

# VALUTAZIONE DELLA QUALITA' MICROBIOLOGICA DELL' ARIA PRESENTE NELLE CELLE FRIGORIFERE SITE NEI REPARTI DIPENDENTI DELLA BRIGATA MECCANIZZATA "AOSTA" DELLA SICILIA ORIENTALE

## *EVALUATION OF MICROBIOLOGICAL AIR QUALITY INSIDE REFRIGERATION CELLS IN "AOSTA" MECHANIZED BRIGADE'S DEPENDENT REGIMENTS LOCATED IN EASTERN SICILY*

Longo A<sup>1</sup>., Puglisi M.L.<sup>2</sup>, Muratore A.<sup>2</sup>, Salvaggio A.<sup>2</sup>, Marino A.M.F.<sup>2</sup>, Giunta R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Esercito Italiano- Comando Brigata Meccanizzata "Aosta"- Messina; <sup>2</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia

### SUMMARY

Authors evaluated the microbiological quality of air inside some refrigeration cells of the "AOSTA" Mechanized Brigade Regiments' messes in Eastern Sicily, through an active air sampling and monitoring system. They used PCA medium plates for evaluation of microbial mesophilic amounts and Malt agar medium plates for the evaluation of mycotic flora. Study results showed values of TMC within a range of 25 – 273 CFU/m<sup>3</sup> and values of mycotic concentrations within range of 10-1720 CFU/m<sup>3</sup>. All identified mycotic species belonged to *Aspergillus* and *Penicillium* genus. Furthermore, authors tested a duster, used for routine cleaning of all examined rooms, as it certainly represented a very important contamination means.

### KEY WORDS

barrack, refrigeration cell, air, bacteria, fungi.

### INTRODUZIONE

L'interesse per la misura della contaminazione microbica dell'aria si è particolarmente sviluppato negli ultimi venti anni. Questo interesse nasce dalla consapevolezza che i microrganismi aerodiffusi hanno, alla stessa stregua degli inquinanti chimici classicamente misurabili, potenziali effetti nocivi sulla salute degli individui. E' sufficiente contemplare le numerose linee guida, linee guida "Il monitoraggio microbiologico negli ambienti di lavoro" Campionamento e analisi-INAIL) promulgate dal ministero della salute. Tutte le tipologie di microrganismi possono essere presenti nell'aria e sulle superfici: batteri, funghi e protozoi, così come alcuni virus capaci di resistere in un mezzo esterno. Tramite l'aria si diffondono inoltre particelle di origine microbica (tossine, frammenti di cellule,

allergeni, composti organici volatili) e vegetale (polline). Pur avendo la legislazione nazionale posto l'attenzione sulla bontà e salubrità dell'aria nell'ambiente di lavoro e la legislazione alimentare prescritto dettagliatamente le valutazioni di agenti microbiologici, fungini, tossicologici dalle matrici di interesse, non esistono particolari indicazioni di legge relative alla salubrità dell'aria in ambienti quali i frigoriferi, che costituiscono un fondamentale punto di stoccaggio per molte matrici alimentari, prima del consumo. In relazione alla contaminazione microbiologica, la differenziazione tra ambiente salubre e insalubre non è così immediata e semplice.

Nel 1993 la Commissione delle Comunità Europee (*European Collaborative Action*) ha proposto, per gli ambienti *indoor* non industriali, fasce orientative di contaminazione

dell'aria (intervalli di concentrazioni totali di UFC), il cui superamento, però, non implica automaticamente l'instaurarsi di condizioni di pericolo o insalubrità Tab.1). (3)

**Tabella 1.** Fasce di contaminazione dell'aria

LIVELLO*	Funghi (UFC/m <sup>3</sup> )	Batteri (UFC/m <sup>3</sup> )
Molto basso	< 50	< 50
Basso	50-100	50-100
Medio	101-500	101-500
Alto	501-2000	501-2000
Molto alto	> 2000	> 2000

In attesa che possa essere redatta una tabella analoga per ambienti atti allo stoccaggio di matrici alimentari, con una certa forzatura, si è fatto riferimento alla Tab.1 per definire le fasce di contaminazione degli ambienti monitorati attraverso questo lavoro.

