischio grazie alle informazioni scientifiche che perverranno successivamente

Esistono differenti tipologie di notifica che vanno a codificare l'attivazione del sistema di allerta:

1. NOTIFICA ORIGINALE: Può essere una notifica di allerta, di informazione o di respingimento alla frontiera.

- Allerta: quando un alimento presente sul mercato rappresenta un serio rischio e richiede un intervento immediato;

- Informazione: quando un alimento presente sul mercato rappresenta un possibile rischio, ma non richiede un intervento immediato. Può essere a sua volta una notifica di informazione per follow-up se è relativa ad un prodotto già presente o che potrebbe essere immesso sul mercato oppure una notifica di informazione per attenzione se è relativa a un prodotto che è presente solo nel paese membro notificante o che non è stato immesso sul mercato o non è più nel mercato;

- Respingimento alla frontiera: quando un alimento presenta delle irregolarità e viene bloccato alla frontiera di uno dei paesi UE.

2. NOTIFICA DI FOLLOW-UP: ovvero una notifica contenente informazioni supplementari rispetto alla notifica originale, relative al prodotto oggetto di notifica o al rischio riscontrato. Ad esempio, una notifica di follow-up può essere fatta a seguito di successive diramazioni della rete commerciale, di misure volontarie prese dalla ditta, di cambio di destinazione d'uso ecc. e dovrà essere inoltrata sempre tramite sistema S.I.V.A. con la compilazione del modello di Follow-up.

Quando l'impresa soggetta a controllo ha distribuito il prodotto oggetto del sistema di allerta ad altre imprese alimentari, è molto importante per l'autorità competente acquisire l'elenco dettagliato dei clienti (di norma in formato elettronico). L'articolo 18 Regolamento CE 178/2002, infatti stabilisce che per la rintracciabilità, gli operatori del settore alimentare devono disporre di sistemi, procedure e documentazione che consentano di mettere a disposizione delle autorità competenti, che le richiedano, le informazioni riguardo chi abbia fornito loro un alimento e le imprese alle quali hanno fornito i propri prodotti.

La rapidità delle comunicazioni e quindi la rapidità con cui l'impresa attiva la procedura di ritiro dei prodotti dal commercio e fornisce l'elenco clienti all'organo di controllo per la successiva trasmissione a tutti i componenti della rete interessati, assume quindi un ruolo fondamentale per l'efficacia dell'intero sistema di allerta.

Tutte le comunicazioni tra gli uffici coinvolti devono avvenire in modo tale da garantire la tempestività dello scambio di informazioni, in particolare:

- a livello locale: sistema "paleo", e-mail aziendale;

- a livello regionale: sistema informatico S.I.V.A.

<u>Ritiro, richiamo e avviso di sicurezza</u>

In riferimento all'art. 19 del Reg. CE 178/2002 ("Obblighi relativi agli alimenti: operatori del settore alimentare") e alla nota ministeriale del 15 dicembre 2016

(“Procedure per il richiamo di prodotti non conformi e avvio del sistema di pubblicazione dei dati inerenti i prodotti richiamati”), si identificano tre concetti fondamentali alla base di tutto il sistema di allerta italiano: il ritiro, il richiamo e l’avviso di sicurezza.

Il ritiro consiste in qualsiasi misura adottata dall’operatore o dall’Autorità competente volta ad impedire la distribuzione e la disponibilità ai consumatori di prodotti non conformi ai requisiti di sicurezza alimentare. La misura si rende necessaria quando un prodotto viola i requisiti di legge. Tra le violazioni più frequenti, vanno segnalati gli errori sull'etichetta per scambio di componenti, data di scadenza sbagliata e gli aromi sgradevoli per via del packaging. In questo caso, i lotti vengono ritirati senza informare i consumatori perché non sussiste un pericolo per la salute.

Il richiamo consiste in qualsiasi misura di ritiro del prodotto a carico dell’OSA, rivolta anche al consumatore finale.

E’ una procedura obbligatoria, da adottare quando l’alimento potrebbe rappresentare un pericolo per la salute e si trova sugli scaffali dei punti vendita, oppure è stato in parte acquistato.

I responsabili dei punti vendita, quando ricevono la comunicazione dell’avvio delle procedure di ritiro da parte del produttore, sono tenuti a informare i clienti cercando di dare la massima visibilità alla notizia, attraverso cartelli da esporre nei punti vendita, il sito o le pagine dei Social Network.

L'operatore deve informare i consumatori in maniera efficace e accurata precisando il motivo del richiamo e definendo le istruzioni sulle modalità di riconsegna del prodotto acquistato.

Al fine di garantire un più ampio e tempestivo accesso alle informazioni ai consumatori è stato implementato un sistema che consente la pubblicazione dei richiami sul sito web del Ministero direttamente da parte delle Regioni o, su disposizione regionale, da parte delle ASL.

