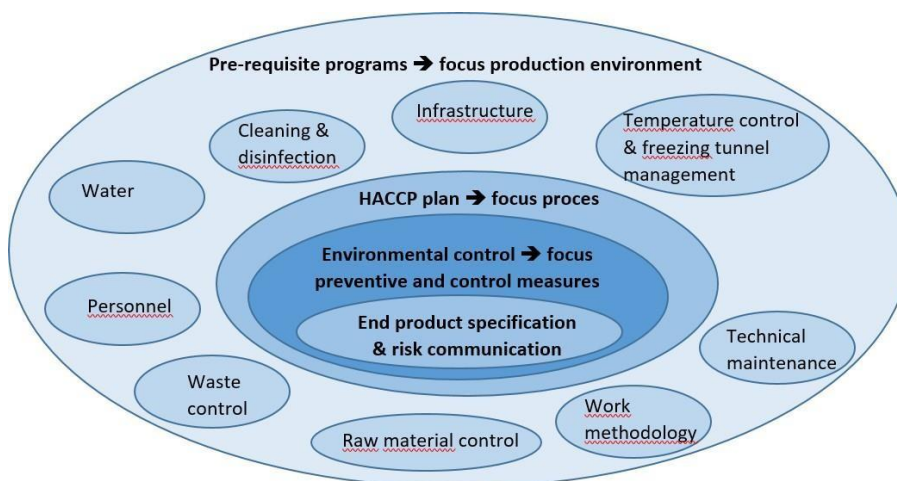


Recommandations d'hygiène aux fins de la maîtrise de *Listeria monocytogenes* lors de la production de légumes surgelés

Résumé

Une approche pluridisciplinaire est recommandée pour maîtriser le développement de *Listeria monocytogenes* (ci-après *L. monocytogenes*), une bactérie pathogène présente dans l'environnement, lors de la production de légumes surgelés. Un plan de maîtrise sanitaire des risques alimentaires (PMS), fondé sur des programmes prérequis (PRP, axés sur l'hygiène et l'organisation de l'environnement de production) et sur un plan HACCP (axé sur la maîtrise du processus), doit mettre entièrement l'accent sur *L. monocytogenes* afin d'empêcher l'organisme de coloniser son environnement et de persister dans des formations de biofilms complexes, ou de prévenir la contamination par l'organisme après le traitement (thermique) au cours de la manipulation ultérieure avant l'emballage. Le graphique 1 illustre les différents PRP et le plan HACCP applicables à la prévention et à la maîtrise de *L. monocytogenes*. L'environnement doit être maîtrisé afin de vérifier l'efficacité des PRP et du plan HACCP mis en œuvre et d'évaluer l'accumulation potentielle de *L. monocytogenes* dans l'environnement de production général. Enfin, les spécifications du produit fini doivent aider les exploitants du secteur alimentaire (ESA) à fixer des niveaux intermédiaires de risques de contamination par *L. monocytogenes* des produits finis, lorsqu'un PMS approprié est en place. La communication sur les risques et le partage d'informations à l'intention des utilisateurs de légumes surgelés doivent mentionner clairement l'utilisation correcte des produits surgelés afin d'éviter tout risque potentiel. Outre ces activités technico-managériales, un ESA doit également établir une culture de la sécurité et sensibiliser l'ensemble de l'organisation de la production à la prévention et à la maîtrise des dangers pour la sécurité alimentaire et des manquements aux règles d'hygiène. Les présentes recommandations portent sur les légumes surgelés, blanchis ou non, qui sont considérés comme des denrées alimentaires non prêtes à être consommées (nRTE). Il est également dans l'intérêt des ESA qui ont l'intention de mettre sur le marché des légumes surgelés prêts à être consommés (RTE) de suivre ces recommandations. Ils devraient toutefois suivre des mesures de prévention et de maîtrise supplémentaires afin de garantir la sécurité des produits RTE, mais ces mesures ne sont pas incluses dans le présent document.



Graphique 1. Schématisation des PRP (axés sur l'environnement de production général), du plan HACCP (axé sur le processus de production et les différentes étapes de la transformation), de la maîtrise de l'environnement (en tant que vérification des mesures de prévention et de maîtrise appliquées), des spécifications du produit fini et de la communication sur les risques à l'intention des utilisateurs (B2B et B2C) afin de prévenir et de maîtriser la contamination potentielle par *L. monocytogenes* lors de la production de légumes surgelés.

Champ d'application

Les présentes recommandations d'hygiène, qui comprennent un exemple de plan HACCP, se rapportent à la production commerciale de légumes surgelés (blanchis ou non) conformément à la législation applicable de l'Union européenne. L'objectif est d'établir une ligne directrice européenne applicable à la production de légumes surgelés et à la maîtrise sanitaire des risques alimentaires, depuis la réception des matières premières jusqu'aux produits finis emballés et prêts à être utilisés lors de l'étape suivante de la chaîne d'approvisionnement alimentaire; B2B ou B2C. Les ESA actifs dans la production et/ou le commerce de légumes surgelés peuvent se servir du présent document comme point de départ pour l'élaboration de leur PMS, de bonnes pratiques, de PRP et de principes HACCP. L'accent est mis sur la maîtrise du danger, à savoir la contamination par *L. monocytogenes*. Les autres dangers microbiologiques pertinents pour ces activités ou autres (dangers chimiques, dangers physiques, allergènes, etc.) ne sont pas abordés dans le présent document. Outre des légumes surgelés, certains ESA produisent également des herbes et/ou des fruits surgelés. Ces produits ne sont pas toutefois pas couverts par les présentes recommandations. Celles-ci portent sur les légumes surgelés, blanchis ou non, qui sont considérés comme des denrées alimentaires non prêtes à être consommées (nRTE). Il est également dans l'intérêt des ESA qui ont l'intention de mettre sur le marché des légumes surgelés prêts à être consommés (RTE) de suivre ces recommandations. Ils devraient toutefois suivre des mesures de prévention et de maîtrise supplémentaires visant à garantir la sécurité des produits RTE, mais ces mesures ne sont pas incluses dans le présent document.

Législation de l'UE applicable à la production de légumes surgelés

Les prescriptions générales relatives à la sécurité des denrées alimentaires, y compris l'obligation de ne mettre sur le marché que des denrées alimentaires sûres, sont énoncées dans le règlement (CE) n° 178/2002. La production hygiénique de denrées alimentaires dans l'UE est régie par le règlement (CE) n° 852/2004, en particulier son annexe II. Le présent document donne des exemples pratiques en complément de ces dispositions générales. Pour le présent document, l'article 9 du règlement (CE) n° 852/2004 relatif aux guides communautaires est respecté. La communication de la Commission européenne relative à la mise en œuvre d'un plan de maîtrise sanitaire du secteur alimentaire (C278/2016) est appliquée comme texte de base pour l'élaboration de bonnes pratiques, de PRP et de principes HACCP. Les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires sont régis par le règlement (CE) n° 2073/2005. Tous les documents juridiques pertinents sont énumérés à l'annexe I.

Autres documents pertinents

Les publications du Codex Alimentarius, les avis de l'EFSA, les pratiques générales d'hygiène élaborées par différentes autorités nationales ainsi que les articles et ouvrages scientifiques (énumérés à l'annexe II) en la matière sont autant d'outils qui proposent des recommandations supplémentaires.

Consultation des acteurs concernés

Lors de l'élaboration du présent document, une consultation a été organisée avec les groupes d'acteurs concernés: a) Copa Cogeca (production primaire), b) Hotrec et FoodServiceEurope (activités de restauration), c) ChilledFOODAssociation (transformateurs de repas prêts à être consommés), FoodDrinkEurope (industrie de la transformation), FRUCOM (importateurs de fruits et légumes), CULINARIA (sauces, épices et herbes), FRESHFEL (fruits et légumes frais, y compris produits frais coupés «4^e gamme»), d) EuroCommerce (association de commerçants) et e) BEUC (organisation représentative des consommateurs).

CLAUSE DE NON-RESPONSABILITÉ

Le présent document n'a aucune valeur juridiquement contraignante et ne contient que des recommandations. Il a été élaboré à des fins d'information uniquement. PROFEL ne garantit pas l'exactitude des informations fournies et décline également toute responsabilité quant à l'usage qui peut en être fait. Par conséquent, les informations fournies seront utilisées avec toutes les précautions requises et aux propres risques des

L'obligation de faire appliquer la législation de l'UE en matière de sécurité alimentaire incombe à la Commission européenne et aux autorités compétentes des États membres de l'UE. Les ESA actifs dans la production et/ou le commerce de légumes surgelés sont priés de contacter leur autorité compétente afin d'obtenir des informations complètes sur les exigences légales applicables dans leur État membre d'établissement.

Contenu

1. Introduction

1.1. Profil du secteur

En Europe, les légumes surgelés sont produits par quelque 145 entreprises. Il s'agit aussi bien de grandes multinationales produisant dans plusieurs États membres que de nombreuses PME. PROFEL, l'Organisation européenne des industries transformatrices de fruits et légumes, et dans une certaine mesure l'AETMD, l'Association européenne des transformateurs de maïs doux, sont les seules organisations représentant le secteur des légumes surgelés. Les membres sont à la fois des PME et des multinationales, qui emploient plus de 80 000 personnes. Le chiffre d'affaires annuel combiné des membres de PROFEL s'élève à environ 22 milliards d'euros, avec une production de près de 5,5 millions de tonnes uniquement pour le secteur des légumes (tant en conserve que surgelés). La production annuelle de légumes surgelés* dans l'UE est estimée à 4 millions de tonnes. Il existe environ 180 sites de production dans 18 États membres de l'UE. L'affiliation à PROFEL se fait principalement par l'intermédiaire de ses associations nationales. Tous les pays ne disposent pas d'associations nationales dans le secteur des légumes surgelés, et certaines entreprises y sont directement affiliées. Bien qu'il n'existe pas de chiffres officiels, les associations nationales estiment que les membres de PROFEL représentent 80 % de la production de légumes surgelés de l'UE.

*À l'exclusion des pommes de terre et des tomates, mais en ce compris le maïs doux surgelé.

1.2. Profil du produit

Les groupes de produits couverts par le présent document sont les légumes surgelés, y compris les légumes-racines et les légumes-tubercules, les légumes-bulbes, les légumes-fruits, les légumes du genre Brassica, les légumes-feuilles, les fleurs comestibles, les légumineuses et les légumes-tiges. Les fruits et les herbes sont exclus du présent document.

Les légumes surgelés peuvent être blanchis ou non. Ils peuvent être surgelés individuellement (IQF), les produits étant séparés les uns des autres, ou être surgelés en bloc. Ils sont emballés en vrac pour le marché B2B et la transformation ultérieure dans la chaîne alimentaire (restauration, production de repas prêts à être consommés, etc.) ou dans des emballages de petite taille pour le marché B2C. Les produits peuvent être commercialisés comme produit unique ou produit mélangé à d'autres légumes surgelés ou encore être combinés à d'autres produits alimentaires tels que du riz, des pâtes, de la sauce, du poisson ou de la viande surgelés.

1.3. *Listeria monocytogenes*

Bien qu'elle soit toujours considérée comme une bactérie pathogène zoonotique, *L. monocytogenes* est largement répandue dans la nature et dans la filière de transformation des denrées alimentaires. Elle est présente dans le sol, la végétation, les eaux usées, l'eau, les aliments pour animaux et les excréments d'animaux sains, y compris d'êtres humains. Elle peut entrer dans les milieux de la transformation des denrées alimentaires par l'intermédiaire des matières premières entrantes et de la circulation du personnel et des équipements. *L. monocytogenes* peut coloniser, sous la forme de biofilms, les équipements de transformation des denrées alimentaires et les surfaces en contact (ou non) avec les denrées alimentaires. Des procédures de nettoyage et de désinfection inadéquates peuvent entraîner la persistance de la bactérie pendant des périodes prolongées dans les environnements de transformation des denrées alimentaires. *L. monocytogenes* a été isolée dans une variété de denrées alimentaires telles que la viande fraîche et surgelée, les produits carnés cuits, le poisson fumé, le lait cru, le fromage (à pâte molle), la glace, les salades de charcuterie, les légumes frais ou peu transformés, etc. (Uyttendaele et al., 2018; EFSA et ECDC, 2018). *L. monocytogenes* est une bactérie à gram positif non sporulée, en forme de bâtonnet (0,5 µm de large et 1-2 µm de long), anaérobie facultative. Bien qu'elle ait une température optimale de développement située entre 30 °C et 37 °C, elle est capable de se développer dans une gamme de température comprise entre 1 °C et 45 °C. En tant que bactérie psychrophile, elle peut survivre et même se développer à des températures de réfrigération. L'organisme est

particulièrement résistant au stress environnemental et est capable de survivre ou de se multiplier dans une large gamme de conditions défavorables

de pH (4,6-9,4, optimum 7,0) et d' a_w (minimum 0,92), bien qu'une réduction de 6 log puisse être obtenue par pasteurisation (2 minutes à 70 °C) ou tout autre traitement thermique équivalent (Uyttendaele et al., 2018).

L'espèce *L. monocytogenes* est divisée en 13 sérovars fondés sur les antigènes somatiques et flagellaires. Depuis 2005, ces sérovars ont été remplacés par cinq génosérogroupe déterminés par PCR: IIa (sérovars 1/2a et 3a), IIb (sérovars 1/2b et 3b), IIc (sérovars 1/2c et 3c), IVb (sérovars 4b, 4d et 4e) et L (autres sérovars). Parmi ceux-ci, les génosérogroupe IVb, IIa et de IIb (par ordre d'importance) sont les plus reliés aux cas humains (EURL-*L. monocytogenes*, 2019). Ces dernières années, il a été démontré que le sous-typage fondé sur la séquence du génome complet (WGS) permet une discrimination supplémentaire substantielle et, par conséquent, peut être utile aux enquêtes sur les flambées épidémiques. Au sein de l'UE, la listériose constitue l'une des maladies prioritaires pour lesquelles une surveillance supranationale renforcée par une connaissance de la séquence du génome complet a été instaurée en 2018 (Van Walle et al., 2018).

L. monocytogenes est la seule espèce de *Listeria* qui soit pathogène pour l'homme et qui soit l'agent responsable de la listériose (McLauchlin et al., 2004). L'infection à *L. monocytogenes* peut entraîner deux types de maladies humaines: la forme non invasive de la listériose affecte le système digestif et entraîne des symptômes tels que de la fièvre, des douleurs musculaires et parfois des symptômes gastro-intestinaux (nausées ou diarrhées), tandis que la listériose invasive plus grave est associée à des présentations cliniques d'infection du système nerveux central, de septicémie et de bactériémie. En raison de la nature invasive de *L. monocytogenes*, les décès dus à la listériose sont particulièrement associés aux populations à haut risque, par exemple aux personnes dont le système immunitaire est affaibli, comme les personnes atteintes de malignités hématologiques (leucémie, par exemple), les personnes souffrant d'un cancer du foie, les personnes âgées (> 74 ans), les femmes enceintes et les nouveau-nés (Buchanan et al., 2017; McLauchlin et al., 2004).

Une flambée d'infections invasives à *L. monocytogenes*, confirmée par le séquençage du génome complet en tant que sérotype IVb, ST6 (séquence de type 6) et liée au maïs surgelé et vraisemblablement à d'autres légumes surgelés, a été signalée dans cinq États membres de l'UE (Autriche, Danemark, Finlande, Suède et Royaume-Uni) entre 2015 et juin 2018: 47 cas ont été signalés et neuf patients sont décédés des suites ou à cause de l'infection (taux de létalité de 19 %). *L. monocytogenes* ST6 est un clone hypervirulent de *L. monocytogenes* associé à des formes neurologiques de listériose (EFSA, 2018a). Cependant, malgré la variabilité observée de leur potentiel de virulence, presque toutes les souches de *L. monocytogenes* peuvent entraîner une listériose humaine en raison de l'interaction complexe entre l'agent pathogène, la denrée alimentaire et l'hôte. C'était la première fois qu'une flambée de listériose dans l'UE était liée aux légumes surgelés (EFSA, 2018a); le présent document a été rédigé à la suite de cette flambée.

1.4. Définitions

Assainisseur/désinfectant: produit utilisé pour la désinfection des surfaces après le nettoyage. Un produit biocide doit être défini conformément au règlement (CE) n° 528/2012.

B2B: business to business (commerce interentreprises), c'est-à-dire le marché des légumes surgelés emballés en vue d'une transformation ultérieure dans les industries alimentaires ou les activités de restauration.

B2C: business to consumers (commerce vers le consommateur final), c'est-à-dire le marché des légumes surgelés emballés pour le consommateur final (distribués dans le commerce de détail dans des emballages de petite taille).

Biofilm: structure tridimensionnelle contenant un nombre élevé de micro-organismes qui adhèrent à la surface grâce aux organelles et aux substances excrétées (par exemple les substances polymères extracellulaires telles que les glycoprotéines) (Devlieghere et al., 2013).

Blanchiment: processus thermique généralement appliqué à une denrée alimentaire dans le but d'inactiver les enzymes et/ou de fixer la couleur du produit (CAC, 1976).

Bonnes pratiques d'hygiène (BPH), bonnes pratiques de fabrication (BPF): ensemble de pratiques et conditions préventives visant à garantir la sécurité des denrées alimentaires produites. Alors que les BPH mettent l'accent sur les bonnes pratiques nécessaires en matière d'hygiène, les BPF portent sur les bonnes méthodes de travail (communication de la Commission, C278/2016).

CVC: système de chauffage, de ventilation et de climatisation.

Danger: un agent biologique, chimique ou physique présent dans les denrées alimentaires ou un état de ces denrées alimentaires, pouvant avoir un effet néfaste sur la santé [règlement (CE) n° 178/2002] (communication de la Commission C278/2016).

Denrées alimentaires non prêtes à être consommées (nRTE): denrées alimentaires que, par opposition aux denrées alimentaires prêtes à être consommées, le producteur destine à la cuisson ou à une autre transformation efficace pour éliminer ou pour réduire à un niveau acceptable les micro-organismes dangereux.

Denrées alimentaires prêtes à être consommées (RTE) [règlement (CE) n° 2073/2005]: denrées alimentaires que le producteur ou le fabricant destine à la consommation humaine directe, ne nécessitant pas une cuisson ou une autre transformation efficace pour éliminer ou pour réduire à un niveau acceptable les micro-organismes dangereux.

Détergent: produit (chimique) appliqué pour le nettoyage des surfaces (élimination des matières organiques des surfaces) (Devlieghere et al., 2013).

Eaux propres: «eaux qui ne compromettent pas la sécurité sanitaire des aliments selon l'usage prévu». Elles comprennent l'eau de mer propre (de l'eau de mer ou saumâtre naturelle, artificielle ou purifiée ne contenant pas de micro-organismes, de substances nocives ou de plancton marin toxique en quantités susceptibles d'avoir une incidence directe ou indirecte sur la qualité sanitaire des denrées alimentaires) et l'eau douce propre d'une qualité similaire [règlement (CE) n° 852/2004; communication de la Commission C163/2017].

Eau recyclée: eau réutilisée dans le processus de production, avec ou sans traitement (filtration, désinfection, etc.).

ESA: exploitant du secteur alimentaire: la ou les personnes physiques ou morales chargées de garantir le respect des prescriptions de la législation alimentaire dans l'entreprise du secteur alimentaire qu'elles contrôlent [règlement (CE) n° 178/2002].

EURL: laboratoire de référence de l'UE.

IQF (surgelés individuellement): aliments surgelés séparément les uns des autres (CAC, 1976).

LNR: laboratoire national de référence.

Mesure du taux d'ATP: les appareils de détection de l'ATP (adénosine triphosphate) utilisent la bioluminescence pour indiquer le niveau d'ATP résiduel présent sur les surfaces analysées (Turner, 2010).

Niche: ce qui décrit l'écologie d'une espèce, c'est-à-dire son habitat, son rôle dans l'écosystème, etc. (Pocheville, 2015).

Plan de maîtrise sanitaire des risques alimentaires (PMS): la combinaison de PRP en tant que mesures de maîtrise préventives, la traçabilité, le rappel et la communication en tant que mesures de préparation et le plan HACCP définissant des CCP et/ou des PRPo en tant que mesures de maîtrise liées au processus de production. Le PMS est également la combinaison de mesures de maîtrise et d'activités d'assurance. Ces dernières visent à démontrer que les mesures de maîtrise telles que la validation et la vérification, la documentation et la tenue de registres fonctionnent correctement (communication de la Commission C278/2016).

Plan HACCP: un document, éventuellement électronique, décrivant en détail les procédures fondées sur les principes HACCP. Le plan HACCP initial doit être actualisé si des changements surviennent dans la production et doit être complété au moyen des enregistrements des résultats de la surveillance et de la vérification, ainsi que des actions

Points critiques pour la maîtrise (CCP): stade auquel une surveillance peut être exercée et est essentielle pour prévenir ou éliminer un danger menaçant la salubrité de l'aliment ou le ramener à un niveau acceptable (1). La plupart des CCP habituellement utilisés pour la maîtrise des dangers microbiologiques sont des exigences de température, par exemple la température de stockage ou de transport, les conditions temps/température requises pour réduire ou éliminer un danger (par exemple en cas de pasteurisation). D'autres CCP peuvent être le contrôle de l'emballage visant à vérifier s'il est propre et non endommagé, le tamisage ou la détection des métaux afin de découvrir tout danger physique ou le contrôle du temps et de la température de l'huile de friture afin d'éviter les contaminants du processus chimique (communication de la Commission C278/2016).