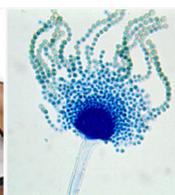
## MATERIALI E METODI

Dopo avere ottenuto dalle Autorità militari competenti le autorizzazioni necessarie per la realizzazione di questo studio e per consentire al personale del laboratorio di accedere ai locali delle mense annesse alle Caserme sedi dei reggimenti dipendenti dalla Brigata Meccanizzata "Aosta", si è proceduto ad identificare tutte le Caserme e le relative celle frigorifere che sarebbero state oggetto del lavoro. Sono state pertanto previste, nel programma da realizzare, due visite tecniche in ognuna delle tre Caserme della Sicilia Orientale scelte, "Ainis" e "Crisafulli-Zuccarello" di Messina e "Sommaruga" di Catania, in quanto dotate al loro interno di locali attivi per la erogazione di un servizio mensa per i militari. I pasti serviti in tali mense, venivano preparati direttamente in cucine annesse, utilizzando alimenti (carni, pescato, formaggi, salumi, frutta e verdura) freschi, refrigerati, surgelati, stoccati in locali e celle frigorifere appositi. Le celle frigorifere oggetto del monitoraggio, erano organizzate per l'utilizzo razionale mediante apposite scaffalature metalliche ("Ainis" e "Sommaruga") o metalliche plastificate ("Crisafulli-Zuccarello"). In ciascuna Caserma erano presenti almeno quattro celle frigorifere adibite a contenere separatamente, salumi e formaggi, carni bianche e carni rosse, frutta e verdura e alimenti vari confezionati e surgelati. Lo stoccaggio degli alimenti sui vari ripiani degli scaffali non seguiva un criterio strettamente prestabilito, sebbene ne venisse sempre rispettato un evidente ordine nella disposizione. Il monitoraggio dell'aria ambiente

dei vari scomparti delle celle è stato stabilito in tempi differenti rispetto alla programmazione delle attività di pulizia interna e sanificazione, in particolare immediatamente prima e dopo l'applicazione di tali interventi. Il monitoraggio attivo è stato realizzato mediante l'impiego di un campionatore d'aria tarato. In particolare lo strumento utilizzato è stato il SAMPL'AIR LITE dell'AES, campionatore attivo ad impatto ortogonale, con testata adattabile a piastre Petri di diametro 55-60 mm e 84-90 mm., regolabile relativamente al volume d'aria da aspirare ed al tempo di aspirazione (fig. 1).(1)



**Figura 1**  
Campionatore  
Sampl'air  
dell'AES



**Figura 2**  
Aspergillus



**Figura 3**  
Penicillium

Poiché il livello di contaminazione non era noto, sono stati preliminarmente effettuati dei campionamenti orientativi, allo scopo di determinare il volume ottimale da aspirare durante i successivi campionamenti. Infatti il volume d'aria da aspirare dipende dalla concentrazione microbica ambientale attesa: si riduce in caso di contaminazione alta, per consentire l'esecuzione agevole del conteggio delle colonie batteriche e/o fungine che crescono sul terreno nutritivo, deve essere aumentato qualora sul terreno nutritivo non si evidenzia la crescita di colonie batteriche e/o fungine. In ogni caso bisogna trovare un giusto equilibrio d'uso, considerando ulteriormente che la portata e la durata dell'aspirazione influiscono anche sulla disidratazione del terreno nutritivo e quindi sulla conseguente coltivabilità dei microrganismi prelevati. Dopo le prime prove, l'impostazione dei parametri di utilizzo del campionatore sono stati quelli rappresentati dai seguenti valori: tre minuti per un totale di campionamento di 300 l. d'aria in ciascuna cella dalle dimensioni medie di ca. 8m<sup>3</sup>. Per i monitoraggi immediatamente successivi agli interventi di pulizia, due minuti per un totale di campionamento di 200 l. d'aria, per i monitoraggi che precedevano gli interventi di pulizia. I terreni di coltura utilizzati sono stati due, il Plate Count Agar, per la valutazione della carica microbica ed il Malt Agar per la valutazione della carica fungina. Per operare il campionamento, il personale a ciò preposto, prima di entrare nelle celle frigorifere, ha

