

# Valutazione della qualità igienico sanitaria di alcuni tipi di formaggi prelevati in fase di vendita al dettaglio

Vincenza Prencipe, Giacomo Migliorati, Osvaldo Matteucci, Paolo Calistri & Elisabetta Di Giannatale

## Riassunto

In questo lavoro sono stati esaminati 2.132 campioni selezionati tra sei tipi di formaggio, scelti sulla base di consumi registrati in Italia nell'anno 2004, per determinare la prevalenza di *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. e enterotossina stafilococcica. Nei campioni risultati positivi a *L. monocytogenes*, sono stati determinati anche i livelli di contaminazione. Per definire le caratteristiche chimico fisiche dei formaggi selezionati, sono stati determinati i valori di pH, aw e Cloruro di sodio (NaCl). I risultati hanno confermato che i formaggi erborinati e muffettati (Brie, Camembert, Gorgonzola, Taleggio) sono più esposti alla contaminazione di *L. monocytogenes*. La prevalenza media rilevata nei sei tipi di formaggio è stata del 2,4% (dallo 0,2% di Asiago e Crescenza al 6,5% del Taleggio) mentre i livelli di contaminazione sono risultati variabili (inferiore a 460 MPN/g). Nessun campione è risultato positivo per *Salmonella* spp. e *E. coli* O157 mentre l'enterotossina stafilococcica è risultata presente nello 0,6% dei campioni esaminati. I valori dei parametri chimico fisici hanno confermato che tutti i tipi di formaggio esaminati sono in grado di sostenere la crescita di *L. monocytogenes*. Lo studio ha, quindi, confermato la necessità di applicare controlli efficaci a livello di produzione e presso i punti vendita per ridurre la probabilità di contaminazione da *L. monocytogenes*. Questo microrganismo, potrebbe raggiungere livelli di contaminazioni elevati in prodotti alimentari che, come i

formaggi hanno una la lunga conservabilità, in associazione alla difficoltà di mantenere idonee temperature di conservazione sia presso i punti vendita sia in ambiente domestico.

## Parole chiave

Alimento, Asiago, Brie, Camembert, Crescenza, Enterotossina, *Escherichia coli* O157, Formaggio, Gorgonzola, Italia, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus*, Taleggio.

## Introduzione

Il formaggio è tra gli alimenti più diffusi e consumati in Italia. Nel 2004 ha fatto registrare un indice di penetrazione, parametro che misura la diffusione di un determinato prodotto tra i consumatori, del 99,5% rappresentando, in valore, l'11% dei prodotti del paniere della spesa (21). Viene considerato fra gli alimenti più sicuri, dato che per la sua produzione viene impiegato, principalmente, latte pastorizzato, privo quindi dei più comuni agenti patogeni responsabili di tossinfezioni alimentari (17, 18, 24). Nonostante questo aspetto favorevole dal punto di vista igienico-sanitario, alcuni tipi di formaggio sono soggetti, più di altri, alla contaminazione e proliferazione di microrganismi patogeni. Le cause sono da porre in relazione a fattori sia intrinseci (nutrienti, acqua libera, pH, sostanze ad attività inibente prodotte da microrganismi *starter* e *non-starter*, microflora competitiva ecc.) sia estrinseci (qualità microbiologica del latte crudo, fasi di lavorazione, condizioni di stagionatura e confezionamento ecc.) (34).

Studi condotti sulle varie tipologie di formaggio hanno, comunque, evidenziato come la contaminazione microbiologica abbia origine, prevalentemente, dall'impiego di latte crudo e dall'utilizzo di ambienti di lavorazione e stagionatura non igienicamente idonei (7, 8, 12, 14, 15, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 38).

Per conoscere la reale portata del potenziale pericolo per la salute del consumatore, correlato al consumo di formaggi, l'Unione Europea nel 2003 ha emanato delle raccomandazioni per redigere programmi comunitari coordinati di controllo ufficiale dei prodotti alimentari.