Procédures fondées sur les principes HACCP ou «procédures HACCP»: procédures fondées sur les principes de l'analyse des dangers et la maîtrise des points critiques (HACCP), à savoir un système d'autocontrôle qui identifie, évalue et contrôle les dangers qui sont importants pour la sécurité des denrées alimentaires et qui est conforme aux principes HACCP (communication de la Commission C278/2016).

Programme(s) prérequis (PRP): pratiques et conditions préventives requises avant et pendant la mise en œuvre des procédures fondées sur les principes HACCP et qui sont essentielles à la sécurité des denrées alimentaires. Les PRP requis dépendent du segment de la chaîne alimentaire dont relève le secteur ainsi que du type de secteur. Les bonnes pratiques agricoles (BPA), les bonnes pratiques vétérinaires (BPV), les bonnes pratiques de fabrication (BPF), les bonnes pratiques d'hygiène (BPH), les bonnes pratiques de production (BPP), les bonnes pratiques de distribution (BPD) et les bonnes pratiques commerciales (BPC) sont des exemples de termes équivalents (communication de la Commission C278/2016).

Programmes prérequis opérationnels (PRPo) points dans le processus de production présentant un risque plus petit pour la sécurité des aliments ou au niveau desquels il n'existe aucune limite mesurable. Ces points peuvent être maîtrisés via des mesures de base générales plus élaborées relevant des PRP (contrôle plus fréquent, enregistrement, etc.). Grâce à un contrôle régulier et à l'adaptation des exigences liées au processus/produit, ces risques peuvent être considérés comme maîtrisés. Une action corrective immédiate visant le produit n'est pas requise (communication de la Commission, C278/2016).

Surgelés: aux fins de la directive (CE) 89/108 et du CAC, 1976, on entend par «aliments surgelés» les denrées alimentaires

- qui ont été soumises à un processus approprié de congélation dit «surgélation», permettant de franchir aussi rapidement que nécessaire, en fonction de la nature du produit, la zone de cristallisation maximale ayant pour effet que la température du produit dans tous ses points (après stabilisation thermique) est maintenue sans interruption à des valeurs égales ou inférieures la -18°C , et
- qui sont commercialisées de manière à indiquer qu'elles possèdent cette caractéristique.

2. Bonnes pratiques et programmes prérequis (PRP)

Les PRP jouent un rôle fondamental dans la prévention et la maîtrise de l'hygiène et de la sécurité des denrées alimentaires dans le cadre d'un plan de maîtrise sanitaire des risques alimentaires mis en œuvre par les ESA. Les PRP comprennent les bonnes pratiques d'hygiène et les bonnes pratiques de fabrication ainsi que toutes les mesures prises pour empêcher la contamination ou la prolifération des micro-organismes. Les présentes recommandations suivent la structure de la communication de la Commission européenne relative à la mise en œuvre d'un plan de maîtrise sanitaire du secteur alimentaire (C278/2016). Le rôle de chaque PRP dans la prévention/la maîtrise de *L. monocytogenes* y est décrit. Cependant, comme les 12 PRP énumérés ne jouent pas tous un rôle dans la prévention/la maîtrise de *L. monocytogenes*, trois sont exclus: le PRP «Lutte contre les nuisibles», le PRP «Allergènes» et le PRP «Contamination physique et chimique par l'environnement de production».

2.1. Nettoyage et désinfection

Le nettoyage et la désinfection (N&D) constituent un PRP important dans la prévention et la maîtrise de *L. monocytogenes*. Les ESA doivent disposer d'un **plan de N&D** afin de garantir que toutes les zones, toutes les machines et tous les équipements concernés (en contact direct ou indirect avec les denrées alimentaires) de l'installation sont régulièrement nettoyés/désinfectés.

Le **plan de nettoyage** indique les zones, les machines/équipements/appareils (en contact ou non avec les denrées

alimentaires) à nettoyer, le démontage des équipements, la méthode de nettoyage [nettoyage à la mousse, nettoyage hors place (NHP), nettoyage en place (NEP), etc.], les types et concentrations des composés de nettoyage, la durée/température (le cas échéant) des solutions de nettoyage, le débit (vitesse) ou la pression de la solution de nettoyage (le cas échéant) et la fréquence à laquelle le nettoyage a lieu. Ce plan indique également les zones où l'humidité, la condensation, l'infestation de moisissures, la saleté ou les bactéries sont susceptibles de s'établir, et décrit comment empêcher que cela ne se produise. En cas de NHP (des cuves de lavage, de la tuyauterie, etc.), il faut veiller à éviter la contamination croisée après le démontage des équipements (ne pas placer les équipements directement sur le sol ou sur d'autres surfaces sales, par exemple). Il faut éviter les projections d'eau en provenance des sols ou des équipements sales sur les équipements propres. Il est par conséquent préférable de ne pas utiliser de tuyaux à haute pression pendant le nettoyage et la désinfection.

Outre le nettoyage, des **activités de désinfection** appropriées permettent d'éviter et d'éliminer l'accumulation microbologique et la formation de biofilms. Il est recommandé de disposer d'un plan de désinfection analogue au plan de nettoyage. Pour la désinfection, seuls les biocides autorisés sont appliqués conformément aux spécifications techniques des fournisseurs (concentration, pH de l'eau, dureté de l'eau, efficacité contre les organismes cibles, nécessité de rinçage, autorisation d'utilisation dans un système de pulvérisation, etc.). L'application alternée de désinfectants a été jugée comme offrant une efficacité et une prévention plus longues contre le développement de *L. monocytogenes* à partir de niches et de biofilms. De l'eau chaude ou de la vapeur peuvent être appliquées pour désinfecter les racks ou les équipements difficiles à atteindre et à nettoyer, y compris les niches potentielles de *L. monocytogenes*.

En cas de **présence suspectée d'un biofilm**, des activités de nettoyage et de désinfection spécifiques sont nécessaires pour éliminer le biofilm, les activités de nettoyage et de désinfection traditionnelles s'avérant inutiles en raison de la résistance du biofilm. Il est toutefois plus important d'éviter la formation de biofilms et d'effectuer une surveillance de l'environnement (voir section 4) afin de détecter à un stade précoce toute contamination de l'environnement.

Il est nécessaire de **valider les plans de nettoyage et de désinfection** (afin de déterminer s'ils sont efficaces pour éliminer les restes de produits et les matières organiques et afin de garantir une élimination suffisante des bactéries). Par conséquent, un échantillonnage environnemental intensif dans les zones nettoyées (mesure du taux d'ATP afin d'évaluer l'élimination des matières organiques, par exemple) et les zones désinfectées doit être effectué pour différents groupes de bactéries ciblées (élimination des bactéries à gram négatif, des bactéries à gram positif, des levures et/ou des moisissures, etc.) afin d'évaluer l'efficacité des agents désinfectants appliqués, leur concentration, leur durée de contact, etc. Dans le plan de nettoyage et de désinfection, les ESA doivent envisager de suivre une **classification des matériaux destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires** et la fréquence de nettoyage et de désinfection correspondante (tableau 1).

Tableau 1. Exemple de classification des équipements et appareils dans le cadre de la fréquence de nettoyage et de désinfection

Type	Description	Exemples de sites
1	Surfaces en contact direct avec les denrées alimentaires	Intérieur des cuves, machines d'emballage et transporteurs, trémies, intérieur des tuyaux
2	Surfaces n'entrant pas en contact avec les denrées alimentaires situées à proximité immédiate des surfaces en contact avec les denrées alimentaires	Bâtis, sols ou canalisations se situant dans l'environnement direct des surfaces en contact avec les denrées alimentaires

3	Surfaces davantage isolées n'entrant pas en contact avec les denrées alimentaires et susceptibles d'entraîner une contamination	Chariots élévateurs à fourche, roues de poubelles/d'appareils, pédiluves pour le personnel, murs, sols et canalisations qui ne sont pas en contact direct avec les surfaces en contact avec les denrées alimentaires
4	Surfaces n'entrant pas en contact avec les denrées alimentaires et zones éloignées de l'environnement de transformation	Couloirs en dehors de la zone de production, zones dans lesquelles sont stockés les matières premières ou les produits finis Bâtis, murs, sols ou canalisations NE se situant PAS dans l'environnement direct des surfaces en contact avec les denrées alimentaires

En principe, les sites de type 1 sont nettoyés et désinfectés plus fréquemment que les sites de types 2, 3 et 4 (type 1 > 2 > 3 et 4) et la fréquence peut également être déterminée en fonction du régime d'hygiène de la zone dans laquelle les équipements et les installations sont situés/affectés (voir section 2.5 sur l'établissement de zones). En principe, les «zones sûres» nécessitent une fréquence de nettoyage/de désinfection plus élevée que les zones soumises à un régime d'hygiène élevé ou peu élevé. Une liste de toutes les surfaces susceptibles d'être en contact avec les denrées alimentaires doit être établie pour chaque zone et la nécessité de nettoyage et de désinfection (fréquence) devrait être définie.

Équipements et surfaces en contact DIRECT avec les denrées alimentaires (type 1, tableau 1)

Les équipements et les surfaces en contact direct avec les denrées alimentaires (les tunnels de congélation, les bandes transporteuses, les cuves de lavage, les têtes de pesée multiples, les machines d'emballage, l'intérieur des cuves, les trémies, l'intérieur des tuyaux) doivent être soigneusement nettoyés et désinfectés afin d'éviter la contamination croisée et la formation d'un biofilm. Des points d'arrêt devraient être organisés dans les lignes de production continue pour le nettoyage et la désinfection (par exemple équipement de lavage/de blanchiment et tunnel de congélation qui fonctionne x jours consécutifs).

Équipements et surfaces SANS CONTACT DIRECT avec les denrées alimentaires (types 2 et 3, tableau 1)

Les équipements et les surfaces qui ne sont pas en contact direct avec les denrées alimentaires peuvent servir de niches pour *L. monocytogenes* et constituer une source de contamination croisée (projections d'eau, air, aérosols ou matériaux). Il faut par conséquent éviter l'accumulation de *L. monocytogenes* dans l'ensemble de l'environnement industriel. Les équipements et surfaces typiques sans contact direct avec les denrées alimentaires sont: les systèmes de ventilation d'air, les systèmes de conduites d'eau, les évacuations des eaux usées, les appareils à roues, etc. Ceux-ci sont sensibles à l'accumulation de *L. monocytogenes* en raison de la forte teneur en humidité et des températures souvent non réfrigérées de l'environnement de production. Sur la base d'informations spécifiques à l'entreprise concernant le degré d'accumulation potentielle de restes de produits, de matières organiques, de poussière et d'humidité et le potentiel de contamination croisée vers les denrées alimentaires ou les surfaces en contact direct avec les denrées alimentaires, et l'établissement des zones auxquelles appartiennent les équipements/les installations (voir section 2.5), une fréquence de nettoyage et de désinfection doit être définie. Généralement, une fréquence de x fois par mois est recommandée.

Nettoyage et désinfection périodiques (type 4, tableau 1)

Les infrastructures plus importantes telles que les plates-formes, les escaliers, les plafonds, les conduites, etc. qui ne sont pas en contact direct avec les denrées alimentaires ou d'autres matériaux en contact avec les denrées alimentaires doivent être nettoyées et désinfectées périodiquement afin d'éviter l'accumulation de poussière, de restes de produits et de matières organiques, et de maintenir l'environnement de production et de stockage en bon état. Dans le cadre de la maîtrise de *L. monocytogenes*, une attention particulière doit être accordée aux bouches d'évacuation afin d'éviter la contamination des autres surfaces de la pièce. Par conséquent, les tuyaux à haute pression ne doivent pas être utilisés pendant la transformation pour nettoyer les canalisations, afin d'éviter la formation d'aérosols; il convient de réserver des outils spécifiques au

nettoyage des canalisations et d'éviter de nettoyer les canalisations en temps de production. Un plan de nettoyage périodique (x fois toutes les x années) est nécessaire pour organiser ce nettoyage périodique par zone.

Mise en service des équipements après une pause (= nettoyage préopératoire)

La production de légumes surgelés se caractérise par sa forte saisonnalité. Plusieurs équipements et appareils sont utilisés lors de la transformation d'un produit particulier et sont stockés pendant le reste de l'année (hors saison) (les systèmes d'élimination des insectes pour les légumes verts à feuilles, les machines à couper, etc.). Avant de réutiliser ces équipements/appareils, un nettoyage et une désinfection approfondis sont nécessaires pour éviter toute contamination croisée. Les ESA doivent prévoir un nettoyage préopératoire dans la planification des activités de nettoyage et de désinfection.

Maintenance des ustensiles et équipements de nettoyage et de désinfection

Les outils (les brosses, les serpillières, les tuyaux d'eau, etc.) et les équipements (les machines de nettoyage à haute pression, les laveuses de sols, etc.) de nettoyage et de désinfection doivent également être entretenus et nettoyés afin d'éviter toute contamination croisée. Il est recommandé de ne pas laisser les tuyaux et les lances sur le sol ou sur d'autres surfaces sales lorsqu'ils ne sont pas utilisés. Les systèmes de nettoyage des bottes ou les pédiluves doivent être vidés, nettoyés et remplis au moins une fois par jour pour éviter la formation de niches. Il est nécessaire de réserver les ustensiles de nettoyage et de désinfection à des zones spécifiques (par exemple grâce à l'établissement d'un code de couleurs).

Personnel participant aux activités d'assainissement

Le personnel participant aux activités d'assainissement devrait porter des gants, des vêtements, des chaussures et des lunettes de protection spécifiques, différents de ceux utilisés lors des activités de production régulières. Ils devraient être formés à l'assainissement, y compris à l'application des produits chimiques pour leurs stations de nettoyage. Le personnel qui traite les ordures, les balayures de sol, les bouches d'évacuation et les déchets de production ne devrait pas manipuler de denrées alimentaires ni entrer en contact avec des surfaces ou des matériaux d'emballage en contact avec les denrées alimentaires, sauf s'il change d'abord de blouse/d'uniforme, se lave et se désinfecte les mains et désinfecte ses chaussures dans un pédiluve ou, mieux encore, avec un système de nettoyage des bottes.

Vérification du nettoyage et de la désinfection

Après les activités de nettoyage et de désinfection d'un type de surface et d'équipement, une **vérification visuelle** minutieuse devrait être effectuée par une autre personne que celle qui était responsable du nettoyage et de la désinfection. Cette vérification visuelle peut faire partie d'un contrôle initial en vue de la mise en service des lignes de production. Si une contamination organique visuelle est détectée, le nettoyage et la désinfection doivent être refaits avant toute mise en service. Les endroits et les lieux plus difficiles d'accès doivent également faire l'objet de cette vérification visuelle.

Une **analyse microbiologique des surfaces en contact** et une analyse de la numération totale sur plaque ou d'un autre indicateur doivent être effectuées régulièrement afin de vérifier que les activités de nettoyage et de désinfection sont toujours efficaces et menées correctement. Les tests ATP ou d'autres méthodes de dépistage rapide peuvent être utilisés pour un dépistage rapide et une mise en service d'un équipement de production après nettoyage et désinfection. Toutefois, cette vérification du nettoyage et de la désinfection ne peut pas remplacer l'examen environnemental préalable de détection de *L. monocytogenes* (voir section 4).

2.2. Eau: sources, qualité et réseau de distribution d'eau

De grands volumes d'eau sont utilisés dans la production de légumes surgelés. L'eau (tant sur le plan de sa disponibilité que de sa qualité) étant de plus en plus sous pression, les ESA doivent veiller à ce que la réutilisation interne de l'eau ne soit pas une source de contamination croisée par *L. monocytogenes* des

produits alimentaires. Les ESA doivent tenir compte des points suivants pour gérer l'eau et la contamination potentielle par *L. monocytogenes* des produits alimentaires:

- a) déterminer les sources d'eau potentielles (l'eau de distribution, l'eau de pluie, l'eau souterraine, l'eau recyclée traitée, etc.);
- b) déterminer la qualité de l'eau disponible au moyen d'analyses (paramètres microbiologiques et chimiques → l'eau satisfait-elle aux exigences en matière d'eau potable, d'eau propre, d'eau non potable?);
- c) déterminer l'utilisation potentielle de l'eau recyclée/réutilisée (réutilisation de l'eau de refroidissement après le blanchiment comme eau de lavage) dans certaines étapes de la production → une évaluation minutieuse doit être réalisée dans ce cas afin d'éviter la contamination croisée;
- d) déterminer le besoin de désinfection de l'eau (au moyen de méthodes physiques comme le rayonnement ultraviolet, l'osmose inverse ou la désinfection chimique par application de biocides autorisés comme le chlore, l'acide peracétique, le ClO₂) en cas d'eau recyclée, d'eau de pluie, d'eaux d'évacuation et/ou d'eaux usées pour améliorer la qualité de l'eau;
- e) contrôler et valider les techniques de désinfection de l'eau appliquées (surveillance quotidienne, vérification des résidus chimiques en cas de désinfection chimique de l'eau);
- f) prévoir la maintenance des cuves de stockage, des systèmes de tuyauterie, des systèmes de filtration utilisés dans la distribution d'eau afin d'éviter la formation d'un biofilm et la présence potentielle de *L. monocytogenes* → inclure des parties du système de distribution d'eau également dans l'échantillonnage environnemental (voir section 4.1);
- g) éviter la contamination croisée des eaux d'évacuation/des eaux usées avec d'autres sources d'eau dans la production;
- h) éviter l'eau stagnante dans les machines, les tuyaux, les conduites et sur les sols;
- i) empêcher l'accumulation d'eau stagnante dans et autour des canalisations;
- j) éviter que les gouttes, le condensat des appareils, des conduits et des tuyaux ne contaminent les denrées alimentaires, les surfaces en contact avec les denrées alimentaires ou les matériaux d'emballage des denrées alimentaires;
- k) s'assurer que l'eau utilisée pour le givrage est potable.

Un **plan de gestion de l'eau** doit être élaboré, qui inclura tous ces éléments. Un **plan d'analyse** approprié pour vérifier la qualité de l'eau utilisée, conçu sur la base des résultats des analyses microbiologiques et chimiques, doit être mis en place, en tenant compte des exigences européennes, nationales ou régionales des autorités compétentes. Dans son avis sur le risque de contamination par *L. monocytogenes* dans ce type de production, l'EFSA considère également l'eau utilisée pour le lavage, le refroidissement, etc., comme une source importante de contamination (EFSA, 2020).

2.3. Contrôle de la température de l'environnement de production et de stockage, y compris gestion des tunnels de congélation

Contrôle de la température de l'environnement de production et de stockage

L. monocytogenes est un agent pathogène psychrotrophe présent dans l'environnement capable de proliférer même à des températures de 0 °C. Dans des conditions de froid, son taux de croissance ralentit, de sorte que le maintien d'une chaîne du froid permet d'éviter une croissance (rapide) de cet agent pathogène. D'une manière générale, dans un environnement de production de légumes surgelés, toutes les zones ne sont pas sous température contrôlée. Comme mentionné à la section 2.1 (nettoyage et désinfection), ces zones doivent faire l'objet d'une attention particulière dans le cadre des activités de nettoyage et de désinfection des équipements en contact direct ou indirect avec les denrées alimentaires. Des conditions d'humidité élevée (= humidité relative), la formation d'aérosols et/ou la formation de gouttes depuis des constructions plus élevées (plafonds, systèmes de tuyauterie, etc.) peuvent être déclenchées par les fluctuations de température. Une fois que le produit est surgelé, la température de congélation de – 18 °C ou moins doit être garantie par des conditions de stockage et de transport surgelées. Au cas où les produits surgelés doivent être à nouveau manipulés (mélange, emballage, etc.), il est recommandé de respecter des températures ambiantes froides. À moins que cela ne soit possible autrement, les produits surgelés doivent rester (très) peu de temps à température ambiante afin d'éviter leur décongélation. Le temps alloué doit être vérifié par l'ESA et dépendra du produit en question et de

Gestion des tunnels de congélation

Les tunnels de congélation sont des dispositifs indispensables dans la production de légumes surgelés, et auront, selon la technologie appliquée (congélateurs à air pulsé ou cryogéniques) et leur conception, une fluctuation dans les cycles de basse et haute température. Les cycles de température entre $-30\text{ °C}/-40\text{ °C}$ sont suivis par de courts cycles de dégivrage aux alentours des $30\text{ °C}/50\text{ °C}$ afin d'éviter la formation d'un excès de glace dans le tunnel. Si des produits alimentaires restent ou s'accumulent dans le tunnel, *L. monocytogenes* peut s'y développer. Par conséquent, les tunnels de congélation doivent faire l'objet d'une maintenance technique périodique (section 2.6) ainsi que d'un suivi et d'un contrôle de la température des cycles appropriés (présente section), faire partie du plan de nettoyage et de désinfection (section 2.1) et faire l'objet de vérifications visuelles régulières dans le cadre de la méthode de travail (section 2.9) afin d'éviter une accumulation excessive de produits et, partant, l'accumulation de *L. monocytogenes* et/ou la formation d'un biofilm dans le tunnel.

On distingue deux types de dégivrage de tunnel:

1. **Dégivrage complet du tunnel.** Dépend du type de tunnel et de sa capacité de congélation. Un nettoyage en profondeur doit être effectué lors de chaque dégivrage complet (voir section 2.1).
2. **Dégivrage partiel/séquentiel pendant la production.** Cette fonctionnalité n'est offerte que par certaines marques de tunnels de congélation et est proposée comme option supplémentaire. Les évaporateurs ne dégivrent jamais tous en même temps pendant la production. Les sections des évaporateurs en cours de dégivrage sont complètement fermées et pasteurisées à l'aide d'eau/de gaz chaud(e) ou de vapeur. Pendant le cycle de dégivrage d'une section d'évaporateur, le flux d'air est dévié vers d'autres ensembles d'évaporateurs, qui sont en mode de congélation.