indossato camice, guanti e appositi calzari, atti ad evitare possibili contaminazioni. Il campionatore d'aria è stato posizionato ed attivato al di sopra delle varie mensole degli scaffali, facendogli assumere una posizione orizzontale o verticale in base alla altezza delle mensole ed alla presenza di alimenti sulle stesse. Tra un prelievo e l'altro veniva osservata la sterilizzazione della testata in acciaio dell'apparecchio mediante flambatura e disinfezione con alcool etilico al fine di garantire la sterilità. I prelievi sono stati programmati per la vigilia e per il giorno successivo alle operazioni di pulizia delle celle frigorifere. Subito dopo avere eseguito il campionamento d'aria, le piastre di PCA e Malt agar, sono state trasportate al laboratorio a temperatura di refrigerazione ed entro due-tre h dal campionamento sono state poste ad incubare in termostato rispettivamente a 30°C per 72 h ed a 25°C per 3-5 gg. Alla fine del periodo di incubazione, si è proceduto al conteggio delle colonie sviluppatesi sulle piastre ed al calcolo delle ufc/m<sup>3</sup> (5). Il totale delle piastre esaminate è stato di 164, di cui 84 di PCA e 84 di Malt Agar. Contestualmente al monitoraggio dell'aria, è stata valutata anche la contaminazione di un campione di superfici di mensole e mura, mediante l'utilizzo di tamponi, per un totale di ventisette esami, riferiti alla

ricerca di *Salmonella* spp e *L. monocytogenes*, tutti risultati negativi. Le attività di laboratorio svolte sono state registrate su appositi fogli di lavoro e quindi elaborate in un report finale (Tab.2). E' stato sottoposto ad analisi per la valutazione delle cariche batteriche e fungine e per la ricerca di *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes*, anche lo strofinaccio utilizzato per le esecuzioni di pulizia delle celle frigorifere presenti nella Caserma Crisafulli-Zuccarello di Messina, scelta poiché aveva fatto elaborare, rispetto alle altre, un livello di crescita batterica e fungina superiore. Lo strofinaccio per potere essere esaminato è stato ridotto, mediante l'utilizzo di una apposita maschera sterile quadrata i cui lati misuravano 10 cm, in sedici quadrati che sono stati sottoposti ad analisi per la valutazione di carica microbica mesofila, psicotrofa, fungina, alla numerazione di *E. coli*, ed alla ricerca di *Salmonella* spp. e *L. monocytogenes*. I risultati ottenuti dall'analisi microbiologica dello strofinaccio sono riportati nella Tab.3).

## RISULTATI

I risultati elaborati sono evincibili dalla consultazione delle Tab.2) e 3). Le specie fungine rinvenute sono appartenenti ai generi *Aspergillus* e *Penicillium* (fig. 2, 3).(2) (4)

**Tabella 2.** Confronto dei valori ottenuti da PCA e Malt Agar nelle celle frigorifere prima e dopo la sanificazione

N.	Caserma	Cella	°C Cella	S.	Calcolo colonie PCA (ant. pulizia)	L.P. batteri	Calcolo colonie PCA (post pulizia)	L.P. batteri	Calcolo colonie Malt (ant. pulizia)	L.P. funghi	Calcolo colonie Malt (post pulizia)	L.P. funghi
1	Caserma AINIS Messina	Salumi e Formaggi	5°C	A	32 (4min.) 40 (2min.) CFU/m3	Molto basso	266 CFU/m3	Medio	145 CFU/m3	Medio	90 CFU/m3	Basso
2				B	40 CFU/m3	Molto basso	120 CFU/m3	Medio	105 CFU/m3	Medio	75 CFU/m3	Basso
3				C	40 CFU/m3	Molto basso	240 CFU/m3	Medio	45 CFU/m3	Molto basso	90 CFU/m3	Basso
4				D	135 CFU/m3	Medio	73 CFU/m3	Basso	115 CFU/m3	Medio	55 CFU/m3	Basso
5	Caserma AINIS Messina	Frutta e Verdura	8°C	A	130 (4min.) 195 (2min.) CFU/m3	Medio	176 CFU/m3	Medio	190 CFU/m3	Medio	530 CFU/m3	Alto
6				B	265 CFU/m3	Medio	116 CFU/m3	Medio	390 CFU/m3	Medio	500 CFU/m3	Alto
7				C	100 CFU/m3	Medio	116 CFU/m3	Medio	370 CFU/m3	Medio	455 CFU/m3	Medio
8	Caserma AINIS Messina	Carni Bianche e Rosse	5°C	A	115 CFU/m3	Medio	43 CFU/m3	Molto basso	50 CFU/m3	Basso	145 CFU/m3	Medio