Questi programmi, hanno interessato prima i formaggi a latte crudo e termizzato, successivamente quelli a latte pastorizzato (9, 11). Nel Regolamento (CE) N. 2073/2005 relativo ai criteri microbiologici, per i prodotti pronti per il consumo è stato stabilito un livello di contaminazione massimo durante la vita commerciale, di 100 UFC/g di *Listeria monocytogenes* (4). In mancanza di evidenze scientifiche che dimostrino il contenimento dei livelli di contaminazione nei termini prescritti, il regolamento obbliga gli operatori del settore alimentare a condurre studi per la valutazione dell'andamento della carica batterica durante la vita commerciale del prodotto. In assenza di questi studi, il criterio quantitativo non può essere applicato esitando nella "tolleranza zero" per questo microrganismo patogeno. Lo stesso regolamento comporta "tolleranza 0" per *Salmonella* spp ed *Escherichia coli* O157 (4).

Dati desunti da piani di controllo effettuati in Europa negli ultimi anni e quelli riportati nel sistema europeo di allerta rapido per alimenti e mangimi (RASFF) hanno evidenziato, infatti, come la contaminazione microbiologica in questo tipo di alimento sia comunque diffusa (4, 5).

Il report EFSA, relativamente al 2005, nei formaggi a latte pastorizzato, ha evidenziato la presenza di *L. monocytogenes* nello 0,5% dei campioni (42/8.062 esaminati), *Salmonella* spp. nello 0,06% (2/ 3.519), ed *E. coli* O157 nello 0,17% (5/2.876). Tutti i casi di positività sono stati correlati con formaggi molli o semimolli. Relativamente alla enterotossina stafilococcica

è risultato positivo lo 0,34% dei campioni (3/884). La positività, in questo caso, ha interessato 2 formaggi semiduri e 1 molle stagionato (2).

Altresì, il report dell'EFSA per il 2006, ha evidenziato in 10.262 campioni di formaggi a latte crudo e pastorizzato di varie tipologie (a breve e a lunga maturazione, con o senza muffe, molli, semimolli e duri) esaminati in Europa (Germania esclusa), una positività per *L. monocytogenes* dello 0,7% (22).

In Germania, su 1.696 campioni esaminati *Listeria* è risultata presente al di sotto di 100 UFC/g nel 19,3% dei casi e superiore a questo limite nello 0,3%. In Italia *L. monocytogenes* è stata isolata nell'1,4% dei 3.861 campioni di formaggio esaminati (5).

Con questo lavoro si è inteso valutare la qualità igienico-sanitaria di alcuni formaggi selezionati tra quelli di maggior consumo a livello nazionale e prelevati in fase di commercializzazione (22).

In particolare sono stati determinati i livelli di contaminazione da *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. ed enterotossina stafilococcica. È stato, inoltre, valutato il grado di associazione tra alcuni fattori di rischio rilevati presso i punti vendita e la frequenza di contaminazione da agenti patogeni ricercati. I fattori individuati descrivono le condizioni igieniche delle attrezzature e le buone pratiche igieniche degli addetti alla vendita.

## Materiali e metodi

### Selezione dei formaggi e degli esercizi commerciali

Da marzo 2005 ad ottobre 2006, in esercizi commerciali della regione Abruzzo sono stati prelevati campioni appartenenti a 6 tipi di formaggio tra i più esposti alla contaminazione da *L. monocytogenes* e tra i più commercializzati in Italia:

- Asiago
- Brie
- Camembert
- Crescenza
- Gorgonzola
- Taleggio.

Il campione di esercizi commerciali è stato estratto casualmente dal database SEAT-Pagine Gialle (SEAT SpA, Torino – Italia) previa stratificazione per provincia, in base alla popolazione residente nelle 4 province abruzzesi (1, 23), e stratificazione per tipo di esercizio commerciale (piccola e grande distribuzione – PD e GD), sulla base degli acquisti effettuati in Italia nel 2004 (22). Sono stati estratti 390 punti vendita distribuiti nelle quattro province:

- 91 a L'Aquila
- 117 a Chieti
- 91 a Pescara
- 91 a Teramo.