Système de chauffage, de ventilation et de climatisation (CVC)

Un gradient de température et d'humidité peut se produire dans les installations de transformation de produits surgelés, en raison de l'air qui se déplace entre les zones où les températures (ambiantes) sont élevées et celles où les températures sont basses. En règle générale, des gradients de température peuvent se produire dans les zones situées entre la sortie des tunnels de congélation et la collecte des légumes surgelés intermédiaires en big bags/récipients (en vrac), ou dans les zones situées entre le blanchiment et le refroidissement des produits blanchis. Le gradient de température peut provoquer de la condensation et des gouttes d'eau. Un système de chauffage, de ventilation et de climatisation (CVC) installé et entretenu par des professionnels constitue un PRP dans ces installations.

2.4. Personnel: sensibilisation, formation et comportement

L'hygiène du personnel est importante dans la prévention/la maîtrise de *L. monocytogenes*. Les opérateurs doivent notamment faire preuve d'un comportement approprié et être conscients des risques que représente l'agent pathogène. Par conséquent, la formation (répétée) et la communication (des résultats des inspections d'hygiène, des résultats de la vérification des activités de nettoyage et de désinfection, etc.) sont utiles pour mieux faire connaître les risques. Un facteur important associé au personnel est la source potentielle de contamination croisée par les chaussures, les mains, les gants et les blouses (ou uniformes) lors du passage d'un lieu ou d'une zone de production à un(e) autre. Le passage dans une zone où les règles d'hygiène sont plus strictes requiert une attention particulière en raison de la propagation potentielle de *L. monocytogenes* en tant qu'agent pathogène présent dans l'environnement. Par conséquent, des instructions claires doivent être établies et communiquées aux opérateurs sur la manière de franchir ces différentes zones de production. Enfin, des mesures d'hygiène peuvent être appliquées (installation d'un sas d'hygiène, installation de dispositifs de nettoyage des bottes, utilisation de bottes spécifiques à chaque zone, installation de postes de désinfection des mains) pour faciliter les passages et empêcher la migration de *L. monocytogenes* d'une zone à l'autre (voir également section 2.5). Ces installations doivent être incluses dans le programme de nettoyage et de désinfection, par exemple des pédiluves pour éviter la formation de niches. Les blouses ou uniformes sont distingués selon la tâche que le personnel accomplit (production dans les zones soumises à un régime d'hygiène peu élevé, production dans les zones soumises à un régime d'hygiène élevé, maintenance technique, etc.). Si du

personnel temporaire travaille dans les installations de production et de commerce, une formation sur mesure et des accords sur les choses à faire et à ne pas faire doivent être définis. Il est recommandé, à titre de bonne pratique, d'envisager de recourir le moins possible à du personnel temporaire pour les activités plus critiques concernant la maîtrise de *L. monocytogenes*.

2.5. Infrastructures, équipements et appareils

Les infrastructures et l'organisation des installations de production et de stockage seront de la plus haute importance pour la prévention et la maîtrise de *L. monocytogenes* lors de la production de légumes surgelés.

Établissement de zones

Il est recommandé de faire la distinction entre les zones soumises à un régime d'hygiène peu élevé et les zones soumises à un régime d'hygiène élevé. Il convient d'établir cette distinction dans les installations de production et de stockage. Ces différentes zones sont également indiquées dans les organigrammes (voir graphiques 2, 3 et 4). Différentes zones peuvent être établies:

Zone 1: zone soumise à un régime d'hygiène peu élevé

→ Caractérisée par:

- des zones en contact direct avec l'extérieur;
- des zones de réception extérieures des matières premières;
- les étapes de production avant le lavage et/ou le blanchiment;
- des zones techniques.

→ Mesures de maîtrise:

- la présence de bois, de cartons et/ou de terre est possible;
- pas besoin de passer par un sas d'hygiène;
- aucun contrôle de la température, aucune ventilation/circulation d'air contrôlée.

Zone 2: zone soumise à un régime d'hygiène élevé

→ Caractérisée par:

- l'absence de contact direct avec l'extérieur;
- les étapes de production, depuis le lavage et le blanchiment jusqu'aux légumes surgelés;
- la manipulation de produits surgelés ouverts, par exemple lors du givrage, du mélange ou de l'emballage.

→ Mesures de maîtrise:

- nécessité de passer par un sas d'hygiène (= accès contrôlé à l'extérieur);
- ventilation/circulation d'air contrôlée;
- contrôle de la température conseillé;
- présence contrôlée de bois ou de cartons propres (octabins, par exemple).

Zone 3: zone sûre

→ Caractérisée par:

- un stockage de produits en vrac ou de produits finis emballés (surgelés);
- des températures de congélation du produit.

→ Mesures de maîtrise:

- uniquement des emballages/récipients fermés;
- contrôle de la température (mesure de la température de congélation).

En lien avec la séparation des zones dans les installations de production et de stockage, un autre régime d'hygiène sera nécessaire par zone en tant que mesures de maîtrise telles que:

- une plus grande fréquence des activités de nettoyage et de désinfection;
- un plus grand nombre de restrictions en matière d'hygiène personnelle pour les opérateurs;

- une utilisation spécifique de matériaux pour la production (certainement des dispositifs mobiles tels que des conteneurs, des poubelles) et/ou de matériaux pour le nettoyage et la désinfection dans une zone déterminée;
- une prévention des contaminations croisées entre les zones soumises à des régimes d'hygiène différents: réflexion sur l'organisation des connexions entre les zones d'hygiène pour les opérateurs, les matériaux, les produits alimentaires, les équipements et appareils (mobiles), le flux d'air et le débit d'eau → passage de «zones sûres» et de «zones soumises à un régime d'hygiène élevé» à des «zones soumises à un régime d'hygiène peu élevé» et non l'inverse.

Matériaux en contact avec les denrées alimentaires et conception hygiénique des équipements, des appareils et des infrastructures en général

Les matériaux en contact avec les denrées alimentaires et les équipements et infrastructures qui ne sont pas en contact direct avec les denrées alimentaires devraient être construits avec des matériaux appropriés (tels que l'acier inoxydable ou les matières plastiques agréées pour les denrées alimentaires) qui ont une utilisation durable, ne sont pas fabriqués à partir de matériaux poreux ou absorbants et ne sont pas sensibles à la corrosion afin d'éviter la formation de niches. Dans ces niches (telles que les petites incisions ou fissures), *L. monocytogenes* peut s'accumuler, faisant de la partie affectée un site de développement pour l'agent pathogène. Lors de la conception des infrastructures et des usines, il faut veiller à une conception hygiénique: surfaces lisses, absence de jonctions tranchantes, absence de cul-de-sac dans les conduites, absence de liaisons transversales dans l'acheminement des produits alimentaires, équipements et appareils suffisamment élevés au-dessus des sols pour faciliter l'assainissement et éviter les éclaboussures, équipements faciles à nettoyer (après démontage), etc. Les systèmes de câblage et de tuyauterie sont sensibles à l'accumulation de poussière et, en combinaison avec des conditions de forte humidité, des niches pour les agents pathogènes présents dans l'environnement peuvent se former sur/autour d'eux. Il convient de veiller à ce que la passerelle et les escaliers avec grille ouverte ne soient pas placés au-dessus des denrées alimentaires et/ou de l'eau exposée(s). Les surfaces qui ne sont pas en contact avec les denrées alimentaires doivent être prises en considération dans les activités périodiques de nettoyage et de désinfection (voir section 2.1) et, dans la mesure du possible, il convient d'éviter les constructions horizontales.

Systèmes de circulation d'air/de ventilation

Il est conseillé de contrôler le **flux d'air** entre les zones soumises à un régime d'hygiène élevé et les zones soumises à un régime d'hygiène peu élevé: l'air devrait circuler des zones propres vers les zones sales; par conséquent, il est recommandé de créer un flux d'air positif entre une zone soumise à un régime d'hygiène élevé et une zone soumise à un régime d'hygiène peu élevé. Les systèmes de ventilation, y compris les évaporateurs des tunnels de congélation, doivent être entretenus et nettoyés en fonction de leurs besoins. Il faut évaluer si des filtres sont nécessaires pour purifier l'air. La **source d'air** appliquée en entrée peut être une source potentielle de contamination, c'est pourquoi les ESA doivent vérifier l'origine de l'air (éviter l'entrée d'air en provenance des zones techniques ou des zones sales comme les zones d'élimination des déchets, par exemple). En cas d'application d'**air comprimé** (par exemple pour le tri optique), des filtres sont nécessaires pour éviter les gouttelettes d'huile des systèmes de pompage et la circulation des micro-organismes. Les filtres doivent être pris en considération dans le programme de maintenance périodique (voir section 2.6) afin d'éviter la formation de niches contenant *L. monocytogenes*.

Équipements mobiles

Certaines parties des équipements sont conçues pour être mobiles et peuvent être activées ou désactivées sur les lignes de transformation en fonction du type de produit (par exemple légumes-feuilles ou légumes-tubercules), du degré de saleté des matières premières (par exemple présence de terre ou de sable), de la nécessité d'un tri supplémentaire ou de l'élimination des insectes, des appareils de coupe (en bâtonnets ou en tranches, par exemple), etc. Si des parties des équipements sont installées ou déplacées vers une autre zone de l'usine, il convient d'évaluer leur état de propreté et le risque de contamination croisée (passage dans des zones soumises à un régime d'hygiène peu élevé ou élevé, circulation des personnes et des matériaux, par

exemple) et de procéder à une vérification avant la mise en service. Les petits appareils (de contrôle) (thermomètres, compteurs ATP, etc.) qui circulent dans une installation peuvent provoquer une contamination croisée et doivent être manipulés d'une manière bien précise. Par exemple, ils ne peuvent pas passer d'une zone soumise à un régime d'hygiène peu élevé à une zone soumise à un régime d'hygiène élevé ou, à titre de recommandation de bonne pratique, ils doivent être réservés à une zone particulière de l'usine.

2.6. Maintenance technique

La maintenance technique préventive, sous la forme d'une révision et d'une vérification planifiées des équipements et des infrastructures, est de la plus haute importance dans la prévention et la maîtrise de *L. monocytogenes*. Les ESA doivent mettre en place un plan de maintenance préventive prévoyant:

- une description détaillée du type de maintenance technique;
- une planification en fonction des activités de production (ne pas organiser de maintenance technique pendant les activités de production afin d'éviter la contamination des produits);
- une vérification nécessaire avant la mise en service de machines et d'équipements qui ne sont pas fréquemment utilisés (c'est-à-dire en cas de production saisonnière);
- une prise en considération de toutes les machines et de tous les équipements, y compris les grandes installations (systèmes de conduites et de pompage d'eau, tunnels de congélation, etc.) en contact direct ou indirect avec les produits alimentaires;
- un remplacement des filtres à air et à eau et un contrôle de la présence éventuelle d'un biofilm sur ces filtres;
- une prise en considération des équipements de gestion de l'eau et des systèmes d'évacuation des effluents;
- une organisation des activités de nettoyage avant la remise en service après des interventions techniques;
- des uniformes et des chaussures pour les techniciens internes et externes spécialement réservés aux différentes zones de l'usine;
- des équipements de maintenance et des chariots ou équipements mobiles avec ustensiles pour les techniciens spécialement réservés aux différentes zones et aux différents régimes d'hygiène dans l'usine de production.

Des inspections d'hygiène périodiques (par exemple 3 à 4 fois par an) doivent être organisées afin de cerner les endroits de contamination supplémentaires tels que les fissures, les incisions, la corrosion où une intervention technique est nécessaire.

2.7. Contrôle des déchets

Les déchets alimentaires ont différentes gradations, et tant que les flux de nourriture font partie de la chaîne alimentaire humaine ou animale, il faut respecter le régime et les restrictions appropriés en matière d'hygiène et de sécurité. Tout au long des activités de production et de stockage, il convient d'éviter les contaminations croisées entre les denrées alimentaires et les déchets. L'ESA doit déterminer ce qu'il convient de faire lorsque des produits alimentaires se trouvent sur le sol (produits tombés de bandes transporteuses surchargées, par exemple), afin d'éviter que *L. monocytogenes*, présent dans les canalisations ou sur le sol, ne contamine les denrées alimentaires de manière croisée. Il est fortement recommandé que ces dernières soient réservées à la production d'aliments pour animaux et ne soient plus utilisées comme «denrées alimentaires», sauf au tout début du processus de production, lorsque les produits provenant des champs entrent dans les installations de production (dans les zones soumises à un régime d'hygiène peu élevé).

Les poubelles, les conteneurs à déchets et les systèmes de collecte roulants doivent être en bon état (voir sections 2.5 et 2.6) et faire partie du plan de nettoyage et de désinfection (voir section 2.1). Ils sont inclus dans les exigences imposées aux opérateurs dans le cadre de la méthode de travail afin d'éviter que les poubelles ne traversent différentes zones et, partant, ne propagent *L. monocytogenes* dans l'environnement de production (voir section 2.9). Les conteneurs doivent avoir chacun une fonction propre (produit accepté, retraitement,

enlèvement des aliments pour animaux, déchets, etc.) et être clairement distingués les uns des autres (codes de couleur, étiquettes, etc.).

2.8. Contrôle des matières premières et sélection des fournisseurs

Réduire au minimum la probabilité que les matières premières (comme les légumes provenant des champs), les produits semi-finis (comme les légumes prénettoyés et prélavés) et les ingrédients (le riz précuit, les produits à base de poisson ou de viande, les épices, etc.) soient contaminés à la livraison constitue une mesure préventive visant à diminuer la présence de *L. monocytogenes* lors de la production de légumes surgelés.

Plusieurs types de contaminations peuvent se produire selon la nature des produits entrants:

- les **matières premières provenant des champs, comme les légumes crus**, peuvent contenir *L. monocytogenes* à leur arrivée à l'usine → la présence de terre et les conteneurs utilisés pour le transport peuvent constituer des facteurs de risque de contamination. Si les produits sont refroidis dans le champ ou dans l'exploitation, une contamination liée à l'humidité peut potentiellement se produire (application d'eau de refroidissement, pulvérisation de gouttelettes d'eau froide pour réduire la température des produits, par exemple);
- les **produits semi-finis (les matières premières prénettoyées qui sont lavées, pelées, émincées comme les carottes et les oignons, par exemple)** → ces produits proviennent d'autres installations de transformation et peuvent être contaminés pendant la transformation ou faire l'objet d'une contamination croisée par les conteneurs dans lesquels ils sont transportés. Un non-respect de la chaîne du froid peut favoriser la croissance de *L. monocytogenes*;
- les **ingrédients** (les légumes surgelés, le poisson, la viande, le riz, les produits secs, etc.) → ils peuvent être contaminés par le fournisseur et sont introduits dans le processus de production de l'ESA;
- les **matériaux d'emballage** [les matières premières, les matériaux utilisés pendant le stockage (tels que les big bags, les conteneurs pour les matériaux en vrac), par exemple] → ils sont moins sensibles à la contamination par *L. monocytogenes*, mais ils doivent être propres, sans poussière et protégés de la contamination croisée à leur arrivée;
- les **aides techniques** (les agents de désinfection de l'eau, agents antimousse appliqués dans les cuves de lavage, etc.) ou les additifs → ils sont moins sensibles à la contamination par *L. monocytogenes*, mais ils doivent être stockés/distribués dans des cuves/récipients propres afin d'éviter la contamination croisée vers l'environnement de l'usine;
- **l'eau** → voir section 2.2.

La sélection des fournisseurs et la communication aux fournisseurs sur la présence de *L. monocytogenes* liée à une matière première spécifique représentent une étape importante pour éviter toute contamination potentielle. Cependant, en raison de la nature des différentes matières premières, il sera impossible d'avoir des matières premières «exemptes de *L. monocytogenes*», car la plupart des matières premières utilisées dans ce secteur ne font pas l'objet d'une mesure de maîtrise du développement de *L. monocytogenes* pendant leur processus de production ou de fabrication (comme la pasteurisation ou la stérilisation). Par conséquent, il convient de procéder à une sélection rigoureuse des fournisseurs, y compris en appliquant les mesures de maîtrise suivantes:

- l'élaboration de procédures de sélection et d'approbation des fournisseurs;
- l'établissement de relations (à long terme) avec les fournisseurs;
- la réalisation régulière d'audits sur place afin de s'assurer que les fournisseurs disposent d'un PMS solide et appliquent de bonnes pratiques et des règles générales d'hygiène afin d'éviter toute contamination par *L. monocytogenes*;
- la distinction entre fournisseurs de l'UE et fournisseurs de pays tiers (dans les pays tiers, d'autres législations peuvent être appliquées).

Dans le cas des légumes crus provenant des champs, on peut s'attendre à une contamination de l'environnement par *Listeria* spp. ou éventuellement par *L. monocytogenes*. Cependant, ces fournisseurs (de la production primaire) doivent maîtriser la contamination supplémentaire potentielle en évitant l'utilisation de conteneurs/boîtes/récipients sales, de matériaux et d'équipements de récolte sales, de sources d'eau

contaminées, et éviter la formation de biofilms dans les zones de stockage réfrigéré et d'humidification, le cas échéant. Toutes ces mesures doivent faire partie de leurs bonnes pratiques agricoles et viser la réduction de la contamination microbiologique au niveau de la production primaire. Il est recommandé aux exploitants agricoles de travailler conformément au document «Communication de la Commission relative à un document d'orientation concernant la gestion, grâce à une bonne hygiène au stade de la production primaire, des risques microbiologiques posés par les fruits et légumes frais» (communication de la Commission, C163/2017), qui présente une série de bonnes pratiques agricoles et de bonnes pratiques d'hygiène visant à éviter ou à réduire au minimum la contamination microbiologique au niveau de l'exploitation et lors des premières activités se déroulant après la récolte.

L'analyse d'un seul lot de matières premières afin de détecter la présence de *L. monocytogenes* (= échantillonnage par lot) n'a qu'une valeur limitée pour établir l'acceptabilité de ce lot et ne peut se substituer à d'autres PRP et HACCP pour maîtriser le développement de *L. monocytogenes* dans le processus de production de l'ESA (voir section 5.1). La valeur première de l'analyse des matières premières fait partie d'un historique construit et permet le suivi des fournisseurs dans le cadre de l'évaluation/de la vérification des fournisseurs. Par conséquent, l'analyse des matières premières et le contrôle des lots ne constituent PAS une mesure de maîtrise appropriée du développement de *L. monocytogenes*.

2.9. Méthode de travail

Enfin, la méthode de travail, à savoir l'organisation du système de production, de transformation et de gestion mis en œuvre dans l'usine, sera de la plus haute importance pour la prévention et la maîtrise quotidiennes de la propagation de *L. monocytogenes* et de la formation potentielle de biofilms/de niches dans l'environnement de production. Les points suivants sont particulièrement préoccupants en ce qui concerne la prévention et la maîtrise de *L. monocytogenes*:

Propreté

Une usine et ses environs doivent être propres et bien entretenus. Les produits qui s'empilent le long de la chaîne de transformation (les bandes transporteuses, les tunnels de congélation, etc.) peuvent être retirés immédiatement, et il n'est pas nécessaire qu'ils s'accumulent jusqu'au nettoyage et à la désinfection périodiques. Il est important d'appliquer le principe du «nettoyage visuel au fur et à mesure», en retirant fréquemment les matières des transporteurs, des équipements de transformation, des sols, etc., de manière à réduire la charge globale sur l'ensemble du site.

Engagement et sensibilisation de la direction et du personnel

La direction de l'usine doit déterminer les **postes clés du personnel** dans les différentes zones afin de mettre en œuvre et de contrôler quotidiennement les PRP, les PRPo et les CCP nécessaires (voir section 3, sur la base du plan HACCP). L'ensemble du personnel (y compris les techniciens, le personnel temporaire) doit être **sensibilisé et formé** à la maîtrise de *L. monocytogenes* (comme indiqué à la section 2.4). La direction doit **allouer les ressources** (c'est-à-dire l'argent, le temps, le personnel, l'expertise) à l'échantillonnage environnemental, aux investissements dans les infrastructures et la maintenance, au traitement de l'eau, etc., nécessaires pour pouvoir prévenir et maîtriser *L. monocytogenes*.

Organisation du processus de production de légumes surgelés

La production de légumes surgelés dépend fortement de la disponibilité saisonnière des produits crus. Les pics de production coïncident avec la saison de récolte des produits transformés. L'usine doit être organisée à cet effet sur le plan:

- de la disponibilité des appareils et des équipements [pour que tous les équipements et les lignes de transformation nécessaires soient prêts et installés];
- du temps alloué aux points d'arrêt dans la production dans le cadre des activités de nettoyage et de désinfection (voir section 2.1);
- de la disponibilité du personnel;
- de la disponibilité de l'eau;
- etc.

Plusieurs lignes de transformation peuvent être en service en même temps, ce qui peut contribuer à un potentiel plus élevé de contamination croisée entre les lignes, le personnel et les produits. Il est recommandé de bien organiser la production afin de réduire au minimum la circulation de membres du personnel et d'appareils entre les différentes zones et lignes. Des pauses intermédiaires dans les lignes de production fonctionnant à plein temps doivent être appliquées pour permettre l'organisation d'activités intermédiaires de nettoyage et d'assainissement, le vidage des tunnels de congélation pour éliminer l'empilage des produits, enlever les produits restants, etc.