N.	Caserma	Cella	°C Cella	S.	Calcolo colonie PCA (ant. pulizia)	L.P. batteri	Calcolo colonie PCA (post pulizia)	L.P. batteri	Calcolo colonie Malt (ant. pulizia)	L.P. funghi	Calcolo colonie Malt (post pulizia)	L.P. funghi
9				B	120 CFU/m3	Medio	33 CFU/m3	Molto basso	30 CFU/m3	Molto basso	155 CFU/m3	Medio
10				C	75 CFU/m3	Basso	26 CFU/m3	Molto basso	50 CFU/m3	Basso	135 CFU/m3	Medio
11				D	230 CFU/m3	Medio	13 CFU/m3	Molto basso	60 CFU/m3	Basso	295 CFU/m3	Medio
12				E	240 CFU/m3	Medio	26 CFU/m3	Molto basso	100 CFU/m3	Basso	210 CFU/m3	Medio
13				F	60 CFU/m3	Basso	26 CFU/m3	Molto basso	155 CFU/m3	Medio	170 CFU/m3	Medio
14	Caserma AINIS Messina	Surgelati	-18°C	A	25 CFU/m3	Molto basso	3 CFU/m3	Molto basso	20 CFU/m3	Molto basso	10 CFU/m3	Molto basso
15	Caserma Crisafulli-Zuccarello	Salumi e Formaggi	+4°C	A	55 CFU/m3	Basso	56 CFU/m3	Basso	1280 CFU/m3	Alto	330 CFU/m3	Medio
16				B	50 CFU/m3	Basso	56 CFU/m3	Basso	1720 CFU/m3	Alto	330 CFU/m3	Medio
17				C	60 CFU/m3	Basso	26 CFU/m3	Molto basso	1415 CFU/m3	Alto	245 CFU/m3	Medio
18				D	55 CFU/m3	Basso	46 CFU/m3	Molto basso	1125 CFU/m3	Alto	430 CFU/m3	Medio
19	Caserma Crisafulli-Zuccarello	Frutta e Verdura	+6°C	A	50 CFU/m3	Basso	46 CFU/m3	Molto basso	725 CFU/m3	Alto	1390 CFU/m3	Alto
20				B	100 CFU/m3	Basso	90 CFU/m3	Basso	1375 CFU/m3	Alto	415 CFU/m3	Medio
21				C	35 CFU/m3	Basso	36 CFU/m3	Molto basso	1000 CFU/m3	Alto	255 CFU/m3	Medio
22				D	70 CFU/m3	Basso	30 CFU/m3	Molto basso	1135 CFU/m3	Alto	100 CFU/m3	Medio
23				E	55 CFU/m3	Basso	46 CFU/m3	Molto basso	885 CFU/m3	Alto	120 CFU/m3	Medio
24				F	55 CFU/m3	Basso	43 CFU/m3	Molto basso	955 CFU/m3	Alto	1110 CFU/m3	Alto
25	Caserma Crisafulli-Zuccarello	Carni Bianche e Rosse	+4°C	A	25 CFU/m3	Molto basso	86 CFU/m3	Basso	725 CFU/m3	Alto	125 CFU/m3	Medio
26				B	45 CFU/m3	Molto basso	110 CFU/m3	Medio	805 CFU/m3	Alto	190 CFU/m3	Medio
27				C	35 CFU/m3	Molto basso	96 CFU/m3	Basso	700 CFU/m3	Alto	105 CFU/m3	Medio
28				D	70 CFU/m3	Basso	43 CFU/m3	Molto basso	650 CFU/m3	Alto	115 CFU/m3	Medio
29	Caserma Crisafulli-Zuccarello	Surgelati	-18°C	A	5 CFU/m3	Molto basso	6 CFU/m3	Molto basso	10 CFU/m3	Molto basso	5 CFU/m3	Molto basso
30	Caserma Sammaruga	Salumi e Formaggi	5°C	A	75 CFU/m3	Basso	253 CFU/m3	Medio	295 CFU/m3	Medio	165 CFU/m3	Basso
31				B	35 CFU/m3	Molto basso	273 CFU/m3	Medio	260 CFU/m3	Medio	65 CFU/m3	Molto basso