Tuttavia, quelli interessati dal campionamento sono stati 381 (Tabella I) poiché in 9 punti vendita, per diverse ragioni (vendita limitata di prodotti, cessata attività ecc.) non è stato possibile reperire i formaggi da analizzare.

Sono stati prelevati 2.132 campioni di formaggio (Tabella II):

- Asiago: 449
- Brie: 300
- Camembert: 178
- Crescenza: 437
- Gorgonzola: 444
- Taleggio: 234.

T L'unità campionaria è stata di circa 500 g, tuttavia, non sono stati esclusi dalla ricerca campioni di peso inferiore, (carenza del prodotto nel punto vendita) purché sufficienti per la ricerca di *L. monocytogenes*. All'atto del campionamento, è stata compilata anche una "Scheda prelievo campioni" allo scopo di raccogliere dati su: punto vendita (denominazione, indirizzo, tipo), prodotto

(tipo di confezionamento, modalità di conservazione, presenza di divisori nel banco espositore, temperatura), abbigliamento, uso dei guanti e strumenti utilizzati dal personale addetto alla vendita. I campioni sono stati trasportati dal punto vendita al laboratorio a temperatura di refrigerazione (tra 0 e +4°C).

## Fattori di rischio per la valutazione della contaminazione da

### *L. monocytogenes*

Per poter determinare il contributo della contaminazione ambientale alla qualità igienico sanitaria dei formaggi commercializzati presso i punti vendita, sono state censite le condizioni igieniche delle attrezzature e degli utensili utilizzati dagli addetti alla vendita e dalle buone pratiche adottate da questi.

In particolare sono stati verificati gli aspetti di seguito elencati:

- luogo di conservazione del prodotto (banco frigorifero, ecc);
- presenza di altri tipi di alimenti nello stesso scomparto di vendita;
- presenza di divisori tra formaggi e gli altri alimenti;
- prodotto preparato in pre-incartati pronti o frazionato da una forma intera;
- protezione della superficie di taglio e tipo di materiale utilizzato;
- tipi di utensili utilizzati per porzionatura e loro gestione.

## Esami di laboratorio

Le prove microbiologiche relative a Taleggio, Brie, Camembert e Gorgonzola sono state eseguite includendo nella porzione da

Tabella I

Punti vendita in cui è stato effettuato il campionamento dei formaggi

Punto vendita	Chieti	L'Aquila	Pescara	Teramo	Totale
Hard discount	7	8	4	2	21
Ipermercato	13	0	10	3	26
Supermercato	63	50	45	55	213
Totale GD	83	58	59	60	260 (68,2%)
Minimercato	11	6	8	23	48
Negozi tradizionali	21	8	26	18	73
Totale PD	32	14	34	41	121 (31,8%)
Totale GD e PD	115	72	93	101	381

Tabella II  
Numero di campioni di formaggio acquistati per punto vendita

Punto vendita	Asiago	Brie	Camembert	Crescenza	Gorgonzola	Taleggio	Totale
Hard discount	27	29	11	23	29	6	125
Ipermercato	16	46	78	22	16	32	210
Supermercato	281	204	85	281	284	230	1.365
Totale GD	324	279	174	326	329	268	1.700 (79,7%)
Minimercato	52	12	3	46	47	23	183
Negozi tradizionali	73	9	1	65	68	33	249
Totale PD	125	21	4	111	115	56	432 (20,3%)
Totale GD e PD	449	300	178	437	444	324	2.132

esaminare anche la relativa crosta. L'aggiunta è stata motivata dall'opportunità di simulare gli effetti della sua asportazione incompleta, come avviene spesso in ambito domestico, e anche in considerazione delle indicazioni del Consorzio di Tutela del Taleggio che la considera edibile previa raschiatura (7).