Le processus de production est essentiellement un processus continu, depuis les matières premières jusqu'aux produits surgelés en vrac. Le **principe de la circulation des produits vers l'avant** ne pose normalement pas de problème. Toutefois, la circulation des appareils roulants, du personnel et des équipements mobiles doit être contrôlée, en particulier lorsqu'ils passent de zones soumises à un régime d'hygiène peu élevé à des zones soumises à un régime d'hygiène élevé.

Toutes les étapes du processus de production doivent faire l'objet d'instructions destinées au personnel concernant les choses à faire et à ne pas faire au niveau des activités de production, des règles d'hygiène, des mesures de sécurité alimentaire, des contrôles de qualité à effectuer, etc. Par conséquent, il faut mettre en place un **système de documentation** approprié assorti d'instructions et de procédures faciles à comprendre et faciles d'accès.

3. Analyse des dangers et maîtrise des points critiques (HACCP)

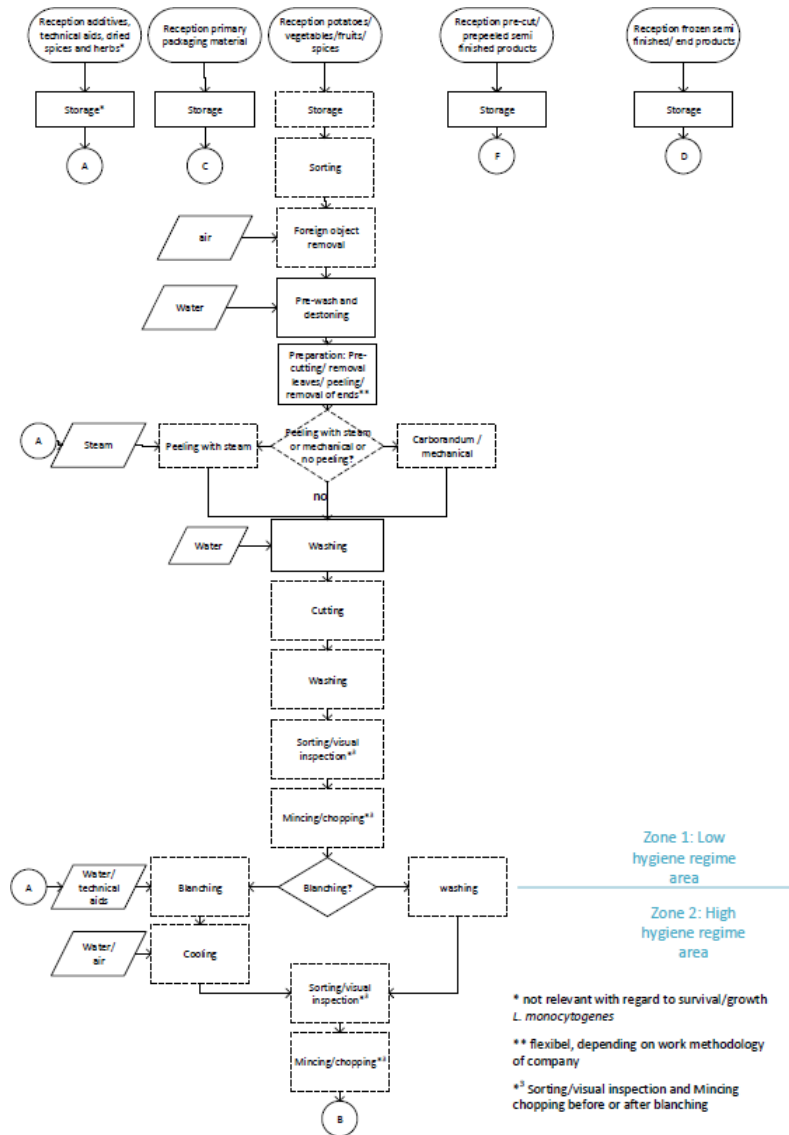
Non seulement les PRP, mais aussi le plan HACCP mis en place dans les usines de production et de stockage de légumes surgelés doivent tenir compte de la présence de *L. monocytogenes* pour déterminer les endroits dans lesquels, au cours du processus, l'apparition, l'accumulation, la croissance ou la réduction de l'agent pathogène est possible. Pour le plan HACCP, la structure et la méthode de la communication de la Commission européenne relative à la mise en œuvre d'un plan de maîtrise sanitaire du secteur alimentaire (C278/2016) sont suivies. Les graphiques 2, 3 et 4 présentent un organigramme décrivant les différentes étapes du processus.

Remarque 1: le présent plan HACCP peut être utilisé comme point de départ pour l'élaboration du plan HACCP d'une entreprise ou pour la révision du plan actuel. Il est important d'élaborer un plan spécifique à chaque entreprise en adaptant les étapes de production, les équipements spécifiques, les informations sur la validation et les mesures des lignes de production, etc.

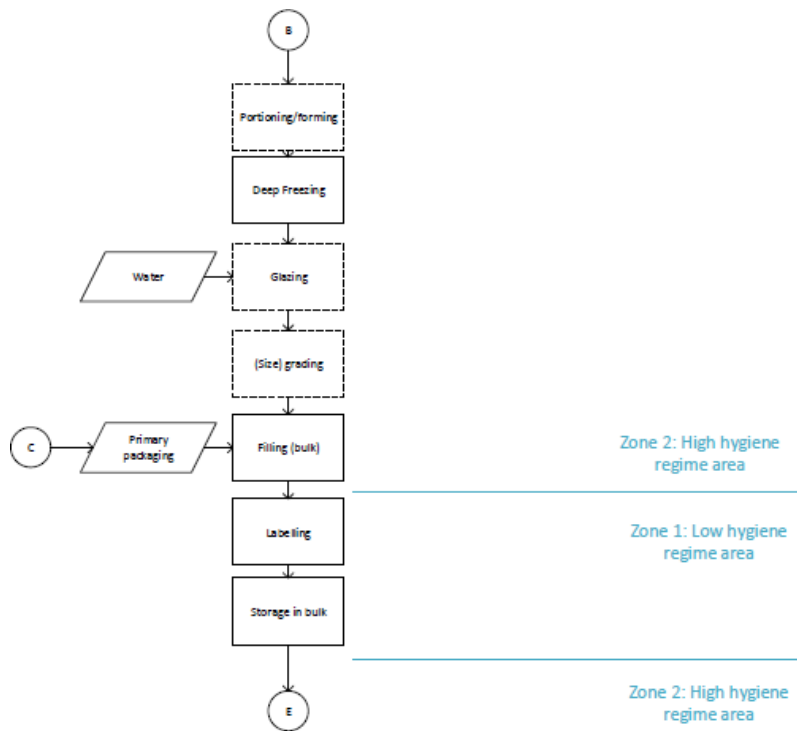
Remarque 2: l'accent est mis sur la détermination des dangers, les mesures préventives, l'évaluation des dangers (PxE=R) ainsi que sur la définition des CCP, PRPo ou PRP potentiels et sur le danger que représente *L. monocytogenes*. Toutes les autres parties du plan HACCP (c'est-à-dire la validation, la vérification, la documentation) ne sont pas détaillées dans le présent document. En outre, d'autres dangers (c'est-à-dire d'autres dangers microbiologiques, chimiques et physiques) ne sont pas pris en considération et doivent être analysés plus en détail par l'ESA. Par conséquent, la communication de la Commission européenne relative à la mise en œuvre d'un plan de maîtrise sanitaire du secteur alimentaire (C278/2016) peut être suivie.

Remarque 3: les présentes recommandations portent sur les légumes surgelés, qui sont considérés comme des denrées alimentaires non prêtes à être consommées (nRTE). Les ESA qui souhaitent mettre sur le marché des légumes surgelés en tant que produits prêts à être consommés (RTE) doivent prendre des mesures de prévention et de maîtrise supplémentaires pour garantir la sécurité des produits RTE, mais ces mesures ne sont pas incluses dans le présent plan HACCP.

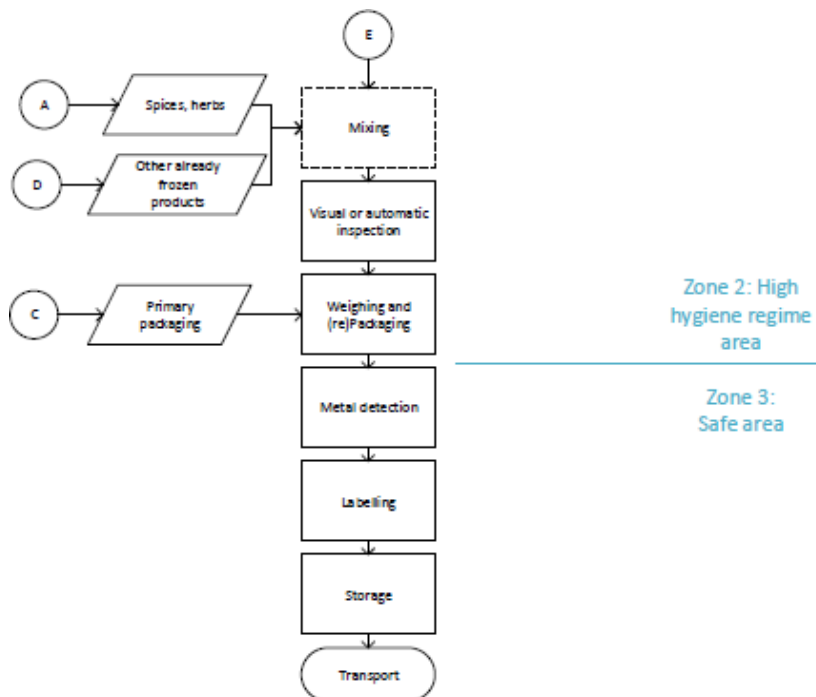
Dans le tableau 2, les dangers par étape du processus sont déterminés, les mesures de maîtrise sont ajoutées, la probabilité (P) et l'effet (E) sur la santé humaine sont estimés et un risque (R) est attribué. Enfin, selon le niveau de risque attribué, un PRP, un PRPo ou un CCP est attribué. Le tableau 3 présente des exemples de tableaux de surveillance, en y insérant les mesures correctives et de surveillance à prendre.



Graphique 2. Organigramme de la production de légumes surgelés (partie 1)



Graphique 3. Organigramme de la production de légumes surgelés (partie 2)



Graphique 4. Organigramme de la production de légumes surgelés (partie 3)

Tableau 2. Détermination des dangers, mesures de prévention/de maîtrise, probabilité (P), effet (E), risque (R) et attribution d'un PRP, PRPo ou CCP						
Détermination des dangers	Mesures de prévention/de maîtrise	P	E	R	Justification	PRP/PRPo/CCP
Réception et stockage des matières premières, des produits semi-finis, des ingrédients surgelés et de l'eau (zone 1: zone soumise à un régime d'hygiène peu élevé) — Graphique 2						
Présence de <i>L. monocytogenes</i> dans les matières premières provenant de la production primaire (champs) (légumes)	Sélection du fournisseur/politique d'achat: <ul style="list-style-type: none"> • bonnes pratiques agricoles • nettoyage et désinfection des équipements/des récipients • contrôle de la formation éventuelle de biofilms en cas de stockage réfrigéré/d'humidification des produits 	1	3	3		PRP «Matières premières» (section 2.8)
Présence de <i>L. monocytogenes</i> dans les produits semi-finis (légumes prénettoyés) et les ingrédients (produits surgelés)	Sélection du fournisseur/politique d'achat: <ul style="list-style-type: none"> • bonnes pratiques d'hygiène et HACCP • plan de maîtrise de <i>L. monocytogenes</i> élaboré en collaboration avec le fournisseur • récipients propres à leur arrivée • température de réfrigération adéquate à l'arrivée 	2	3	4		PRP «Matières premières» (section 2.8) PRP «Méthode de travail» (section 2.9): vérification à l'arrivée
Eau contaminée par <i>L. monocytogenes</i>	Sélection de sources d'eau appropriées, vérifications régulières de la qualité de l'eau	1	3	3		PRP «Eau» (section 2.2)

Contamination des zones de réception et de stockage par <i>L. monocytogenes</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Contrôle de la température en cas de stockage réfrigéré ou surgelé • Contrôle du temps et principes FIFO (premier entré, premier sorti) pour les produits (réfrigérés) • Nettoyage et désinfection des zones/équipements de stockage Maintenance technique des zones de stockage 	2	3	4		PRP «Contrôle de la température» (section 2.3) PRP «Méthode de travail» (section 2.9) PRP «Nettoyage et désinfection» (section 2.1) PRP «Infrastructures» (section 2.5)
Additifs, aides techniques, épices et herbes séchées, matériaux d'emballage → pas de sources pertinentes pour <i>L. monocytogenes</i>						

Tri, élimination des corps étrangers, pré-lavage/désossage, préparation, étapes de lavage, découpe, tri/inspection visuelle, pelage, éminçage et hachage (zone 1: zone soumise à un régime d'hygiène peu élevé) — Graphique 2						
Contamination par l'environnement de production, les équipements, les ustensiles	<ul style="list-style-type: none"> Programme de nettoyage et de désinfection Maintenance technique, y compris vérifications avant la mise en service en cas d'utilisation saisonnière des appareils/équipements Infrastructures 	1	3	3	Formation éventuelle de biofilms dans/sur les équipements; P = 1: zone 1	PRP «Nettoyage et désinfection» (section 2.1) PRP «Maintenance technique» (section 2.6) PRP «Infrastructures» (section 2.5)
Contamination par les exploitants	<ul style="list-style-type: none"> Formation et sensibilisation du personnel Infrastructures: sas d'hygiène entre les différentes zones 	1	3	3	P = 1, toujours dans une zone soumise à un régime d'hygiène peu élevé	PRP «Personnel» (section 2.3) PRP «Infrastructures» (section 2.5)
Utilisation de l'air contaminé pour l'élimination des corps étrangers et/ou dans les cuves de lavage pour créer des systèmes de lavage de type «jacuzzi»	<ul style="list-style-type: none"> Filtres appropriés et nettoyage des filtres et des évaporateurs Vérification de l'origine de l'air 	1	3	3	P = 1, toujours dans une zone soumise à un régime d'hygiène peu élevé	PRP «Infrastructures — Contrôle de l'air» (section 2.5)
Eau contaminée et formation de biofilms dans la cuve de lavage (pour les étapes de lavage)	<p>Gestion de l'eau:</p> <ul style="list-style-type: none"> nettoyage et désinfection du système de tuyauterie et de la cuve de lavage (et d'autres équipements de lavage comme les pales, les tambours rotatifs, etc.) rafraîchissement fréquent de l'eau et/ou remplissage des cuves d'eau recyclage de l'eau et/ou traitement de l'eau en cas de besoin 	1	3	3	P = 1, toujours dans une zone soumise à un régime d'hygiène peu élevé	PRP «Nettoyage et désinfection» (section 2.1) PRP «Gestion de l'eau» (section 2.2)
		2*	3	4	*P = 2, en cas de produits non blanchis (poireaux, oignons, par exemple)	PRPo 1: contamination de l'eau dans les cuves de lavage en cas de produits non blanchis

Utilisation d'eau contaminée pour la préparation de la vapeur en cas de pelage à la vapeur	Traitement adéquat de l'eau pour éviter la contamination	1	3	3	P = 1, toujours dans une zone soumise à un régime d'hygiène peu élevé	PRP «Nettoyage et désinfection» (section 2.1) PRP «Gestion de l'eau» (section 2.2)
--	--	---	---	---	---	---

<p>Blanchiment (zone 1-2) — Graphique 2</p> <p>Remarque: dans le cas des légumes qui ne sont pas destinés à être blanchis, cette étape de la production sera une étape de lavage supplémentaire, car les produits suivent les mêmes lignes de transformation.</p>	<p>Le blanchiment est un traitement thermique et une étape technologique visant à désactiver les enzymes pour stabiliser les légumes surgelés pendant un stockage prolongé dans des conditions de congélation. Certains produits sont blanchis, d'autres non; cela dépendra fortement des décisions prises par l'ESA, des exigences des clients, etc.</p> <p>Le blanchiment s'effectue principalement par immersion des produits dans de l'eau chaude ou de la vapeur. Les températures peuvent varier entre 65 °C et 110 °C et sont maintenues pendant une durée déterminée (1 à 10 minutes, selon le produit, la taille des morceaux de légumes, la variabilité saisonnière, etc.) → les combinaisons durée/température dépendent de la durée nécessaire à l'inactivation des enzymes polyphénol oxydase (POD) et peroxydase (PPO). Certains produits ne peuvent pas être blanchis en raison des effets néfastes du blanchiment sur la qualité du produit (par exemple les oignons ou les poireaux).</p> <p>a: le blanchiment aura un effet réducteur sur la flore microbienne (également connue sous le nom «microbiote») des légumes, bien qu'il ne vise pas à éliminer les agents pathogènes comme <i>L. monocytogenes</i> ou à les ramener à un nombre acceptable, selon les définitions des CCP dans le plan HACCP. Par conséquent, le blanchiment N'est PAS considéré comme un CCP dans l'élimination de <i>L. monocytogenes</i> et une pasteurisation complète (c'est-à-dire une réduction de 6 log de <i>L. monocytogenes</i>)</p>					
<p>La durée/température de blanchiment est trop courte/basse, de sorte que <i>L. monocytogenes</i> peut proliférer dans l'eau/le produit</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Contrôle de la durée et de la température de l'étape de blanchiment • Vérification de l'inactivation des enzymes au moyen de tests enzymatiques 	2	3	4	Voir a	PRPo 2: processus de blanchiment, durée/température
<p>Contamination par l'environnement de production, les équipements, les ustensiles</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Programme de nettoyage et de désinfection • Maintenance technique • Infrastructures 	2	3	4	P = 2, en raison du passage vers une zone soumise à un régime d'hygiène élevé	PRP «Nettoyage et désinfection» (section 2.1) PRP «Maintenance technique» (section 2.6) PRP «Infrastructures» (section 2.5)
<p>Contamination par les exploitants</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Formation et sensibilisation du personnel • Infrastructures: sas d'hygiène entre les différentes zones 	2	3	4	P = 2, en raison du passage vers une zone soumise à un régime d'hygiène élevé	PRP «Personnel» (section 2.3) PRP «Infrastructures» (section 2.5)

Utilisation d'eau/de vapeur contaminée – recyclage de l'eau	<ul style="list-style-type: none"> • Nettoyage et désinfection du système de tuyauterie • Décision sur le recyclage de l'eau lors de l'étape de blanchiment • Vérification de la contamination potentielle de l'eau et nécessité de désinfection de l'eau 	2	3	4	P = 2, en raison du passage vers une zone soumise à un régime d'hygiène élevé	PRP «Nettoyage et désinfection» (section 2.1) PRP «Gestion de l'eau» (section 2.2)
Refroidissement (zone 2: zone soumise à un régime d'hygiène élevé) — Graphique 2						
Croissance de <i>L. monocytogenes</i> lorsque le refroidissement est trop lent (en cas de survie après	<ul style="list-style-type: none"> • Contrôle de la durée/température de refroidissement 	2	3	4	Voir b	PRPo 3: suivi de la température de l'eau de refroidissement

blanchiment ou de post-contamination après blanchiment)	<ul style="list-style-type: none"> • Respect de la capacité de refroidissement — volume de produits qui peuvent passer par l'étape de refroidissement • Évaluation de la nécessité de désinfecter l'eau pour éviter l'accumulation de bactéries dans l'eau de refroidissement 					
Contamination par l'environnement de production, les équipements, les ustensiles	<ul style="list-style-type: none"> • Programme de nettoyage et de désinfection • Maintenance technique • Infrastructures 	2	3	4	P = 2, zone soumise à un régime d'hygiène élevé	PRP «Nettoyage et désinfection» (section 2.1) PRP «Maintenance technique» (section 2.6) PRP «Infrastructures» (section 2.5)
Contamination par les exploitants	<ul style="list-style-type: none"> • Formation et sensibilisation du personnel • Infrastructures: sas d'hygiène entre les différentes zones 	2	3	4	P = 2, zone soumise à un régime d'hygiène élevé	PRP «Personnel» (section 2.3) PRP «Infrastructures» (section 2.5)
Contamination croisée par l'eau contaminée	<ul style="list-style-type: none"> • Nettoyage et désinfection du système de conduites d'eau • Évaluation de la nécessité d'ajouter un désinfectant comme aide technologique pour maintenir la qualité de l'eau • Évaluation du volume d'eau ajouté dans les cuves de refroidissement pour rafraîchir l'eau de refroidissement 	2	3	4	P = 2, car zone 2	PRP «Nettoyage et désinfection» (section 2.1) PRP «Gestion de l'eau» (section 2.2)
<p>↳ En règle générale, la température du produit doit être ramenée en dessous de 10 °C en 1 minute, avec un maximum de 2 minutes (EFSA, 2018b). Il faut éviter de rester dans une plage de température comprise entre 50 °C et 10 °C.</p>						

Tri/inspection visuelle, éminçage/hachage, portionnement/mise en forme — Calibrage après congélation (zone 2: zone soumise à un régime d'hygiène élevé) — Graphiques 2 et 3						
Contamination par l'environnement de production, les équipements, les ustensiles et les produits alimentaires qui sont triés après un tri optique/visuel pour être traités comme des déchets	<ul style="list-style-type: none"> • Programme de nettoyage et de désinfection • Maintenance technique • Infrastructures 	2	3	4	P = 2, zone soumise à un régime d'hygiène élevé	PRP «Nettoyage et désinfection» (section 2.1) PRP «Maintenance technique» (section 2.6) PRP «Infrastructures» (section 2.5) PRP «Déchets» (section 2.7)