Pertanto, in tutti i casi in cui venga disposto il richiamo, gli OSA devono scaricare dal sito del Ministero l'apposito modello, compilarlo elettronicamente e trasmetterlo alla ASL competente per territorio.

La ASL a sua volta, valutata l'appropriatezza, provvederà, se delegata dalla Regione, a pubblicare sul sito del Ministero il modello, altrimenti provvederà a farlo direttamente la Regione.

L'avviso di sicurezza consiste in una forma di comunicazione via web tramite apposita sezione utilizzata dal Ministero, diversa rispetto al richiamo dell'OSA.

In caso di attivazione del sistema di allerta, il servizio competente dell'ASUR deve: verificare l'immediato avvio delle procedure di ritiro dal mercato, assicurarsi che il prodotto sia stato effettivamente ritirato dal commercio, esaminare la gestione del prodotto già ritirato, acquisire la lista di distribuzione del prodotto.

Nel caso in cui si verifichi la presenza di qualche inadempienza e non rispetto delle disposizioni impartite, è fondamentale disporre ogni azione sostitutiva necessaria per la tutela della salute pubblica e adottare provvedimenti sanzionatori.

ALLEGATO 4

Le Malattie a trasmissione alimentare: Obblighi Normativi

Il D.Lgs. 191/2006 sancisce, all'art. 7 comma 2 per i Servizi del Dipartimento di Prevenzione competenti, l'obbligo dell'investigazione sui casi di MTA, al fine di acquisire dati sul profilo epidemiologico, sugli alimenti coinvolti e sulle cause potenziali del focolaio, attraverso i quali implementare azioni di contenimento del rischio.

Ai sensi del Decreto Ministeriale 15 dicembre 1990, la notifica di malattia infettiva costituisce un obbligo per il Medico (Medico di Medicina Generale, Pediatra di Libera Scelta, Medico Ospedaliero ecc.) che viene a conoscenza di un caso di qualunque malattia infettiva e diffusiva o sospetta di esserlo.

I medici sono tenuti alla segnalazione tempestiva per alcune patologie a trasmissione alimentare, sia dei casi singoli/sporadici accertati e sospetti che dei focolai epidemici.

Per le MTA il Medico notificante trasmette la segnalazione dei casi accertati o sospetti al Servizio Igiene e Sanità Pubblica (SISP) del Dipartimento di Prevenzione per vie formali, attraverso la notifica inviata anche per via telematica o fax, o per vie informali tramite telefono, da confermare successivamente.

Il SISP a sua volta trasmetterà la documentazione ai servizi competenti secondo la categoria dell'alimento.

Se l'alimento è di origine animale, invierà la documentazione al Servizio Igiene degli Alimenti di Origine Animale, se è di origine vegetale al Servizio Igiene Alimenti e Nutrizione, se è di origine mista, la invierà ad entrambi i servizi.

Presso tali servizi e in generale presso il Dipartimento di Prevenzione, possiamo trovare personale con diverse qualifiche professionali tra cui: Medici, Medici Veterinari, Assistenti sanitari e Tecnici della Prevenzione nell'ambiente e nei luoghi di vita e di lavoro.

Quando i Servizi competenti ricevono l’indagine epidemiologica, adottano le misure ed i provvedimenti dovuti ed effettuano i controlli necessari.

ALLEGATO 5

La Notizia di Reato

Il D.M. 17 gennaio 1997, n. 58 individua la figura del Tecnico della Prevenzione che viene definito come operatore sanitario a cui tra i diversi compiti, viene attribuita la responsabilità di prevenzione, verifica e controllo in materia di igiene degli alimenti e delle bevande.

L'articolo 1, comma 2 prevede che il Tecnico della Prevenzione nell'Ambiente e nei Luoghi di Lavoro operante nei servizi con compiti ispettivi e di vigilanza è, nei limiti delle proprie attribuzioni, Ufficiale di Polizia Giudiziaria (UPG). Una volta acquisita una notizia di reato, è pertanto soggetto all'obbligo di riferirla al Pubblico Ministero (P.M.).

Tale acquisizione può avvenire da fonti non qualificate (anonimi, informatori, articoli di stampa) oppure da fonti qualificate (denuncia o querela da parte di privati, oppure a seguito di referto).

Solitamente nel settore alimentare la notizia di reato è acquisita a seguito delle normali attività istituzionali svolte dal personale ispettivo in veste di Ufficiale di Polizia Giudiziaria (UPG), in particolare durante le attività di controllo di stabilimenti o aziende e a seguito di esito sfavorevole di analisi di laboratorio di un campione di un prodotto alimentare prelevato.