N.	Caserma	Cella	°C Cella	S.	Calcolo colonie PCA (ant. pulizia)	L.P. batteri	Calcolo colonie PCA (post pulizia)	L.P. batteri	Calcolo colonie Malt (ant. pulizia)	L.P. funghi	Calcolo colonie Malt (post pulizia)	L.P. funghi
32				C	70 CFU/m <sup>3</sup>	Basso	196 CFU/m <sup>3</sup>	Medio	245 CFU/m <sup>3</sup>	Medio	105 CFU/m <sup>3</sup>	Basso
33				D	105 CFU/m <sup>3</sup>	Medio	173 CFU/m <sup>3</sup>	Medio	305 CFU/m <sup>3</sup>	Medio	60, CFU/m <sup>3</sup>	Molto basso
34				E	75 CFU/m <sup>3</sup>	Basso	213 CFU/m <sup>3</sup>	Medio	290 CFU/m <sup>3</sup>	Medio	50 CFU/m <sup>3</sup>	Molto basso
35	Caserma Sammaruga	Frutta e Verdura	+6°C	A	30 CFU/m <sup>3</sup>	Molto basso	50 CFU/m <sup>3</sup>	Basso	195 CFU/m <sup>3</sup>	Medio	60 CFU/m <sup>3</sup>	Basso
36				B	55 CFU/m <sup>3</sup>	Basso	83 CFU/m <sup>3</sup>	Basso	200 CFU/m <sup>3</sup>	Medio	50 CFU/m <sup>3</sup>	Basso
37				C	55 CFU/m <sup>3</sup>	Basso	56	Basso	225 CFU/m <sup>3</sup>	Medio	445 CFU/m <sup>3</sup>	Medio
38				D	70 CFU/m <sup>3</sup>	Basso	36 CFU/m <sup>3</sup>	Molto basso	340 CFU/m <sup>3</sup>	Medio	105 CFU/m <sup>3</sup>	Medio
39	Caserma Sammaruga	Carni Bianche e Rosse	+4°C	A	65 CFU/m <sup>3</sup>	Basso	106 CFU/m <sup>3</sup>	Medio	1495 CFU/m <sup>3</sup>	Alto	30 CFU/m <sup>3</sup>	Molto basso
40				B	60 CFU/m <sup>3</sup>	Basso	233 CFU/m <sup>3</sup>	Medio	855 CFU/m <sup>3</sup>	Alto	50 CFU/m <sup>3</sup>	Basso
41				C	70 CFU/m <sup>3</sup>	Basso	143 CFU/m <sup>3</sup>	Medio	965 CFU/m <sup>3</sup>	Alto	65 CFU/m <sup>3</sup>	Basso
42	Caserma Sammaruga	Surgelati	-18°C	A	30 CFU/m <sup>3</sup>	Molto basso	16 CFU/m <sup>3</sup>	Molto basso	40 CFU/m <sup>3</sup>	Molto basso	10 CFU/m <sup>3</sup>	Molto basso

Legenda: S = Scaffale, L.P. = Livello Presenza

**Tabella 3.** Microrganismi rinvenuti dall'analisi microbiologica dello strofinaccio utilizzato per le operazioni di pulizia e sanificazione delle celle frigorifere espressi in UFC/m<sup>3</sup>.