	<ul style="list-style-type: none"> Collecte correcte des déchets ou enlèvement des produits qui sont triés 					
Contamination par les exploitants	<ul style="list-style-type: none"> Formation et sensibilisation du personnel Infrastructures: sas d'hygiène entre les différentes zones 	2	3	4	P = 2, zone soumise à un régime d'hygiène élevé	PRP «Personnel» (section 2.3) PRP «Infrastructures» (section 2.5)
Contamination croisée à partir d'une zone 1	<p>Méthode de travail pour éviter la contamination croisée:</p> <ul style="list-style-type: none"> séparation des ustensiles/équipements pour les différentes zones poubelles pour la collecte des produits alimentaires qui sont triés 	2	3	4	P = 2, zone soumise à un régime d'hygiène élevé	PRP «Méthode de travail» (section 2.9)
Congélation/givrage (zone 2: zone soumise à un régime d'hygiène élevé) — Graphique 3						
Congélation trop lente ou fluctuations de température dans le congélateur, entraînant la croissance de <i>L. monocytogenes</i> /la contamination par <i>L. monocytogenes</i> — à des températures < - 18 °C	<ul style="list-style-type: none"> Validation et contrôle de la durée et de la température de congélation Durée/température/cycles de congélation à définir par groupe de produits (en fonction de la nature des légumes, de leur taille, etc.) 	2	3	4	Voir c	PRPo 4: durée/température de congélation
Contamination provenant de l'intérieur du tunnel de congélation/du congélateur (formation de biofilms, formation de gouttes, etc.)	<ul style="list-style-type: none"> Nettoyage et désinfection du tunnel de congélation, des bandes transporteuses, des installations Conception hygiénique (y compris la circulation d'air) 	2	3	4	P = 2, zone soumise à un régime d'hygiène élevé	PRP «Nettoyage et désinfection» (section 2.1) PRP «Infrastructures» (section 2.5)

Air contaminé (congélateur à air pulsé, par exemple)	<ul style="list-style-type: none"> • Vérification de l'origine de l'air • Nettoyage et désinfection, filtres appropriés et nettoyage des filtres et des évaporateurs 	2	3	4	P = 2, zone soumise à un régime d'hygiène élevé	PRP «Nettoyage et désinfection» (section 2.1) PRP «Infrastructures» (section 2.5)
--	--	---	---	---	---	--

Utilisation d'eau contaminée pour le givrage.	<ul style="list-style-type: none"> Nettoyage et désinfection du système de tuyauterie/des évaporateurs/des lances Utilisation d'eau potable 	2	3	4	P = 2, zone soumise à un régime d'hygiène élevé	PRP «Nettoyage et désinfection» (section 2.1) PRP «Gestion de l'eau» (section 2.2)
c Comme <i>L. monocytogenes</i> n'est pas entièrement éliminé lors du blanchiment et qu'une contamination croisée peut se produire, il est de la plus haute importance qu'aucune croissance ne se produise dans le congélateur						
Remplissage en vrac (zone 2 vers zone 1: passage d'une zone soumise à un régime d'hygiène élevé à une zone soumise à un régime peu élevé lorsque les emballages sont fermés) — Graphique 2						
Matériau d'emballage contaminé	<ul style="list-style-type: none"> Politique d'achat Environnement de stockage propre et sec En cas de matériaux réutilisables: assainissement approprié 	2	3	4	P = 2, régime d'hygiène élevé en raison du contact direct du matériau d'emballage avec le produit surgelé	PRP «Contrôle des matières premières» (section 2.8) PRP «Infrastructures» (section 2.5) PRP «Nettoyage et désinfection en cas de matériaux réutilisables» (section 2.1)
Contamination par l'environnement de production, les équipements, les ustensiles → utilisation de conteneurs pour vrac qui sont transportés et introduits dans une zone soumise à un régime d'hygiène élevé	<ul style="list-style-type: none"> Programme de nettoyage et de désinfection Infrastructures Méthode de travail applicable aux conteneurs pour vrac (instructions d'utilisation) 	2	3	4	P = 2, zone soumise à un régime d'hygiène peu élevé	PRP «Nettoyage et désinfection» (section 2.1) PRP «Infrastructures» (section 2.5) PRP «Méthode de travail» (section 2.9)
Contamination par les exploitants	<ul style="list-style-type: none"> Formation et sensibilisation du personnel Infrastructures: sas d'hygiène entre les différentes zones 	2	3	4	P = 2, zone soumise à un régime d'hygiène élevé	PRP «Personnel» (section 2.3) PRP «Infrastructures» (section 2.5)

<p>Croissance potentielle de <i>L. monocytogenes</i> en cas de fluctuations de température des produits, ou en cas de perturbation du flux vers le stockage en congélateur en raison de l'absence de contrôle de la température dans la partie de l'usine</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Méthode de travail: instructions sur le transport continu depuis les récipients pour vrac remplis de légumes surgelés vers le congélateur; fermeture étanche des conteneurs pour vrac • En cas d'interruption de travail → actions correctives à prendre à l'égard des produits (mesures de la température, échantillonnage des produits aux fins de la validation par lot) 	2	3	4	<p>P = 2, important pour éviter la croissance et la prolifération</p>	<p>PRP «Méthode de travail» (section 2.9)</p>
<p>Étiquetage et stockage en vrac (zone 3: zone sûre) — Graphique 2</p>						

Date de péremption/codification du produit incorrecte	<ul style="list-style-type: none"> Méthode de travail: la durée de conservation sera importante dans le cadre de l'identification et de la traçabilité 	1	3	3	Les températures sont trop basses pour la croissance de <i>L. monocytogenes</i> (surgelés)	PRP «Méthode de travail» (section 2.9)
Détérioration et contamination du produit par <i>L. monocytogenes</i> pendant le stockage (formation de gouttes, par exemple)	<ul style="list-style-type: none"> Maintien du local de stockage en bon état Méthode de travail: pas d'emballages sur le sol, pas d'emballages ouverts Nettoyage et désinfection réguliers 	1	3	3	Le produit est emballé et surgelé. (zone 3)	PRP «Infrastructures» (section 2.5) PRP «Méthode de travail» (section 2.9) PRP «Nettoyage et désinfection» (section 2.1)
Croissance de <i>L. monocytogenes</i> en cas de non-respect de la chaîne du froid	<ul style="list-style-type: none"> Contrôle de la température et de la durée de stockage Méthode de travail: principe FIFO 	2	3	4		PRP «Contrôle de la température» (section 2.4) PRP «Méthode de travail» (section 2.9)
Mélange avec des épices, des herbes ou d'autres produits surgelés et inspection (visuelle/automatique) et repesage/réemballage (zone 2: régime d'hygiène élevé) — Graphique 4						
Contamination lors de l'ouverture des emballages en vrac	<ul style="list-style-type: none"> Méthode de travail: ouvrir de manière hygiénique les emballages (récipients pour vrac avec des légumes surgelés, ou récipients de fournisseurs avec des ingrédients) afin d'éviter que la poussière ou les couches extérieures des matériaux d'emballage n'entrent en contact avec les légumes surgelés 	2	3	4	P = 2, régime d'hygiène élevé et emballages ouverts	PRP «Méthode de travail» (section 2.9)

Matériau d’emballage contaminé	<ul style="list-style-type: none"> • Politique d’achat • Environnement de stockage propre et sec • En cas de matériaux réutilisables: assainissement approprié 	2	3	4	P = 2, régime d’hygiène élevé en raison du contact direct du matériau d’emballage avec le produit surgelé	PRP «Contrôle des matières premières» (section 2.8) PRP «Infrastructures» (section 2.5) PRP «Nettoyage et désinfection en cas de matériaux réutilisables» (section 2.1)
Contamination par les exploitants	<ul style="list-style-type: none"> • Formation et sensibilisation du personnel 	2	3	4	P = 2, zone soumise à un régime d’hygiène élevé	PRP «Personnel» (section 2.3) PRP «Infrastructures» (section 2.5)

	<ul style="list-style-type: none"> • Infrastructures: sas d'hygiène entre les différentes zones 					
Contamination par l'environnement de production, les équipements, les ustensiles	<ul style="list-style-type: none"> • Programme de nettoyage et de désinfection • Maintenance technique • Infrastructures 	2	3	4	P = 2, zone soumise à un régime d'hygiène élevé	PRP «Nettoyage et désinfection» (section 2.1) PRP «Maintenance technique» (section 2.6) PRP «Infrastructures» (section 2.5)
Durée de sortie du congélateur trop longue, température du produit trop élevée permettant la croissance de <i>L. monocytogenes</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Contrôle de la durée et de la température dans cette zone • Méthode de travail: ne retirer qu'un nombre limité de conteneurs du stockage en congélation afin d'éviter une augmentation de la température des produits • En cas d'interruption de la production, prendre des mesures correctives à l'égard du produit, par exemple des mesures de la température, et décider de ce qu'il convient de faire avec les produits (prélèvement d'échantillons par lot et validation, par exemple) 	2	3	4	P = 2, zone soumise à un régime d'hygiène élevé	PRP «Contrôle de la température» (section 2.4) PRP «Méthode de travail» (section 2.9)
Détection de métaux/étiquetage/stockage/transport (zone 3: emballages fermés en zone sûre) — Graphique 4						
Date de péremption/codification du produit incorrecte	Méthode de travail: la durée de conservation sera importante dans le cadre de l'identification et de la traçabilité	1	3	3	Les températures sont trop basses pour la croissance de <i>L. monocytogenes</i> (surgelés).	PRP «Méthode de travail» (section 2.9)

Détérioration et contamination du produit par <i>L. monocytogenes</i> pendant le stockage (formation de gouttes, par exemple)	<ul style="list-style-type: none"> • Maintien du local de stockage et des moyens de transport en bon état • Méthode de travail: pas d’emballages sur le sol, pas d’emballages ouverts • Assainissement régulier 	1	3	3	Le produit est emballé et surgelé (zone 3)	PRP «Infrastructures» (section 2.5) PRP «Méthode de travail» (section 2.9) PRP «Nettoyage et désinfection» (section 2.1)
---	--	---	---	---	--	---

Croissance de <i>L. monocytogenes</i> en cas de non-respect de la chaîne du froid	<ul style="list-style-type: none"> • Contrôle de la température et de la durée de stockage (également pendant le transport) • Méthode de travail: principe FIFO 	2	3	4		PRP «Contrôle de la température» (section 2.4) PRP «Méthode de travail» (section 2.9)
---	---	---	---	---	--	---

Tableau 3. Surveillance et mesures correctives pour les PRPo définis dans le plan HACCP (tableau 2)

Remarque: chaque ESA doit vérifier si ces PRPo sont adaptés à leur objectif et les ajuster davantage au mode de production de l'entreprise

PRPo ou CCP	Étape du processus de production	Objectif	Validation	Surveillance	Mesures correctives
PRPo 1	Eau contaminée et formation de biofilms dans la cuve de lavage (pour les étapes de lavage) — dans le cas de produits non blanchis	Éviter l'accumulation de <i>L. monocytogenes</i> dans les cuves de lavage	- Évaluer et définir la fréquence et/ou le volume d'eau à rafraîchir dans les cuves de lavage - Évaluer et définir les conditions de recyclage de l'eau et la nécessité de traiter l'eau	- Surveiller l'application de la fréquence définie de rafraîchissement de l'eau et/ou de remplissage des cuves d'eau - Surveiller l'application des conditions définies pour le recyclage et/ou le traitement de l'eau (y compris la désinfection de l'eau) si nécessaire	- Rafraîchir et remplir les cuves d'eau - Revoir les conditions de recyclage et/ou de traitement de l'eau
PRPo 2	Blanchiment des légumes	La durée/température de blanchiment est trop courte/basse, de sorte que <i>L. monocytogenes</i> peut proliférer dans l'eau/le produit	- Évaluer et définir si la température/durée pourrait permettre la croissance ou la prolifération de <i>L. monocytogenes</i> pendant le processus de blanchiment pour les différents produits, coupes, saisons, etc.	Surveiller la durée/température de blanchiment en fonction de la durée/température validée pour les différents produits, coupes, saisons, etc.	- Si la durée et la température de blanchiment ne satisfont pas aux critères fixés, il faut procéder à une évaluation de la croissance potentielle de <i>L. monocytogenes</i> -En cas de croissance potentielle, il faut rafraîchir ou traiter l'eau de blanchiment et prélever des échantillons de produit afin d'évaluer la contamination potentielle du produit

PRPo 3	Refroidissement après blanchiment	Croissance de <i>L. monocytogenes</i> lorsque le refroidissement est trop lent (en cas de survie après	- Évaluer et définir si la température/le temps de refroidissement pourrait permettre la croissance ou la prolifération de <i>L.</i>	- Surveiller la durée et la température de refroidissement telles que définies dans la validation	- Si la durée et la température de refroidissement ne satisfont pas aux critères fixés, il faut procéder à une évaluation de la croissance potentielle
--------	-----------------------------------	--	--	---	--

		blanchiment ou de post-contamination après blanchiment)	<p><i>monocytogenes</i> pendant le refroidissement après blanchiment</p> <p>- Éviter de rester dans une plage de température comprise entre 50 °C et 10 °C en surveillant la température de l'eau et/ou le débit du produit</p> <p>- Évaluer et définir si la désinfection de l'eau de refroidissement est nécessaire</p>	<p>- En règle générale, la température du produit doit être ramenée en dessous de 10 °C en 1 minute, avec un maximum de 2 minutes (EFSA, 2018b)</p>	<p>de <i>L. monocytogenes</i></p> <p>- En cas de croissance potentielle, il faut rafraîchir ou traiter l'eau de refroidissement et prélever des échantillons de produit afin d'évaluer la contamination potentielle du produit</p>
PRPo 4	Congélation des légumes dans un tunnel de congélation	Congélation trop lente ou fluctuations de température dans le congélateur, entraînant la croissance de <i>L. monocytogenes</i> /la contamination par <i>L. monocytogenes</i> — à des températures < -18 °C	- Durée/température/cycles de congélation à évaluer et à définir par groupe de produits (en fonction de la nature des légumes, de leur taille, etc.)	<p>- Surveiller la durée/température du tunnel de congélation et la température du produit</p> <p>- Vérifier qu'il n'y a pas d'accumulation de produits dans le tunnel de congélation</p>	<p>- Si la durée/température validée d'un produit particulier pendant la congélation n'est pas respectée, il faut vérifier qu'il n'y a pas d'accumulation de produits dans le tunnel de congélation</p> <p>- Évaluer si la température du produit est supérieure à -4 °C (le cas échéant, l'activité microbologique et la croissance potentielle de <i>L. monocytogenes</i> peuvent se reproduire)</p> <p>- Le cas échéant, un nettoyage/une désinfection du tunnel de congélation doit être organisé(e)</p>

4. Échantillonnage environnemental aux fins de la maîtrise de *L. monocytogenes* en tant qu'agent pathogène présent dans l'environnement et vérification des mesures de prévention/maîtrise appliquées

Étant donné que *L. monocytogenes* est un agent pathogène présent dans l'environnement et que l'accumulation microbiologique n'est pas détectable visuellement, un échantillonnage environnemental est nécessaire pour examiner l'environnement de production à la recherche de niches potentielles de *L. monocytogenes*. L'objectif de la surveillance environnementale est triple:

- 1) vérifier l'efficacité des mesures de prévention et de maîtrise (PRP et plan HACCP);
- 2) détecter *L. monocytogenes* et les niches éventuelles dans l'usine; et
- 3) s'assurer que les mesures correctives ont permis l'élimination de *L. monocytogenes* en cas de détection dans l'usine.

Références importantes sur l'échantillonnage environnemental:

- a) les principes de la procédure d'échantillonnage environnemental sont décrits dans la norme EN ISO 18593:2018;
- b) les analyses de détection de *L. monocytogenes* dans les échantillons environnementaux sont décrites dans la méthode de la norme EN ISO 11290-1;
- c) le laboratoire de référence de l'UE pour *L. monocytogenes* (EURL *L. monocytogenes*) a fourni un document d'orientation sur le prélèvement d'échantillons dans les zones de transformation et sur les équipements aux fins de la détection de *L. monocytogenes* (EURL *L. monocytogenes*, 2012);
- a) assistance scientifique et technique urgente en vue de fournir des recommandations sur le prélèvement d'échantillons et la réalisation de tests dans les usines de transformation de légumes surgelés aux fins de la détection de *L. monocytogenes* (EFSA, 2018b);
- b) des références aux protocoles d'examen environnemental préalable sont également disponibles dans Lakshmikanta (2013) et CAC (2007);
- c) Zoellner et al. (2019) présentent une méthode de modélisation intéressante pour déterminer le lieu et le moment d'échantillonnage les plus appropriés dans une usine de production de produits congelés.

4.1 *Listeria* spp. ou *L. monocytogenes*?

Il convient de noter qu'à certaines occasions, les fabricants de produits alimentaires préfèrent procéder à une surveillance de l'environnement afin de détecter la présence de *Listeria* spp. non pathogène comme indicateur de la présence de *L. monocytogenes*. Le ciblage de ce groupe plus large de *Listeria* spp. en tant qu'organismes indicateurs pourrait conduire à une vérification plus solide de l'assainissement adéquat des conditions environnementales (et constituer par conséquent un bon indicateur de l'hygiène adéquate du processus) et permettre de corriger les situations qui conduisent potentiellement à une contamination par *L. monocytogenes* (CAC, 2007). L'utilisation de *Listeria* spp. comme organisme marqueur/indicateur de la présence de *L. monocytogenes* est discutable. *Listeria* spp. comprend également d'autres espèces non pathogènes qui sont aussi des micro-organismes omniprésents et que l'on rencontre occasionnellement dans les denrées alimentaires ou dans un environnement de production alimentaire. Ainsi, la simple présence de *Listeria* spp. n'indique pas nécessairement la présence de l'agent pathogène *L. monocytogenes*. Selon l'EFSA (2018b), il est recommandé de tester directement la présence de *L. monocytogenes* en suivant le protocole de la norme EN ISO 11290-1 (détection) et, en cas de résultat positif, il est fortement recommandé d'envoyer les isolats dont il est confirmé qu'ils sont des *L. monocytogenes* à un LNR ou à l'EURL afin de procéder à une caractérisation plus poussée (typage). Il est certain qu'en cas d'enquêtes visant à déterminer la source potentielle de *L. monocytogenes* lors d'une épidémie de listériose, il est nécessaire de réaliser une analyse de détection de la présence de *L. monocytogenes* (EFSA, 2018b).

4.2 Lieux d'échantillonnage

Le plan de surveillance de l'environnement doit inclure des lieux d'échantillonnage choisis en fonction du potentiel de contamination du site par *L. monocytogenes*. Il appartient à l'ESA d'élaborer des informations historiques sur les résultats de ce dépistage, de manière à pouvoir déterminer les zones critiques de

l’environnement de production, par exemple certains équipements (en contact direct ou indirect), certaines périodes de l’année, la production de certains produits, etc. Un ESA peut générer une longue liste de sites (y compris les surfaces en contact ou non avec les denrées alimentaires) sur lesquels des échantillons sont prélevés de manière aléatoire, mais il est recommandé de tester tous ces lieux d’échantillonnage pendant une certaine période de temps. Il est recommandé de différencier les lieux d’échantillonnage en fonction de leur potentiel de contamination croisée par *L. monocytogenes* des produits alimentaires et des niches de l’organisme. Un exemple de différenciation est donné dans le tableau 4. Une longue liste de lieux d’échantillonnage potentiels est fournie dans le document de l’EFSA (2018b). Il est conseillé de disposer de lieux d’échantillonnage fixes et de lieux d’échantillonnage en alternance, qui changent à chaque moment d’échantillonnage dans une proportion de 70/30, ce qui signifie que 70 % des lieux sont fixes et 30 % des lieux sont alternés pour chaque cycle d’échantillonnage.

Tableau 4. Aperçu des types de surfaces en contact ou non avec les denrées alimentaires, des lieux d’échantillonnage potentiels et de la fréquence d’échantillonnage proposée (sur la base du tableau 1)

Type	Description	Exemples de lieux d’échantillonnage	Fréquence proposée d’échantillonnage
1	Surfaces en contact direct avec les denrées alimentaires	Intérieur des cuves, machines d’emballage et transporteurs, trémies, intérieur des tuyaux	Toutes les semaines
2	Surfaces n’entrant pas en contact avec les denrées alimentaires situées à proximité immédiate des surfaces en contact avec les denrées alimentaires	Bâtis, murs, sols ou canalisations se situant dans l’environnement direct des surfaces en contact avec les denrées alimentaires	Tous les mois
3	Surfaces davantage isolées n’entrant pas en contact avec les denrées alimentaires et susceptibles d’entraîner une contamination	Chariots élévateurs à fourche, roues de poubelles/d’appareils, pédiluves pour le personnel, sols et canalisations qui ne sont pas en contact direct avec les surfaces en contact avec les denrées alimentaires	Tous les 6 mois
4	Surfaces n’entrant pas en contact avec les denrées alimentaires et zones éloignées de l’environnement de transformation	Couloirs en dehors de la zone de production, zones dans lesquelles sont stockés les matières premières ou les produits finis. Bâtis, murs, sols ou canalisations NE se situant PAS dans l’environnement direct des surfaces en contact avec les denrées alimentaires	Tous les 6 mois

4.3 Fréquence d’échantillonnage, moment d’échantillonnage, zone d’échantillonnage et techniques d’échantillonnage

La **fréquence d’échantillonnage** doit être plus intensive dans les zones dans lesquelles un régime d’hygiène élevé est requis (voir section 2.5 «Infrastructures») et pour les lieux d’échantillonnage appartenant aux types 1 > 2 > 3 et 4. En cas d’enquête épidémiologique, un plan d’échantillonnage plus concis tel que présenté par l’EFSA doit être suivi (EFSA, 2018b).