Secondo l'art. 347 c.p.p., una volta acquisita la notizia di reato, la polizia giudiziaria riferisce senza ritardo al pubblico ministero, per iscritto, gli elementi essenziali del fatto e gli altri elementi sino ad allora raccolti, indicando le fonti di prova e le attività compiute, delle quali trasmette la relativa documentazione.

Il termine di invio non è specificato dalla legge ma comunque dovrà avvenire in tempi abbastanza brevi tali da non compromettere lo svolgimento delle indagini. Le tempistiche di trasmissione sono dunque a discrezione degli operatori.

In caso di frode tossica o comunque dannosa per la salute dei consumatori, l'ufficiale di polizia giudiziaria è tenuto ad inoltrare tempestivamente la denuncia.

Talvolta, in particolari casi di urgenza può essere anticipata al P.M. in forma orale, anche se non sono stati ancora identificati gli autori del fatto.

La notizia di reato dovrà essere particolareggiata, si dovrà evitare quindi di trasmettere un contenuto sommario e poco dettagliato.

La notizia di reato "ideale" è quella che contiene tutte le informazioni necessarie ed esaustive tali da consentire al P.M. di ricostruire e ricavare le sue conclusioni del fatto senza dover chiedere ulteriori chiarimenti. Più sarà chiara, precisa e sintetica e più sarà facile procedere nell'iter processuale.

In ogni caso l'attività d'indagine non si esaurisce obbligatoriamente con l'invio della notizia di reato.

Gli UPG, se sarà necessario, possono e devono continuare la loro attività investigativa, anche se la notizia di reato è già stata inoltrata alla Procura della Repubblica.

Riassumendo, è importante dunque che la notizia di reato abbia queste caratteristiche ed elementi:

- Chiarezza e precisione: il contenuto deve essere particolareggiato e dettagliato ma non ripetitivo e confuso. Deve essere una descrizione chiara e comprensibile dei fatti: chi legge deve riuscire a cogliere il punto essenziale della vicenda, quindi chi scrive deve avere ben chiaro cosa ha accertato e perché lo ha fatto e se è un fatto penalmente rilevante.

- Descrizione delle operazioni compiute: eventuale acquisizione di documenti, sequestri, sopralluoghi, rilievi fotografici ecc. Tutti gli atti devono essere presenti come allegati alla notizia di reato e ordinatamente numerati.

- Identificazione dei soggetti: considerando che non è sempre semplice identificare gli autori del fatto e che la notizia di reato deve essere trasmessa anche in caso di mancata identificazione di questi, è molto importante, una volta preso atto della condotta penalmente rilevante, capire a chi debba essere attribuita.

- Assunzione di informazioni: può capitare spesso che per chiarimenti del fatto o per identificare gli autori del fatto sia necessario assumere informazioni testimoniali. Per ogni testimonianza occorre redigere uno specifico verbale che verrà allegato alla notizia di reato, indicando le generalità del testimone e mettendo per iscritto quanto dichiarato.

- Ipotesi di reato: a seguito delle investigazioni svolte e quindi alla valutazione dei fatti e delle condotte, gli UPG dovranno indicare le norme penali che ritengono essere state violate. Il P.M. non è vincolato a queste valutazioni ma procederà ad una sua personale ed attenta valutazione dei fatti, iscrivendo nel registro degli indagati i soggetti responsabili del reato (o anche ignoti, nel caso non si riesca a identificarli) e delle norme penali violate nel caso in esame.

- Documenti acquisiti: devono essere sempre indicati e riportati in allegato come ad esempio documenti commerciali, analisi, deleghe di funzioni, verbali di sequestro.

ALLEGATO 6

Il Campionamento

Il campione viene definito come un sottoinsieme di una totalità di elementi che è assunto a rappresentare la totalità stessa. Per avere un risultato analitico, affidabile e rappresentativo della merce sottoposta ad esame, è fondamentale che il campionamento venga svolto in maniera corretta e rigorosa. Solamente eseguendo un campionamento corretto si potrà avere un risultato analitico adeguato.

Per questo motivo, oltre alla corretta modalità di prelievo e di esecuzione del campione, anche il trasporto assume una importanza significativa. Occorre far sì che il campione arrivi al laboratorio in condizioni chimico-fisiche e microbiologiche non alterate rispetto alle condizioni esistenti al momento del prelievo. I campioni prelevati vanno perciò adeguatamente conservati e trasportati al laboratorio secondo una procedura e/o un protocollo riconosciuto. In particolare, è importante essere forniti di valigetta-borsa termica o frigo mobile per tutti quegli alimenti che vanno mantenuti a temperatura di refrigerazione.