ST.n.	C.M.	C.F.	C.M.P.	E.coli	Salm.	List.
1					assente	
2	>300					
3				<1*10 <sup>1</sup>		
4						assente
5					assente	
6	>300		>300	<1*10 <sup>1</sup>		
7		<1*10 <sup>1</sup>				
8						assente
9					assente	
10		<1*10 <sup>1</sup>				
11	>300		>300	<1*10 <sup>1</sup>		
12						assente
13					assente	
14				<1*10 <sup>1</sup>		
15		<1*10 <sup>1</sup>				
16						assente

Legenda tabella: ST: Sezione strofinaccio numero; C.M. Carica mesofila; C.F. Carica fungina; C.M.P. carica microbica psicrotrofa; Salm. Salmonella; List. Listeria

Lo strofinaccio per potere essere esaminato è stato ridotto, mediante l'utilizzo di una apposita maschera sterile quadrata (per la esecuzione di tamponi da superfici) i cui lati misuravano 10

cm, in sedici quadrati.

Dalla consultazione dei valori tabellari risulta evidente che la CMT prima della pulizia è riferibile per il 22% dei campioni esaminati ad un livello di contaminazione "medio", per il 53% "basso", per il 25% "molto basso". Dopo l'intervento di pulizia i valori cambiano assumendo per il 36% il livello "medio", per il 22% "basso", per il 42% "molto basso". Per la carica fungina invece i valori ottenuti prima, sono riferibili per il 41% ad un livello "alto", per il 39% "medio", per il 9% "basso", per l' 11% "molto basso", dopo invece, per il 10% "alto", per il 48% "medio", per il 24% "basso" e per il 18% "molto basso". Il risultato atteso, ossia quello di cariche complessivamente più basse al secondo monitoraggio, rispetto al primo, non è stato ottenuto pienamente e questo ha indotto a fare una analisi delle cause. Questa ha fatto rilevare che l'intervento di pulizia applicato lì ove erano stati registrati i livelli di contaminazione più elevati al secondo monitoraggio, veniva compiuto utilizzando uno strofinaccio non idoneamente pulito e sanificato, come dimostrato dall'esame microbiologico di 16 sezioni dello stesso, il cui esito è riportato nella Tab.3). Inoltre è stato osservato che l'uso di

contenitori non idonei (cassette di legno) per il trasporto e la conservazione degli alimenti ed in particolare di frutta e verdura ha contribuito ad innalzare i valori delle cariche, soprattutto nelle situazioni di maggiore carico.

## **CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI**

Considerato che:

- molti batteri e funghi veicolati da alimenti hanno un ruolo patogeno, diretto o indiretto attraverso la produzione di tossine;
- l'aria è un mezzo che in un ambiente ristretto, quali le celle frigorifere, entra facilmente a contatto con le superfici di alimenti (anche quelli che vengono consumati senza preventiva cottura, quali formaggi, verdure, frutta, etc.),

risulta necessario garantire la corretta custodia degli alimenti in idonei contenitori e imballaggi e la periodica scrupolosa pulizia e sanificazione delle superfici interne con dei processi di pulizia e sanificazioni validi e validati in associazione alla ventilazione ed alla vaporizzazione di prodotti sanificanti seppure innocui per la salute umana.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. A.M.F. Marino, A. Salvaggio, G. Corpina, M.L. Puglisi, A. Scalia, T. Alfonzetti, R. Giunta
2. "Monitoraggio attivo della qualità dell'aria all'interno di frigoriferi domestici mediante valutazione della carica fungina". Atti IX Congresso Nazionale FIMUA – CT 27-29 Nov. 2008.
3. 2) MUT (Mycotheca Universitatis Taurinensis) "Introduzione ai funghi dell'aria e degli alimenti: i generi *Aspergillus* e *Penicillium*: Applicazione del Biolog- Dip. Biologia Vegetale UNIV. TO.
4. 3) European Collaborative Action: Indoor air quality and its impact on man: Biological particles in indoor environments, report n°12, 1993.
5. 4) Stefano Andreoni, Claudio Farina e Gianluigi Lombardi-Atlante di Micologia Medica-Systems
6. 5) AES Sampl'air Lite User's Manual.
7. 6) Regione Piemonte - Direzione Sanità Pubblica - Settore Vigilanza e controllo alimenti di origine animale - Alberto Mancuso-Vie di contaminazione degli alimenti.
8. 7) "Linee guida per la tutela e a promozione della salute negli ambienti confinati" Suppl. ordinario G.U. Serie generale n.276 del 27 Novembre 2001