Outre les lieux et les fréquences d’échantillonnage, il est possible de préciser le **moment** auquel les échantillons environnementaux seront prélevés. Le moment le plus important pour prélever ces échantillons est plusieurs heures après le début de la production (par exemple 3 à 4 heures) ou de préférence juste avant le nettoyage, car cela permet à *L. monocytogenes* (en cas de détection) de sortir des niches et de contaminer l’environnement de production. Une alternance doit être prévue dans le jour et l’heure d’échantillonnage afin d’obtenir un diagramme de dispersion complet des contaminations potentielles. Si les échantillons sont prélevés très peu de temps après la désinfection, l’agent de désinfection peut ne pas être correctement neutralisé et risque d’interférer avec le test analytique. De plus amples informations sont disponibles dans le document de l’EFSA (2018b). Comme mentionné à la section 3.1, l’objectif de cet échantillonnage environnemental n’est pas de vérifier si les activités de nettoyage et de désinfection effectuées sont efficaces,

mais d'obtenir une vérification complète des mesures préventives et correctives mises en œuvre dans le cadre de la maîtrise de *L. monocytogenes*.

Diverses techniques et zones d'échantillonnage sont décrites d'une manière générale dans la norme EN ISO 18593:2018 et précisées dans les «Guidelines on sampling the food processing area and equipment for the detection of *Listeria monocytogenes*» (EURL pour *Listeria monocytogenes*, 2012). En résumé:

- pour le prélèvement d'échantillons dans des **zones ou fissures petites/étroites difficiles d'accès**, on utilise des écouvillons pour l'échantillonnage; typiquement $\leq 100 \text{ cm}^2$ sont échantillonnés (prélèvement d'échantillons dans des fissures étroites sur plusieurs mètres, par exemple);
- pour le prélèvement d'échantillons sur de **grandes surfaces**, on utilise des chiffons ou des éponges stériles; typiquement $> 100 \text{ cm}^2$ — surface totale échantillonnée aussi grande que possible pour augmenter la probabilité de détecter *L. monocytogenes*. Il est recommandé de prélever des échantillons sur une surface comprise entre 1 000 et 3 000 cm^2 .

4.4 Traitement des données et analyse/observation des tendances

Sur la base des résultats de l'analyse, une base de données et des connaissances historiques peuvent être constituées. Les informations suivantes peuvent être récupérées afin d'avoir un aperçu des voies de contamination potentielles dans le cadre de l'observation des tendances: la sensibilité du lieu d'échantillonnage, le produit concerné, la période de l'année (variabilité saisonnière), le personnel concerné et d'autres questions qui peuvent avoir une incidence sur la contamination, par exemple la maintenance technique, le changement de personnel, le changement d'équipements, l'utilisation saisonnière des équipements, etc. Cette observation des tendances peut aider les ESA à comprendre quand leur usine peut être plus sensible à la contamination par *L. monocytogenes*. Un plan de l'usine mentionnant les endroits sensibles à la contamination peut faciliter la communication. Les programmes de surveillance de l'environnement doivent être adaptés afin de recueillir de nouvelles informations à la suite de l'examen des tendances et des données.

4.5 Mesures correctives

Si un test de contrôle est positif à *L. monocytogenes*, un dépistage plus spécifique sur les lieux d'échantillonnage positifs et son environnement plus large est nécessaire, et des mesures correctives supplémentaires doivent être prises. Les mesures suivantes doivent être prises afin d'analyser les causes profondes et d'éviter les problèmes futurs:

- a) en cas de détection de *L. monocytogenes* lors d'essais environnementaux, il est fortement recommandé de conserver les isolats au cas où une enquête (interne) plus approfondie serait requise par l'ESA. Une enquête plus approfondie peut consister en une caractérisation des souches, par exemple le génotypage afin de pouvoir localiser la source microbienne. Par exemple, en cas de résultats positifs récurrents au test de détection de *L. monocytogenes*, le génotypage des isolats collectés peut fournir des informations sur le fait que la présence récurrente de *L. monocytogenes* est liée ou non à une souche «interne» persistante particulière de *L. monocytogenes*. Cette recommandation est également importante en cas de détection positive de l'échantillon de produit (voir section 5.1);
- b) un nettoyage et une désinfection intensifs de la zone d'échantillonnage sont nécessaires, suivis d'une surveillance plus intensive jusqu'à ce que le problème de contamination soit résolu;
- c) il faut établir un lien avec les lots de produits surgelés produits au cours de la même période de contamination environnementale positive afin d'évaluer la contamination potentielle des denrées alimentaires transformées:
 - c1) une évaluation des risques bien documentée et une observation/analyse des tendances doivent être effectuées pour les lots qui ont été traités pendant l'événement de contamination, en tenant compte de toute autre donnée historique de la contamination par *L. monocytogenes* de lots de produits ou d'essais environnementaux qui a été constatée avant la dernière incidence de *L. monocytogenes* dans l'entreprise. Cette évaluation des risques peut inclure, par exemple, la

détermination des voies de contamination potentielles de l'environnement de production vers les denrées alimentaires, le type de matières premières ou d'ingrédients utilisés et les informations sur leurs fournisseurs, toute activité inhabituelle dans l'entreprise (changement de personnel, construction en cours, modification des procédures de nettoyage et de désinfection, utilisation d'équipements saisonniers, différents paramètres de processus, etc.), et doit être étayée par les données historiques de l'analyse des produits et de l'environnement;

c2) en l'absence de résultats d'analyse des produits finis (données historiques), et lorsqu'une évaluation des risques indique une probabilité accrue de contamination des lots congelés pendant la période de détection de la contamination environnementale, il est recommandé de prélever des échantillons des lots concernés afin de confirmer si le ou les lots de produits finis ont été contaminés et devraient être considérés comme inacceptables (il est recommandé de prélever au moins $n = 5$ unités d'échantillon par lot analysé aux fins de la détection de *L. monocytogenes* dans 25 g).

En résumé, les données historiques disponibles (voir c1) ainsi que les données provenant d'un échantillonnage temporairement intensifié du produit fini (si nécessaire, voir c2) sur les lots de surgelés produits au cours de la même période que celle où les tests de surveillance de l'environnement ont été positifs à *L. monocytogenes* doivent démontrer que le produit fini est conforme à la limite intermédiaire fixée pour le produit (de préférence, *L. monocytogenes* non détecté dans 25 g et à tout moment < 10 CFU/g ou toute autre limite intermédiaire fixée, voir section 5.1). Par conséquent, une évaluation des risques bien documentée est nécessaire, et une observation/analyse détaillée des tendances permettant de relier les résultats de l'échantillonnage environnemental aux échantillons de produits doit être réalisée pour constituer des données historiques;

- d) évaluation de la formation éventuelle de biofilms, détermination de la source de la contamination et prise en considération de mesures spécifiques d'élimination des biofilms;
- e) le programme de surveillance doit être adapté (c'est-à-dire autres sites d'échantillonnage, changement de fréquence) afin d'assurer une meilleure surveillance à l'avenir;
- f) organisation d'une communication claire sur la contamination détectée aux personnes concernées et responsables des activités de nettoyage et de désinfection, des activités de maintenance et des activités opérationnelles.

4.6 Procédure d'examen environnemental préalable aux fins de la détection de *L. monocytogenes*

Une procédure d'examen environnemental préalable doit être établie par l'ESA et devrait comprendre les éléments suivants:

- 1) la détermination des lieux d'échantillonnage;
- 2) la détermination de la surface d'échantillonnage (cm^2 à analyser);
- 3) la définition de la fréquence d'échantillonnage (en tenant compte des différents régimes d'hygiène et des types de lieux d'échantillonnage, voir tableau 4), et du moment d'échantillonnage;
- 4) le protocole utilisé pour la détection de *Listeria* spp. ou de *L. monocytogenes* dans des échantillons environnementaux dans un laboratoire de contrôle de la qualité (voir EFSA, 2018b);
- 5) la méthode d'échantillonnage (écouvillonnage ou autre) et le moyen de transport des échantillons vers le laboratoire;
- 6) l'analyse des tendances des résultats obtenus afin de pouvoir déterminer les éventuelles mesures correctives ou préventives supplémentaires qui doivent être prises en tant qu'action corrective;
- 7) la prévision d'un réexamen annuel de la procédure d'examen environnemental préalable aux fins d'une mise à jour en fonction des nouvelles évolutions dans les zones de production (nouveaux équipements, autre établissement de zones, etc.), des nouveaux éléments dans les méthodes de production, etc.;
- 8) la désignation d'une personne responsable pour élaborer cette procédure, assurer le suivi et prendre des mesures en cas de contamination potentielle;
- 9) la définition d'un moyen de communication dans l'organisation au cas où un résultat positif serait détecté et où des mesures correctives devraient être prises.

5. Spécifications du produit fini et communication sur les risques aux utilisateurs de légumes surgelés

Il est clair que, bien que des PRP, un plan HACCP et un PMS bien appliqués puissent être en place, il ne peut être exclu que certains produits surgelés soient parfois contaminés par de faibles niveaux de *L. monocytogenes* (détecté pour 25 g, mais généralement < 10 CFU/g). *L. monocytogenes* peut être présent car aucune étape d'inactivation thermique complète n'est prévue dans le processus de production (le blanchiment est conçu comme un traitement thermique technologique et n'est pas nécessairement validé pour garantir une réduction de 6 log de *L. monocytogenes*; voir le plan HACCP, section 3). En outre, le processus de surgélation se situe après le blanchiment et est un processus ouvert. Par conséquent, même en respectant un PRP strict, la contamination par *L. monocytogenes* ne peut pas être complètement évitée dans les processus de production et les infrastructures typiques appliqués dans cette industrie des légumes surgelés (voir le plan HACCP, section 3). Les présentes recommandations portent sur les légumes surgelés, qui sont considérés comme des denrées alimentaires non prêtes à être consommées (nRTE).

Par conséquent, il est important qu'une **stratégie de communication claire** soit utilisée pour informer les utilisateurs sur le fait que les légumes surgelés sont destinés au secteur B2B (industrie alimentaire, restauration collective ou activités horeca) ou au secteur B2C (légumes surgelés distribués aux consommateurs dans le commerce de détail). Cette communication devrait se faire non seulement au moyen de l'étiquetage ou des spécifications techniques du produit fini, mais aussi par d'autres moyens de communication tels que les sites internet, les recettes, les brochures d'information, les médias sociaux, etc. La communication doit être cohérente afin d'éviter tout malentendu sur la manière de stocker, de décongeler et de préparer ou d'utiliser ces légumes surgelés de manière appropriée.

Dans la présente section, les principes du plan d'échantillonnage aux fins de l'analyse des produits finis, les spécifications des produits finis et les stratégies de communication sur les risques sont également proposés, sur la base des tests de provocation (annexe III) et de l'avis de l'EFSA (EFSA, 2020).

5.1 Tests en vue d'une limite intermédiaire fixée pour *L. monocytogenes* afin de vérifier le plan de maîtrise sanitaire des risques alimentaires (PMS)

Différentes stratégies d'échantillonnage des **produits finis (B2B ou B2C)** peuvent être définies (à savoir échantillonnage par lots aux fins de leur validation, contrôle visant à détecter un taux de prévalence des agents pathogènes dans les denrées alimentaires sur la base de méthodes statistiques).

Toutefois, l'échantillonnage est un outil de **vérification du PMS** qui permet d'obtenir des informations sur la sûreté des denrées alimentaires produites, compte tenu du processus de production en place et du PMS mis en œuvre. L'analyse des produits finis reflète l'intégration effective de toutes les étapes de prévention et de maîtrise dans la formulation et la fabrication des denrées alimentaires mises sur le marché (Zwietering et al., 2016). L'**échantillonnage annuel** dans le cadre de la vérification permettra à l'ESA de se faire une idée de la variabilité de la contamination et d'observer/analyser les tendances (par exemple à quelle période de l'année ou pour quel type de légumes surgelés rencontre-t-on le plus de problèmes, et quelle pourrait en être la raison éventuelle?). La taille réelle de l'échantillon (ou le nombre d'échantillons) prélevé aux fins de l'analyse du produit fini dans le cadre d'une vérification du PMS est souvent déterminée du point de vue de ce qui est économiquement faisable et/ou des exigences des clients. Ces **plans d'échantillonnage de commodité aléatoire** sont également connus sous le nom de plans d'échantillonnage pragmatiques ou empiriques (CAC, 2004). Le nombre et le type d'échantillons sont pour la plupart sélectionnés de manière intuitive, sur la base de l'expérience et des connaissances du responsable de la qualité ou des opérations sur le site de production concernant les lieux et les moments d'échantillonnage (Uyttendaele et al., 2018).

Pour la production et le commerce de légumes surgelés, un **plan d'échantillonnage annuel du produit fini dans le cadre d'une vérification du PMS** doit être conçu par les ESA actifs dans la production de légumes surgelés pour vérifier les mesures de prévention et de maîtrise mises en œuvre dans le cadre de la maîtrise de *L. monocytogenes* (graphique 1). Dans le plan d'échantillonnage, le nombre d'échantillons de produits finis prélevés chaque année pour différents légumes surgelés en tant que produits finis (B2B ou B2C) et la fréquence d'échantillonnage (ou l'intervalle entre deux échantillonnages) doivent être établis, en tenant compte des éléments suivants:

- les différentes catégories de produits surgelés (c'est-à-dire le type de légume, les produits simples ou mélangés);
- le type de processus de production (blanchiment/non blanchiment);
- le volume de production;
- la sensibilité potentielle à la présence de *L. monocytogenes*;
- la saisonnalité de la production;
- le potentiel de soutien à la croissance ou à l'absence de croissance (voir section 4.1);
- etc.

Dans le cadre d'un plan d'échantillonnage annuel aux fins d'une vérification, les échantillons sont analysés afin de détecter la présence ou non de *L. monocytogenes* dans 25 g. En cas de présence, un dénombrement supplémentaire doit être effectué, sur les mêmes échantillons, afin de vérifier si les limites intermédiaires fixées sont atteintes (< 10 CFU/g) ou non. Cependant, il est probable qu'en raison de la distribution hétérogène d'une contamination par *L. monocytogenes* dans un lot, certains produits soient contaminés et d'autres non. Il est donc possible qu'une nouvelle analyse du même échantillon fasse apparaître d'autres résultats. Dans le plan d'échantillonnage annuel, il est donc recommandé de procéder à un dénombrement direct de *L. monocytogenes* de temps en temps (par exemple tous les x échantillons, il convient de procéder à un dénombrement direct de *L. monocytogenes* afin de démontrer que la limite intermédiaire de < 10 CFU/g n'est pas dépassée). Les protocoles d'analyse sont définis dans les normes EN ISO 11290-1 (détection de *L. monocytogenes* dans les denrées alimentaires) et EN ISO 11290-2 (dénombrement de *L. monocytogenes* dans les denrées alimentaires) ou des méthodes rapides équivalentes (validées selon la norme ISO 16140). En cas de

détection positive, il peut être utile de procéder à une caractérisation des isolats (typage) par un laboratoire national de référence (LNR) reconnu ou par le laboratoire de référence de l'UE pour *L. monocytogenes* (EURL *L. monocytogenes*) (EFSA, 2018b). Par exemple, en cas de résultats positifs récurrents au test de détection de *L. monocytogenes*, le géotypage des isolats collectés peut fournir des informations sur le fait que la présence récurrente de *L. monocytogenes* est liée ou non à une souche «interne» persistante particulière de *L. monocytogenes* (voir également les mesures correctives dans le cadre de la surveillance de l'environnement, section 4.5). En outre, sur la base de l'échantillonnage du produit fini, une **analyse/observation des tendances** peut être réalisée afin d'obtenir un aperçu des contaminations potentielles des produits et des sources de contamination aux facteurs indiqués ci-dessus.

5.2. Spécifications du produit fini et communication sur les risques

Les présentes recommandations portent sur les légumes surgelés, qui sont considérés comme des denrées alimentaires non prêtes à être consommées (nRTE). Toutefois, PROFEL est conscient que certains consommateurs (professionnels ou non) peuvent ne pas lire l'étiquette et tient compte des «abus raisonnablement prévisibles», à savoir du fait que certains de ces légumes surgelés sont utilisés comme des denrées prêtes à être consommées et ne sont pas cuits avant d'être consommés. En outre, le secteur tient compte des «abus raisonnablement prévisibles» concernant certains consommateurs qui ne décongèlent pas correctement les denrées alimentaires ou ne les chauffent pas suffisamment (moins de 2 minutes à 70 °C).

Par conséquent, le secteur vise à prévenir grâce à l'application de bonnes pratiques, comme le stipule le présent document, la contamination des denrées alimentaires congelées par *L. monocytogenes* (c'est-à-dire que la valeur cible n'est pas détectée dans 25 g) et, sur la base des tests de provocation (voir annexe III), y compris les abus raisonnablement prévisibles lors de la décongélation sous réfrigération (tests de provocation effectués dans le réfrigérateur à 9 ± 1 °C, c'est-à-dire à une température supérieure à la température recommandée sur l'étiquette, et en utilisant un isolat de *L. monocytogenes* à croissance rapide prélevé lors de l'épidémie associée à du maïs doux congelé en 2018), a fixé une limite intermédiaire inférieure à 10 CFU/g.

Il convient de noter que le risque de faux positifs est faible avec la méthode de détection de *L. monocytogenes* (ISO 11290-1) ou la méthode de dénombrement de *L. monocytogenes* (ISO 11290-2) ou les méthodes de détection rapide validées par la norme ISO 16140, mais qu'en fait, une distribution bactérienne non homogène pourrait bien expliquer la discordance entre les résultats si l'on effectue le dénombrement et la détection sur un sous-échantillon différent du lot, en particulier pour les faibles dénombrements. En outre, il convient de noter que l'échantillonnage et les tests sont soumis à des restrictions afin de garantir la sécurité alimentaire d'un lot de denrées alimentaires (de plus amples informations sont disponibles sur le site internet de l'ICMSF, <http://www.icmsf.org/>).

Sur la base des tests de provocation (voir annexe III), de l'avis de l'EFSA (2020) et des discussions des experts dans le cadre de l'élaboration des présentes recommandations d'hygiène, les **spécifications du produit fini** suivantes, **combinées à l'étiquetage du produit et à la communication sur les risques, sont proposées pour les légumes surgelés (en tant que denrées alimentaires non prêtes à être consommées)**:

	Valeur cible — après production	Limite intermédiaire — après production	Tout au long de leur durée de conservation, tant lors du stockage au congélateur que lors de la décongélation/du stockage au réfrigérateur ¹
<i>L. monocytogenes</i>	Non détecté dans 25 g (a)	< 10 CFU/g (b)	< 100 CFU/g (c)

¹ Il convient de noter que les légumes surgelés sont supposés être des denrées alimentaires non prêtes à être consommées.

- la valeur cible, si les recommandations d'hygiène proposées pour la production de légumes surgelés aux fins de la maîtrise de *L. monocytogenes* sont respectées;
- toutefois, bien que des PRP, un plan HACCP et un PMS bien appliqués soient en place, il ne peut être exclu que certains produits surgelés soient parfois contaminés par de faibles niveaux de

L. monocytogenes, c'est pourquoi la limite intermédiaire peut être fixée à < 10 CFU/g;

- c) l'objectif de sécurité alimentaire à l'égard de *L. monocytogenes* afin de garantir des denrées alimentaires sûres aux consommateurs (pour le groupe de population non sensible: pour la définition, voir section 5.2.2).

5.2.1. Communication sur les risques au moyen de l'étiquetage du produit

Compte tenu des résultats des tests de provocation de *L. monocytogenes* visant à évaluer le comportement de l'agent pathogène lors de la décongélation/du stockage réfrigéré de légumes surgelés dans des conditions raisonnablement prévues au domicile du consommateur (voir annexe III), il est recommandé de communiquer davantage sur les risques et d'informer les utilisateurs sur l'étiquette du produit, les spécifications techniques, les sites internet, les médias sociaux, etc. Sur la base des résultats et du potentiel de croissance différent de *L. monocytogenes* résultant des tests de provocation effectués (annexe III) et de la modélisation de la croissance réalisée par l'EFSA (EFSA, 2020), il est recommandé d'utiliser une communication sur les risques différente pour le maïs doux et les patates douces surgelés et pour les autres légumes surgelés.

1) Pour le maïs doux et les patates douces surgelés

Étant donné que le potentiel de croissance établi de *L. monocytogenes* est supérieur à 1 log₁₀ pendant la durée de décongélation/stockage frigorifique de 24 heures, le maïs doux et les patates douces surgelés doivent être considérés comme des denrées alimentaires surgelées non prêtes à être consommées.

Par conséquent, une communication cohérente et sectorielle avec le consommateur au moyen de l'étiquetage de l'emballage de détail est recommandée. L'étiquette des produits finis emballés, dans le cas d'emballages B2B ou B2C, doit clairement mentionner:

- 1) les conditions pour un stockage au congélateur approprié (durée/température) à – 18 °C et – 12 °C;
- 2) des conseils sur l'utilisation des produits:
 - a. *cuisson nécessaire (produit nRTE) et instructions de cuisson (mode, durée, température, etc.)**;
 - b. *«Ne pas décongeler avant la cuisson» (pas de décongélation préalable et de stockage au réfrigérateur recommandés/ne pas consommer sans une cuisson pendant au moins 2 minutes à une température supérieure à 70 °C).*

*En outre, la consommation de légumes surgelés comme denrées alimentaires prêtes à être consommées par les utilisateurs finaux peut être découragée en mentionnant les instructions de préparation (diverses suggestions de traitement thermique) sur l'étiquette.