Le più frequenti fonti di errore nella fase di prelevamento dei prodotti alimentari sono riconducibili principalmente a:

- Scarsa rappresentatività dei punti di campionamento dovuto ad esempio ad un prelevamento di materiale in un solo punto della partita o sotto partita;
- Scarsa omogeneità del campione.

Per avere un campione idoneo, si dovrà procedere ad un’attenta valutazione della matrice che si vuole prelevare ma anche valutare correttamente la quantità del campione che deve essere tale da non compromettere il corretto espletamento delle analisi.

Il campionamento può essere eseguito in tutti i punti della filiera alimentare. E' importante che il tipo di alimento corrisponda alle indicazioni del piano di campionamento regionale ma possono verificarsi eccezioni in relazione a circostanze contingenti quale tossinfezione alimentare o segnalazione di un consumatore finale.

Ogni aliquota prelevata va inserita in buste antimanomissione sigillate che devono riportare diverse informazioni: estremi dell'autorità che ha effettuato il campionamento, data del prelievo, identificazione delle varie aliquote (es. aliquota A, B, C, ecc.), estremi dell'azienda detentrice e/o produttrice, laboratorio di destinazione che effettuerà le analisi.

Allo stesso tempo, deve essere redatto un verbale di campionamento che dovrà contenere ai sensi dell'art. 15 del DPR 327/80: data, ora e luogo del prelievo, generalità e qualifica di chi effettua il prelievo, generalità dell'azienda detentrice e di chi ha assistito al prelievo, indicazione della natura della merce, la descrizione delle condizioni ambientali di conservazione e le indicazioni con cui è posta in vendita, o le diciture apposte sulle etichette e la dichiarazione se la merce è posta in vendita sfusa o in contenitori originali, con particolare cenno all'eventuale originalità ed integrità delle confezione, modalità seguite nel prelievo, la dichiarazione che il titolare dell'impresa o un suo rappresentante o il detentore ha trattenuto una copia del verbale e un campione, la dichiarazione che il verbale è stato letto, sottoscritto o non sottoscritto dal titolare o un suo rappresentante ed eventuali dichiarazioni, firma dei presenti al momento del campionamento.

Il numero di Aliquote

L'art. 6 del D.P.R. 327/80 indica che le quantità del campione da sottoporre ad analisi chimiche siano stabilite dall'allegato A dello stesso D.P.R. (salvo particolari disposizioni dell'autorità che ordina il prelievo o particolari ricerche in base alla tipologia di prodotto alimentare).

Di norma, per analisi chimiche, il campione deve essere costituito da 4 o 5 aliquote destinate:

- una al laboratorio per l'analisi di prima istanza;
- una per l'eventuale revisione delle analisi presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS);
- una a disposizione dell'autorità giudiziaria;
- una per la ditta detentrice (luogo di prelevamento);
- una per la ditta produttrice (luogo di preparazione e confezionamento);

La quinta aliquota può non essere prevista se il prelievo viene effettuato in un luogo dove l'impresa alimentare è anche la produttrice del prodotto. Si costituiranno allora 4 aliquote perché la figura giuridica del detentore e del produttore coincidono.

Il campione con aliquota unica viene costituito quando è necessario prelevare una matrice alimentare in quantità non sufficienti per allestire tutte le aliquote previste oppure quando il prodotto è altamente deperibile e la conservabilità e quindi data di scadenza, non consenta l'esecuzione di un'eventuale ripetizione delle analisi.

Nel prelevamento dell'aliquota unica è consentito prelevare una quantità di prodotto alimentare tale da formare l'aliquota irripetibile formata da eventuali unità campionarie (in base alle indicazioni previste per le varie casistiche nella specifica normativa comunitaria e/o nazionale). In questo caso, sul verbale di prelevamento dovrà essere indicata la data, il luogo e l'ora dell'apertura del campione, informando il responsabile della possibilità di presenziare alle analisi eventualmente anche con l'assistenza di un consulente tecnico.

8. RINGRAZIAMENTI

Al termine di questa tesi mi sembra doveroso ringraziare le persone che mi hanno fornito i dati per poter realizzare questo lavoro.

In particolare ringrazio il Dott. Matteo Moretti Tecnico della Prevenzione del Dipartimento di Prevenzione di Jesi che non solo mi ha permesso di accedere ai documenti e ai dati sul focolaio di Listeriosi in suo possesso, ma mi ha sostenuta, confortata e rassicurata come un fratello maggiore. Spero che sia fiero del risultato finale di questa tesi.

Un grazie speciale va anche alla Dott.ssa Chiara Cerioni tutor del Corso di Laurea Ostetricia che mi ha fornito i dati epidemiologici per fare una panoramica delle persone più colpite dalla listeriosi nella Regione Marche. Il ringraziamento si estende anche alla sua professionalità, estrema gentilezza e disponibilità con cui mi ha sempre trattato.