2) Pour les autres légumes surgelés

Étant donné que le potentiel de croissance établi de *L. monocytogenes* est inférieur à 1 log₁₀ pendant la durée de décongélation/stockage frigorifique de 24 heures, les autres légumes surgelés soumis à des tests de provocation (pois, panais, chou blanc) et les autres légumes surgelés qui ont été repris dans la catégorisation des légumes surgelés et qui ont été classés comme étant moins à risque que les cinq légumes surgelés sélectionnés qui ont fait l'objet de tests de provocation de *L. monocytogenes* (voir annexe III) ne doivent pas être décongelés ou soumis à un stockage au réfrigérateur pendant plus de 24 heures. Ils sont également utilisés comme des denrées alimentaires non prêtes à être consommées.

La communication cohérente et sectorielle suivante avec le consommateur au moyen de l'étiquetage de l'emballage de détail est recommandée. L'étiquette des produits finis emballés, dans le cas d'emballages B2B ou B2C, doit clairement mentionner:

- 1) les conditions pour un stockage au congélateur approprié (durée/température) à – 18 °C et – 12 °C;
- 2) des conseils sur l'utilisation des produits:
 - a. *cuisson nécessaire (produit nRTE) et instructions de cuisson (mode, durée, température, etc.)**;
 - b. *instructions de décongélation (si nécessaire);*
 - c. *la décongélation et le stockage au réfrigérateur doivent être limités à un maximum de 24 heures*

à 5-7 °C**.

*En outre, la consommation de légumes surgelés comme denrées alimentaires prêtes à être consommées par les utilisateurs finaux peut être découragée en mentionnant les instructions de préparation (diverses suggestions de traitement thermique) sur l'étiquette.

**Température de réfrigération entre 5-7 °C, ou sur spécification de l'autorité nationale compétente, car la législation nationale sur la température des produits peut différer entre les États membres de l'UE.

5.2.2. Communication sur les risques aux groupes sensibles

Dans le cas où les légumes surgelés sont destinés à des consommateurs sensibles, ces légumes doivent être considérés comme des denrées alimentaires non prêtes à être consommées et un traitement thermique adéquat est par conséquent obligatoire pendant la préparation et doit être clairement communiqué au service de restauration ou au groupe sensible à la listériose, en particulier les femmes enceintes, les personnes âgées de plus de 74 ans et les patients présentant une immunodéficience, c'est-à-dire ceux qui souffrent de maladies sous-jacentes reconnues (maladie du foie, cancer, diabète, etc.) ou qui ont subi une transplantation d'organe. Ces groupes de personnes dont les affections sous-jacentes étaient associées à l'incidence la plus élevée de listériose représentent environ 1 % de la population totale (en France), mais 43 % des cas et 55 % des décès (Goulet et al., 2012). Au lieu de s'adresser directement à ces personnes, il pourrait également être utile d'informer clairement le personnel médical, les professionnels de la santé, les soignants ou les personnes qui donnent des conseils diététiques à ces personnes sur la nécessité de respecter des conditions de décongélation appropriées («*La décongélation et le stockage au réfrigérateur doivent être limités à un maximum de 24 heures à 5-7 °C*») et, pour tous les légumes surgelés, d'insister sur la «*nécessité d'une cuisson pendant au moins 2 minutes à une température supérieure à 70 °C*» avant consommation.

La communication à l'intention de ces groupes de consommateurs sensibles est une initiative qui doit également être prise par les agences de santé publique, les autorités de sécurité alimentaire ou les organisations non gouvernementales actives dans ce domaine du secteur des soins de santé. Toutefois, il s'agit également d'une responsabilité partagée avec d'autres acteurs de la chaîne alimentaire: en particulier, lorsque des légumes surgelés sont vendus dans un cadre B2B à des services de restauration collective pour hôpitaux ou institutions résidentielles, ce type de communication sur les risques devrait être pris en considération.

Néanmoins, les légumes surgelés restent la meilleure (et la seule) alternative, pour autant qu'ils soient soumis à un traitement thermique approprié avant leur consommation, pour les personnes souffrant d'affections ou de maladies sous-jacentes reconnues qui affaiblissent l'immunité à médiation cellulaire, et pour les femmes enceintes qui doivent manger des légumes (dans le cadre d'un régime alimentaire sain), car la consommation de produits frais pour ces types de groupes sensibles nécessitant un régime alimentaire à faible teneur en microbes (neutropénique) n'est pas recommandée.

Des recommandations pour ces personnes/professionnels de la santé sont disponibles aux adresses internet suivantes:

- <https://www.health.belgium.be/nl/advies-9311-listeriose>. En outre, l'annexe de ce document téléchargeable (disponible en néerlandais et en français) contient plusieurs liens vers les recommandations de différents pays;
- <https://www.food.gov.uk/research/research-projects/development-of-an-initial-report-for-reducing-the-risk-of-vulnerable-groups-contracting-listeriosis>; et <https://www.food.gov.uk/sites/default/files/media/document/listeria-guidance-june2016-rev.pdf>

Annex I: legal references

Commission Notice C278/2016. Commission notice on the implementation of food safety management systems covering prerequisite programs (PRPs) and procedures based on the HACCP principles, including the facilitation/flexibility of the implementation in certain food businesses (2016/C 278/01). Official Journal of the European Union: C 278/271-C 278/232.

Commission Notice C163/2017. Commission notice on guidance document on addressing microbiological risks in fresh fruits and vegetables at primary production through good hygiene (2017/C 163/01). Official Journal of the European Union: C 163/1

Directive (EC) 89/109. Council Directive 89/108/EEC of 21 December 1988 on the approximation of the laws of the Member States relating to quick-frozen foodstuffs for human consumption

Regulation (EC) No 178/2002 Regulation (EC) No 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002 laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority and laying down procedures in matters of food safety. OJ L 31, 1.2.2002, p. 1–24

Regulation (EC) No 852/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on the hygiene of foodstuffs. OJ L 139, 30.4.2004, p. 1–54

Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. OJ L 338, 22.12.2005, p. 1–26
Regulation (EC) No 528/2012 of 22 May 2012 concerning the making available on the market and use of biocidal products.

Annex II: other references

AFFI (American frozen food institute). *Listeria* control Plan. www.affifoodsafety.org.

Buchanan, R. L., Gorris, L. G. M., Hayman, M. M., Jackson, T. C., & Whiting, R. C. (2017). A review of *Listeria monocytogenes*: an update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. *Food Control*, 75, 1–13.

CAC (1976). Code of Practice for the processing and handling of quick-frozen foods (CAC/RCP 8-1976).

CAC (2004). CAC/GL 50-2004 General guidelines on sampling.

CAC (2007). Guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of *Listeria monocytogenes* in foods. CAC/GL 61 - 2007

CAC (2015). Standard for quick-frozen vegetables CXS 320-2015

Devlieghere, F., Rajkovic, A., Samapundo, S., Uyttendaele, M., Vermeulen, A., Jacxsens, L. Debevere, J. (2013). Food microbiology and analysis. Laboratory of Food Microbiology and Food Preservation, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University.

ECDC (2016). https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/AER_for_2016-listeriosis.pdf

EFSA (2018a). Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* serogroup IVb, multi-locus sequence type 6, infections linked to frozen corn and possibly to other frozen vegetables – first update. doi:10.2903/sp.efsa.2018.EN-1448

EFSA (2018b). Urgent scientific and technical assistance to provide recommendations for sampling and testing in the processing plants of frozen vegetables aiming at detecting *Listeria monocytogenes*. EFSA-2018-0141. EFSA Journal.

EFSA and ECDC (2018). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. EFSA Journal 2018;16(12):5500, 262 pp

EFSA (2020). The public health risk posed by *Listeria monocytogenes* in frozen fruit and vegetables including herbs, blanched during processing. EFSA Journal 2020;18(4):6092. doi: 10.2903/j.efsa.2020.6092

EN ISO 11290 part 1 (2017). Microbiology of the food chain – horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. – part 1: detection method. International organization for standardization, Geneva.

EN ISO 11290 part 2 (2017). Microbiology of the food chain – horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. – part 2 : enumeration method. International organization for standardization, Geneva.

EN ISO 18593 (2018). Microbiology of the food chain – Horizontal methods for surface sampling. International organization for standardization, Geneva.

EURL-*L. monocytogenes* (2012). Guidelines on sampling the food processing area and equipment for the detection of *L. monocytogenes*. Version 3 – 20/08/2002.

EURL – *L. monocytogenes* (2019). Technical guidance document for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Version 3 of 6 June 2015 - Amendment 1 of 21 February 2019.

Goulet V, Hebert M, Hedberg C, Laurent E, Vaillant V, De Valk H, Desenclos JC. (2012). Incidence of listeriosis and related mortality among groups at risk of acquiring listeriosis. *Clin Infect Dis.* 1;54(5):652-60.

ICMSF : <http://www.icmsf.org/>

Lakshmikantha, C. (2013). Environmental Monitoring Program: An Early Warning System for Microbiological Hazards. *Quality Assurance and Food Safety*. <https://www.qualityassurancemag.com/article/aib1213-environmental-monitoring-program>

McLauchlin, J., Mitchell, R. T., Smerdon, W. J., & Jewell, K. (2004). *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. *International Journal of Food Microbiology*, 92(1), 15–33.

Pocheville, A.(2015).The Ecological Niche: History and Recent Controversies. In Hearn, Thomas; Huneman, Philippe; Lecointre, Guillaume; et al. (eds.). *Handbook of Evolutionary Thinking in the Sciences*. Dordrecht: Springer. pp. 547–586. ISBN 978-94-017-9014-7.

Turner, D.E., Daugherty, E.K., Altier, C. and Maurer K.J. (2010). Efficacy and Limitations of an ATP-Based Monitoring System. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2010 Mar; 49(2): 190–195.

Uyttendaele, M., De Loy-Hendrickx, A., Vermeulen, A., Jacxsens, L., Debevere, J. en Devlieghere, F. (2018). Microbiological guidelines : support for interpretation of microbiological test results of foods. Die Keure, ISBN978 2 87403 503 6.

Van Walle I., Björkman J.T., Cormican M., Dallman T., Mossong J., Moura A., Pietzka A., Ruppitsch W., Takkinen J., European Listeria WGS typing group. Retrospective validation of whole genome sequencing-enhanced surveillance of listeriosis in Europe, 2010 to 2015. *Euro Surveill.* 2018;23(33) via <https://ecdc.europa.eu/en/listeriosis/microbiology>

Zoellner, C., Jennings, R., Wiedmann, M. and Ivanek, R. (2019). EnABLE: an agent-based model to understand *Listeria* dynamics in food processing facilities. *Nature Scientific reports* (www.nature.com/scientific-reports), <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30679513>

Zwietering, M.H., Jacxsens, L., Membre, J.M., Nauta, M. and Peterz, M. (2016). Relevance of microbial finished product testing in food safety management. *Food Control*, 60, 31-43.

Annex III: Technical report on challenge testing to assess behaviour of *Listeria monocytogenes* during defrosting/refrigerated storage of frozen vegetables under reasonably foreseen conditions at consumer's home

1) Set-up of the *L. monocytogenes* challenge testing

- i. Categorization of vegetables: To identify the most relevant products for the challenge tests, a categorization of frozen vegetables was made based on characteristics such as pH, sugar content, anti-bacterial compounds, nutrient level, structure/texture of the product.
- ii. Refrigeration time: after discussion, it was agreed that tests should not be performed in ambient temperature; this falls out of the responsibility of the producer. The tests should focus on growth potential during shelf life (meaning up to 24h in the fridge). In order to evaluate one step further, it was agreed to make an analysis also after 48h in the fridge.
- iii. Refrigeration temperature: It was agreed to use a temperature of 9°C (as accepted/recommended temperature for *L. monocytogenes* challenge testing in Belgium (by FASFC) & the Netherlands (NVWA) and supported by the data presented by Roccatto et al. (2017) as published in the peer reviewed journal of Food Research International (2017: 96, 171–181) to mimic reasonably foreseen abuse both for countries of the South and North of EU.
- iv. Batches: it was agreed to work with 3 batches of the selected frozen vegetable from 3 different producers, if possible. The first batch was delivered to the lab/subjected to testing in March, the 2nd batch was delivered to the lab/subjected to testing in April-May; the 3rd batch was delivered to the lab/subjected to testing in July-August 2019;
- v. Sample size: it was agreed to use samples of 200g, the equivalent of a consumer portion of frozen vegetables (per sampling time a single pack of 200g was prepared and inoculated; a minimum of 150g is required for all the analyses scheduled).
- vi. *L. monocytogenes* strains: The challenge test was performed by the academic service laboratory of the Food Microbiology and Food Preservation research unit at Ghent University (FMFP-UGent) which has a track record of elaborating challenge testing using a cocktail of 3 *L. monocytogenes* strains (LMG 23194, LMG 23192, LMG 26484; for more information on the strains refer to www.bccm.belspo.be/catalogues/lmg-catalogue-search). In addition to these 3 strains, a fourth *L. monocytogenes* strain was added to the cocktail: *L. monocytogenes* ST6 strain, isolated from frozen vegetables/production environment related to the outbreak as described in EFSA/ECDC (2018) (Multi-country outbreak of *Listeria monocytogenes* serogroup IVb, multi-locus sequence type 6, infections linked to frozen corn and possibly to other frozen vegetables – first update. EFSA supporting publication 2018:EN-1448. 19 pp. doi:10.2903/sp.efsa.2018.EN-1448)
- vii. Inoculum level: in accordance to the Technical guidance document on shelf-life studies for *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods” (EU-RL Listeria, June 2014) an inoculum of ca. 100 CFU/g was used (inoculum range from 30-300 CFU/g).
- viii. Inoculation procedure: frozen vegetables (large packs) were delivered by the frozen vegetable company to the lab and stored at -18°C. Shortly after arrival, from the large frozen packs, (without defrosting) individual frozen packs of 200g were pre-weighted and packed under air in a high barrier foil and stored frozen for maximum 2 weeks before inoculation. Next, these individual pre-weighted (200 g) frozen packs were thawed overnight (in a refrigerator of 4°C) and were inoculated with 400 µl of an inoculum (ca. 1×10^5 CFU/ml) of a cocktail of the 4 selected *Listeria monocytogenes* strains (LMG 23194, LMG 23192, LMG 26484 and LFMFP 1049) to obtain an inoculum of approximately 100 CFU/g. Strains were separately cultured: first 24 hours at 37°C followed by a subculture in fresh medium incubated for 3 days at 7°C for strain LFMFP 1049 (the ST 6 strain)

isolated from frozen vegetables/production environment during the 2018 EU outbreak) and for 4 days at 7°C for the other 3 strains (during prior trial characterizing growth characteristics of the ST6 outbreak strain, it was shown to grow faster than the other 3 strains). Inoculation was performed by dripping the culture suspension on the semi-thawed (overnight at 4°C) vegetable packs. Immediately after inoculation, the inoculated 200g semi-thawed vegetable packs were closed/sealed and again put at -18°C for 14 days.

ix. Sampling and testing: The frozen packages were taken from the freezer and put in a refrigerator at 9°C for 24 hours to defrost (refer to temperature profile in results section). Three replicate samples were tested in parallel (test 1, test 2 and test 3). For all replicate samples (test 1, 2, 3) enumeration of *L. monocytogenes* was performed after 14 days at -18°C (day 0) and after 1 and 2 days of defrosting (24 and 48h storage in a 9±1°C refrigerator). The enumeration of *L. monocytogenes* was performed under ISO 17025 accreditation.

Note: For one of the replicate samples (test 1) the total aerobic count, lactic acid bacteria and pH were determined before inoculation, after 14 days storage at -18°C and after 1 and 2 days of defrosting (24 and 48 hours at 9°C). For all replicate samples (test 1, 2, 3) *Listeria monocytogenes* detection (presence or absence per 25g) and pH and a_w was measured on the blank sample before inoculation. The blank samples were inoculated with 400 µl diluent (Physiological saline solution).

2) Results on the categorization of vegetables

The following food characteristics were taken into account:

- Specific vegetable category
- pH (minimum and maximum)
- sugar and starch content
- Presence of anti-*Listeria* component
- Blanching
- Cut surface

pH, sugar and starch content were used to group the various specific vegetable categories in main groups. Furthermore, all products containing anti-*Listeria* components were classified in a separate group. The other characteristics such as blanching and cut surface were used to determine which vegetable type will be selected in due time for challenge testing to assess the growth potential of *L. monocytogenes* within these (main) groups.

i. Specific vegetable categories

Products were classified in eleven different categories based on the EFSA Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin Part 1 (outbreak data analysis and risk ranking of food/pathogen combinations) (EFSA Journal 2013, 11, 3025). Products were classified according to the 'General commodity category'. Only in a few cases was this category further split into the mentioned specific categories.

ii. Classification according to pH

pH values were obtained from a list published on PickYourOwn.org and uses following references:

- a. Anon. 1962. pH values of food products. Food Eng. 34(3): 98-99.
- b. Bridges, M. A., and Mattice, M.R. 1939. Over two thousand estimations of the pH of representative foods, American J. Digestive Diseases, 9:440-449.
- c. Warren L. Landry and et al. 1995. Examination of canned foods. FDA Bacteriological Analytical Manual, 8th Ed. Chapter 21, Table 11, AOAC International, Gaithersburg, MD 20877
- d. Grahn M.A. 1984. Acidified and low acid foods from Southeast Asia. FDA-LIB

Based on the reported maximum pH of the vegetable, they were classified as follows:

- pH < 4.4: not relevant as pH is lower than the pH_{min} for challenge test according to EU Reg. 2073/2005
- 4.4 < pH < 5.0: low risk

- 5.0 < pH < 6.0: medium risk
- pH > 6.0: high risk

iii. Classification according to sugar and starch content

Sugar and starch content were based on the Belgian nutrition table (Nubel). All values were based on fresh products since for most of the vegetables, no data on nutritional composition of their frozen forms were present. Products were classified for sugar and starch content in three categories:

- Low content: < 1%
- Medium content: between 1 and 4% for sugar; between 1 and 5% for starch
- High content: more than 4% for sugar; more than 5% for starch

iv. Classification according to presence of anti-Listeria component

It has been reported that *Allium* species from the *Alliaceae* family contain allicin derivative products and sulfur components which have shown antimicrobial activity (Mnayer et al., 2014). Also, carrots are reported to contain anti-Listeria components which have shown reduction of *L. monocytogenes* in ready-to-eat carrots during refrigerated storage (Sant' Ana et al. 2012). Products were only divided into either “no reports found” or “reports published on presence of anti-Listeria components” (no detailed information on the concentration of these components is known).

v. Blanching as a risk factor

Products are classified in three groups: blanched (yes), not blanched (no) or both (multiple).

Note that blanching is a technological heat treatment, the main objective being to inactivate enzymes that cause product degradation with quality loss. However, blanching can also accomplish some microbiological inactivation. The exact level of *Listeria monocytogenes* reduction will depend on the process conditions applied (time/temperature). Although blanching may cause inactivation of the pathogen, as a technological treatment, it may cause loss of texture and soften the vegetable which might facilitate growth of *L. monocytogenes* (if only mild heat treatment was used and/or the blanched product was prone to post-contamination). After discussion with the expert group, ‘blanching’ was not taken into account to classify the products in the different main categories because the use of a blanching step might vary for the same vegetable type across product varieties batches/producing companies

vi. Cut surface as a risk factor

Products were classified in different groups:

- Absent: intact
- Low: only one cut surface
- Medium: more than one cut surface (e.g. after peeling)
- High: shredded

If the vegetable food type appeared in more than one variety, the cut surface was classified as ‘multiple’. After discussion with the expert group, these differences in cut surface were not taken into account to classify the products in the different main categories because they might vary for the same vegetable type across product varieties batches/producing companies, but this factor was used to define within one (main) group which product type to be used to perform the challenge test.

Conclusion: 4 main risk groups and selection of frozen vegetables subjected to *L. monocytogenes* challenge testing

Based on the attribution of risk classification (based upon pH, sugar & starch content and presence of anti-Listeria components) to the various specific categories; four main risk groups could be established

4 main groups

1.	Score 0 (contain anti-Listeria component)
2.	Score < 0.2
3.	Score 0.2 to < 0.35
4.	Score ≥ 0.35

The result of the scoring for the main frozen vegetables being set to the EU market is as follows.

Based on the scoring, the following frozen vegetables which belonged to the main category with the highest score (> 0.35) were selected for further *L. monocytogenes* challenge testing:

- o Sweet corn Kernels
- o Sweet Potatoes
- o Peas
- o Parsnips

In addition

- o white cabbage

was taken up for *L. monocytogenes* challenge testing. White cabbage was added to include a frozen vegetable in the 'leafy green' group and also considering the history of implication of cabbage in a *L. monocytogenes* outbreak. (Cabbage also belonged to the one but highest scoring group (Score 0.2 to < 0.35).

3) Results of growth potential of *L. monocytogenes* in frozen vegetables: the EU-RL Guideline interpretation

The growth potential of *L. monocytogenes* in three batches of the five selected vegetables defrosted at 24h & 48h at 9°C after freezing at -18°C for 14 days is shown in Table 1. It is to be noted that Day 0 is not the day of *L. monocytogenes* inoculation (this was done at day -14). Day 0 rather represents the start of defrosting, when the 200 g packs of prior *L. monocytogenes*-inoculated frozen vegetables were transferred to the refrigerator. For temperature profile during defrosting/refrigerated storage, refer to section 4.

Calculating the growth potential

According to the EU RL technical guidance document (EURL, 2019) the growth potential (log CFU/g) is defined as the difference between the median of results (three replicates) at the end of the challenge test and the median of the results at the beginning of the challenge test (three replicates). It should be noted that in some EU Member States, the national competent authorities (e.g. NVWA in the Netherlands) have decided that if the maximum difference between the three replicates at the end of shelf life is higher than 0.5 log CFU/g, not the median but the highest value of the three replicates should be taken.

Interpretation of the test results of a challenge test to assess growth potential

According to the EU RL technical guidance document (EURL, 2019), a growth potential higher than 0.5 log CFU/g indicates that the food is able to support the growth of *L. monocytogenes* during the shelf-life according to used time-temperature profile. The target value at the end of the manufacturing process should always remain 'absence in 25 g'. Depending on the growth potential that was established during challenge testing, a certain intermediate limit can be obtained (Table 2).

Table 2 Intermediate limit at the end of the manufacturing process in relation to the calculated growth potential.

Growth potential (log CFU/g) during shelf life, when products are set to the market, as determined by challenge testing	Intermediate limit at the end of the manufacturing process to prevent the pathogen exceeding 100 CFU/g at the end of shelf life
Negative or Between 0.00 and 0.49	< 100 CFU/g
Between 0.50 and 0.99	< 10 CFU/g
Between 1.00 and 1.99	< 1 CFU/g or absence per g
Between 2.00 and 2.99	Absence in 10 g
More than 3.00	Absence per 25 g

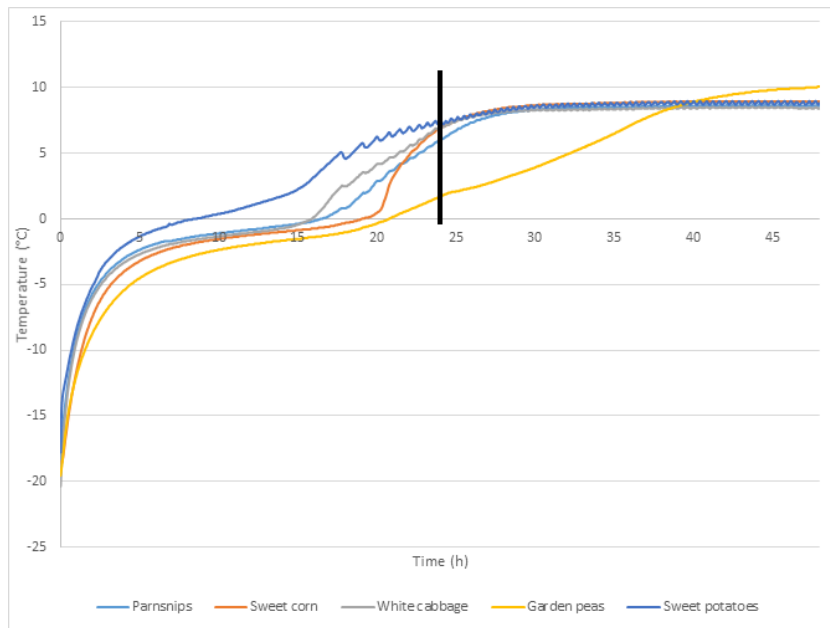
Table 1 *L. monocytogenes* growth potential after 24h & 48h defrosting in a refrigerator at 9°C

Batch 1							Growth potential Day 1		Growth potential Day 2	
vegetable	Batch	replicate	pH	Day 0	Day 1	Day 2	EU	NVWA	EU	NVWA
Garden peas	1	1	6,42	1,78	2,52	3,28	0,62	0,62	1,26	1,26
		2	6,44	2,18	2,4	3,04				
		3	6,48	1,6	2,2	2,88				
Parsnip	1	1	6,2	2,15	2,28	2,98	0,13	0,13	0,96	0,96
		2	6,11	2,28	2,23	3,11				
		3	6,12	1,7	2,32	3,11				
Sweetcorn	1	1	6,69	2	2,74	3,43	0,69	0,69	1,37	1,89
		2	6,76	2,08	2,88	3,45				
		3	6,76	2,46	2,77	3,97				
Sweet potatoes	1	1	6,09	1,6	2	3	0,89	0,97	1,76	1,97
		2	6,09	1	2,49	3,36				
		3	5,88	2,15	2,57	3,57				
White cabbage	1	1	6,04	1,6	2,04	1,6	0,44	0,44	0	0
		2	6,01	1,95	2	1,7				
		3	6,01	1,48	2,08	1,6				
Batch 2							Growth potential Day 1		Growth potential Day 2	
vegetable	Batch	replicate	pH	Day 0	Day 1	Day 2	EU	NVWA	EU	NVWA
Garden peas	2	1	6,86	1,70	3,04	2,97	0,70	0,70	0,85	0,85
		2	6,91	2,11	2,81	3,04				
		3	6,95	2,34	2,76	2,87				
Parsnip	2	1	6,27	1,60	2,76	3,71	0,85	0,85	1,71	1,71
		2	6,16	1,90	2,83	3,61				
		3	6,16	2,15	2,62	3,53				
Sweetcorn	2	1	7,4	1,60	2,88	4,20	1,10	1,10	2,35	2,38
		2	7,4	2,32	3,04	4,00				
		3	7,49	1,85	2,95	4,23				
Sweet potatoes	2	1	6,2	2,00	3,34	3,63	0,71	1,26	1,58	1,61
		2	6,21	2,20	2,78	3,69				
		3	6,14	2,08	2,79	3,66				
White cabbage	2	1	6,4	1,48	2,54	3,53	0,59	0,59	1,79	1,79
		2	6,46	2,04	2,57	4,00				
		3	6,5	1,95	2,52	3,74				
Batch 3							Growth potential Day 1		Growth potential Day 2	
vegetable	Batch	replicate	pH	Day 0	Day 1	Day 2	EU	NVWA	EU	NVWA
Garden peas	3	1	6,85	1,60	2,43	3,66	0,73	0,73	2,16	2,16
		2	6,86	1,90	2,67	3,86				
		3	6,83	1,70	2,40	3,86				
Parsnip	3	1	6,31	2,26	2,68	3,81	0,33	0,33	1,73	1,73
		2	6,3	1,85	2,41	3,99				
		3	6,33	2,08	2,41	3,81				
Sweetcorn	3	1	7,22	1,70	3,00	3,57	1,28	1,28	1,87	2,02
		2	7,25	1,70	2,98	3,51				
		3	7,23	1,85	2,94	3,72				
Sweet potatoes	3	1	6,08	1,85	2,73	3,23	0,23	0,55	1,08	1,12
		2	6,19	2,34	2,41	3,26				
		3	6,08	2,18	2,40	3,30				
White cabbage	2	1	6,41	2,04	2,54	2,93	0,50	0,50	0,80	0,80
		2	6,38	2,04	2,65	2,84				
		3	6,41	2,41	2,36	2,84				

4) Time-Temperature profiles of frozen vegetables during defrosting

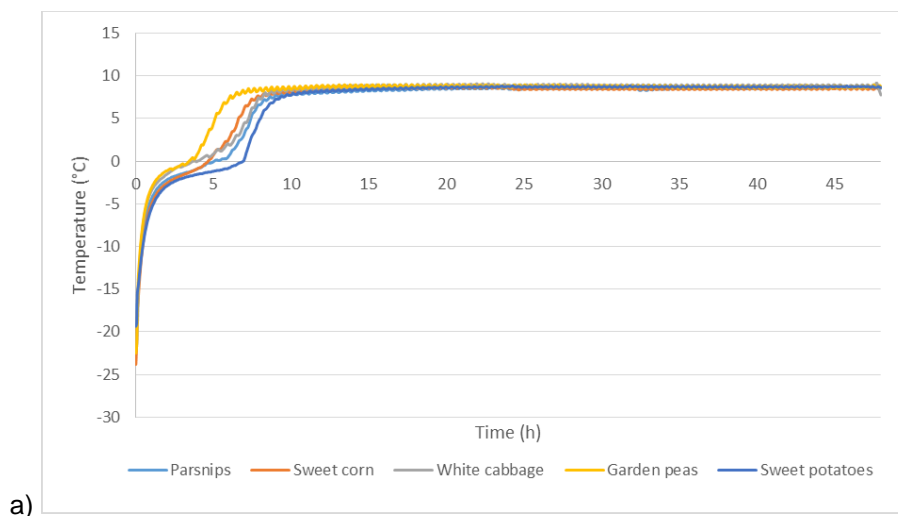
Batch 1: temperature profile (high volume loading : 11-7 kg; 5 frozen vegetables in 1 set-up)

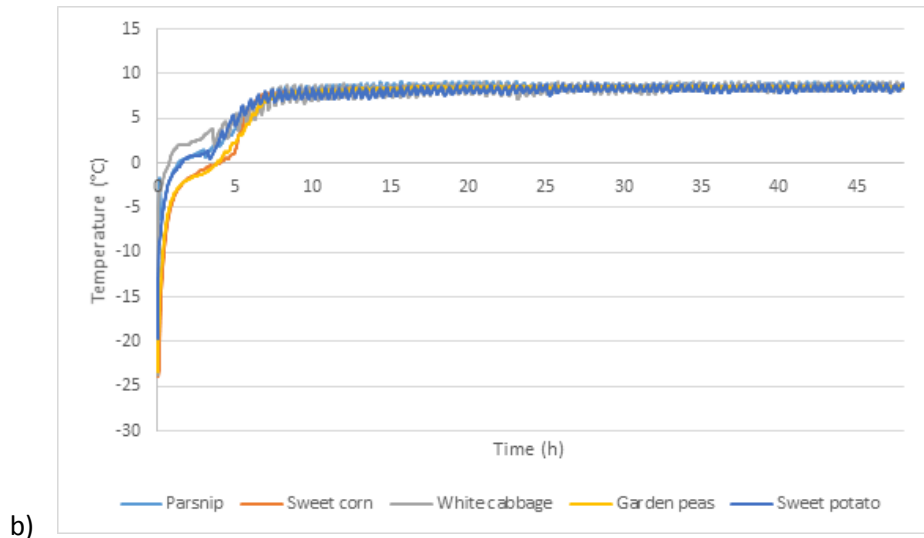
Figure 1. Measured temperature profile of a 1 x 200g pack for each type of frozen pre-cut vegetable transferred from the freezer (-18°C) to a refrigerator at 9°C during 48h residence time (Temperature recorded with i-button temperature loggers (Maxim Integrated, California, USA) (Refrigerator 331 L volume – holding in total 35-55 x 200 g packs of frozen pre-cut vegetables) = scenario 1 (high volume loading simulating defrosting in catering or business to business refrigerator scenario)



Batch 2 and 3 : temperature profile (low volume loading : 1,4-2,2 kg; 1 set-up per frozen vegetable type)

Figure 2. Measured temperature profile of a 1 x 200g pack for each type of frozen pre-cut vegetable transferred from the freezer (-18°C) to a refrigerator at 9°C during 48h residence time (Temperature recorded with ibutton temperature loggers (Maxim Integrated, California, USA) a) Batch 2 temperature profiles and b) Batch 3 temperature profiles (Refrigerator 331 L volume – holding in total 7-11 x 200 g packs of frozen pre-cut vegetables) = scenario 2 (low volume loading simulating defrosting in household refrigerators scenario)





Focus on temperature profile (time (t)-temperature (T) recordings for (uninoculated) sweet corn in two conditions of defrosting (high volume loading versus low volume loading))

As it was noted that it took a prolonged time to defrost the frozen vegetable packs upon high volume loading (batch 1) (temperatures > 0°C achieved after > 18h) the temperature profile of an alternative scenario of defrosting (low volume loading) was explored, which was considered more representative of ‘household’ defrosting/refrigeration condition. In this alternative scenario, a total 10 frozen (-18°C) packs of 200g were taken from the freezer and put into a hitherto empty refrigerator at 9°C (2 pack per refrigerator ‘level’ i.e. top, intermediate-above, middle, intermediate-under, under). A 10-pack loading in one refrigerator allowed individual packs of all replicates (and blanks) that were part of a one batch *L. monocytogenes* challenge test of one selected food category to be put together. The recorded temperature profile for 9 of these 10 packs (200g each = 2 kg of defrosting frozen sweet corn) in the refrigerator is shown in Figure3.

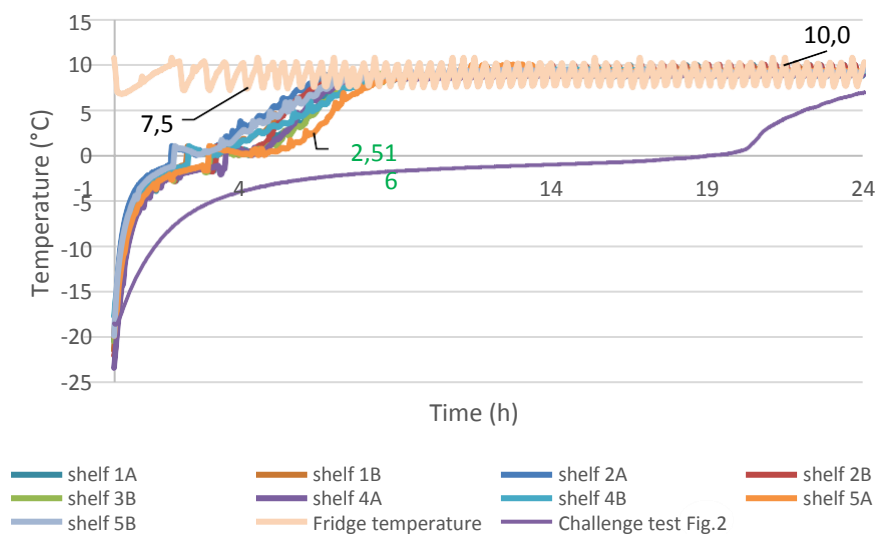


Figure 3. Measured temperature profile of 9 out of 10 x 200g defrosting frozen packs of sweet corn (2 kg or 2000 g of defrosting frozen sweet corn in total) transferred from the freezer (-18°C) into an (otherwise empty) refrigerator at 9°C during 48h residence time (Temperature recorded with i-button temperature loggers (Maxim Integrated, California, USA) (Refrigerator 331 L volume – holding in total 10 x 200 g packs of frozen sweet corn) (the yellow line labelled ‘Challenge test’ refers to Batch 1 scenario 1 high volume loading temperature profile)

These time-temperature profiles show that this type of '*L. monocytogenes* challenge testing' to assess the behaviour of *L. monocytogenes* during defrosting/refrigerated storage of frozen vegetables under reasonably foreseen conditions at consumer's home does not correspond to a 'standard' Challenge test for *L. monocytogenes*' as described in the EU-RL Guidance for challenge testing (EURL Lm Version 3 – Amd 1 dd 21 February 2019).

The EU-RL guidance was originally set-up for *L. monocytogenes*' challenge testing of pre-packed refrigerated foods with a prolonged shelf life (> 5 days) under refrigeration (the main @risk products for *L. monocytogenes*) i.e. the type of foods which are produced and set on the market as 'refrigerated' foods (e.g. refer to the foods analysed in the EU-wide Baseline study of *L. monocytogenes* in foods namely smoked fish, cooked meat products, (soft) cheese or also deli-salads etc).

The findings of the present study on *L. monocytogenes* challenge testing in defrosting vegetables deviates from the 'standard' Challenge test for *L. monocytogenes*' as described in the EU-RL Guidance because

- 1) there is no 'uniform' product temperature BUT a 'variable' temperature profile, which will be impacted by :
 - i) the type/volume of refrigerator (and possibly also the remaining load of the refrigerator with other cold foods) and
 - ii) the 'amount' of 'defrosting food' (N° of packs and possibly also the 'weight' of the individual defrosting packs, position in the refrigerator etc.)
- 2) there is no 'prolonged' shelf life testing but a reasonably to foreseen 'consumer handling' testing of defrosting (up to 24h to max. 48h) in a refrigerator (at 'reasonably to foreseen' temperature abuse i.e. set at 9°C whereas usual food safety agencies or competent authorities throughout EU recommend consumer refrigerators to be set at max. 5°C) (e.g. refer to <https://www.food.gov.uk/safety-hygiene/chilling>)

5) Discussion of *L. monocytogenes* growth potential during defrosting/refrigerated storage of frozen vegetables

It is clear that although PRPs, HACCP and a well implemented FSMS is in place – as stipulated by the PROFEL hygiene guidelines – it can be expected that for this type of production process of quick-frozen vegetables an occasional (post-)contamination can still occur and thus it cannot be excluded, and it has been noted from sector-wide microbiological analysis of quick-frozen vegetables, that some quick-frozen products set to the retail market as frozen foods might be occasionally contaminated with low levels of *L. monocytogenes* (< 10 CFU/g).

Although the majority of the frozen vegetables is not meant to and is not used as ready-to-eat (RTE), in order to ensure the *L. monocytogenes* safety limit of max. 100 CFU/g at the time of consumption for (RTE) foods on the market, the time for defrosting (in a refrigerator) or refrigerated storage of frozen vegetable packs should not support more than 1 log₁₀ unit as otherwise an accidental low level *L. monocytogenes* contamination (of < 10 CFU/g) could exceed 100 CFU/g at the time of use and consumption of these frozen vegetables by the consumer.

Overall the *L. monocytogenes* growth potential observed after 24h is restricted to less than 1 log₁₀ , except for frozen corn (Batch 2 and Batch 3) and except for one of the replicates (of Batch 2) of frozen sweet potatoes.

If refrigerated storage is prolonged with an additional 24h (up to 48h thus), often the outgrowth of *L. monocytogenes* on the defrosted refrigerated vegetables exceeds more than 1 log₁₀ and quite some variability in the extent of *L. monocytogenes* is observed between the batch. This observed inter-batch variability (and also noted intra-batch variability) can be attributed to several factors. Indeed, they were different batches (derived from different producing companies as well) from the same type of frozen vegetable which can differ slightly in product characteristics. Furthermore, variability was noted in the measured 'temperature profile recorded' (e.g. Figure 3 in multiple blank samples of sweet corn) and hence some variable temperature profile between packs simultaneously defrosting in a single refrigerator was expected to occur as well. This might also affect to some extent the outgrowth and thus the observed growth potential of *L. monocytogenes* inter-batch and intra-batch.

As mentioned above, from the results of the *L. monocytogenes* section shown in Table 1 (section 3) it became clear that sweet corn is the most susceptible to support growth of *L. monocytogenes*, and also may support outgrowth of more than 1 log₁₀ within the 24h defrosting/storage time in the most facilitating conditions (reaching temperatures > 0°C in 2-5h) as was observed in Batch 2 and 3 (refer to Table 3 for a summary of *L. monocytogenes* growth potential on sweet corn). It was noted in a preliminary trial to characterise the growth of LFMFP 1049 (the ST 6 strain isolated from frozen vegetables/production environment during the 2018 EU outbreak) that this latter strain grew faster than the other 3 strains at 7°C. Therefore, an extra challenge test was performed for Batch 3 of sweet corn using now a cocktail of the standard three *L. monocytogenes* strains (and thus without the expected faster growing ST6 strain). It was noted (refer to Table 3) that the *L. monocytogenes* growth potential as determined in the latter case was indeed restricted to less than 1 log₁₀ unit within the first 24h storage at 9°C. Thus, the inclusion of the ST 6 strain isolated from frozen vegetables/production environment during the 2018 EU outbreak might also explain to some extent the noted increased (more than 1 log₁₀ within the 24h defrosting/storage time) growth of *L. monocytogenes* in the sweet corn.

Table 3: Summarized results of of *L. monocytogenes* growth potential on sweet corn

vegetable	Batch	EU	NVWA	EU	
	NVWA Swc	0,69	0,69	1,37	1,89
Sweetcorn	2*	1,10	1,10	2,35	2,38
Sweetcorn	3*	1,28	1,28	1,87	2,02

*challenge test performed with 4 *L. monocytogenes* strains (in batch 1-2-3)

i.e. including the *L. monocytogenes* ST6 strains isolated from the EU 2018 frozen corn outbreak

° temperature profile in Batch 1 deviated (during defrosting longer time to reach > 0°C)

vegetable	Batch	Growth potential Day 1		Growth potential Day 2	
		EU	NVWA	EU	NVWA
Sweet corn	3**	0,62	0,62	1,33	1,33

**challenge test performed using Batch 3 but with 3 *L. monocytogenes* strains instead of 4 test strains

i.e. without the *L. monocytogenes* ST6 strains isolated from the EU 2018 frozen corn outbreak

In conclusion, the knowledge established by challenge testing as described above on the behaviour and growth potential of *L. monocytogenes* during defrosting/refrigerated storage of frozen vegetables was used as an input to 1) establish *L. monocytogenes* end product specification and 2) develop appropriate risk communication to consumers via the label as described in the hygiene guidance in Section 5.2.

References for Annex III :

Mnayer, D., Fabiano-Tixier, A.-S., Petitcola, E., Hamieh, T., Nehme, N., Ferrant, C., Fernandez, X. and Chemat, F. (2014). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essential oils from the Alliaceae Family. *Molecules*, 19, 20034-20053.

Noriega, E., Newman, J., Siggers, E., Robertson, J., Laca, A., Diaz, M., Brocklehurst, T.F. (2010). Anti-Listerial activity of carrots: effect of temperature and properties of different carrot fractions. *Food Research International*, 43, 2425-2431.

Sant’Ana, A.S., Barbosa, M.S., Destro, M.T., Landgraf, M., Franco, B.D.G.M. (2012). Growth potential of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in nine types of ready-to-eat vegetables stored at variable temperature conditions during shelf-life. *International Journal of Food Microbiology* 157,52-58.