La ricerca di *L. monocytogenes* ha interessato tutti i campioni (2.132), la ricerca di *E. coli* O157 2.127 campioni, *Salmonella* spp. 2.126 campioni, ed enterotossina stafilococcica 2.107 campioni. Il sistema PCR – BAX System (Du Pont Qualicon, USA) è stato impiegato per la ricerca di *L. monocytogenes* (37), *Salmonella* spp. (3) ed *E. coli* O157 (19). I campioni risultati positivi sono stati confermati utilizzando le specifiche norme ISO. La numerazione di *L. monocytogenes* è stata effettuata solo sui campioni positivi con metodo MPN (36). La ricerca della enterotossina stafilococcica è stata eseguita con metodo *enzyme-linked fluorescence assay* (EFSA) (VIDAS, BioMerieux, F).

Le determinazioni del pH e acqua libera sono state effettuate rispettivamente con metodo potenziometrico (20) e con metodo del "punto di rugiada" (21) mentre la quantità di sodio cloruro è stata determinata con metodo titrimetrico (1).

### Analisi statistica

I livelli di prevalenza dei microrganismi sono stati calcolati con limiti di confidenza bayesiana al 95%.

L'associazione tra prevalenza di contaminazione del microrganismo patogeno e uno o più fattori di rischio censiti presso i punti vendita,

è stata valutata separatamente con test del  $\chi^2$  e cumulativamente con regressione logistica.

Sono stati considerati come possibili variabili del livello igienico del prodotto: tipologia del punto vendita (GD e PD); presenza di divisori nel banco espositore; presenza di preincarto per la protezione del prodotto; porzionatura all'acquisto; modalità di prelievo del campione (eseguito dal personale del punto vendita o acquisito direttamente dal prelevatore dal banco espositore).

## Risultati

### Esami di laboratorio

Le prove effettuate sui campioni di formaggio per rilevare la presenza di *L. monocytogenes* hanno dato esito negativo nel Camembert (0/178), esiti positivi in Asiago (1/449), Brie (3/300), Crescenza (1/437), Gorgonzola (21/444) e Taleggio (21/324). La percentuale dei campioni contaminati è variata da un minimo di 0,2% (Asiago e Crescenza) a un massimo di 6,5% (Taleggio) (Tabella III). La distribuzione dei livelli di contaminazione ha evidenziato per 44 campioni valori fino a 24 MPN/g e per 3 campioni di Brie e Taleggio valori tra 110 e 460 MPN/g (Tabella IV e Figura 1).

Le prove effettuate per rilevare la presenza di *Salmonella* spp. ed *E. coli* O157 hanno dato esiti negativi (Tabella V). L'enterotossina stafilococcica è risultata non rilevabile in Crescenza (0/432) e Taleggio (0/320), mentre è risultata rilevabile (>1 ng/ml) in Asiago (1/442), Brie (2/299), Camembert (1/178) e Gorgonzola (9/436) (Tabella VI).

Tabella III  
Risultati della ricerca di *Listeria monocytogenes* nei campioni di formaggio esaminati e limiti di confidenza

Tipo di formaggio	Campioni	Positivi	Positivi (%)	Limite di confidenza inferiore al 95%	Limite di confidenza superiore al 95%
Asiago	449	1	0,2%	0,1%	1,2%
Brie	300	3	1,0%	0,4%	2,9%
Camembert	178	0	0,0%	0,0%	2,0%
Crescenza	437	1	0,2%	0,1%	1,3%
Gorgonzola	444	21	4,7%	3,1%	7,1%
Taleggio	324	21	6,5%	4,3%	9,7%
Totale	2.132	47			

Tabella IV  
Risultati della numerazione di *Listeria monocytogenes* nei campioni di formaggio risultati positivi

Tipo di formaggio	Campioni positivi	Carica minima rilevata (MPN/g)	Carica massima rilevata (MPN/g)
Asiago	1	<0,36	<0,36
Brie	3	<0,36	110
Camembert	0	0	0
Crescenza	1	<0,36	<0,36
Gorgonzola	21	0,36	9,3
Taleggio	21	<0,36	460
Total	47		

MPN most probable number

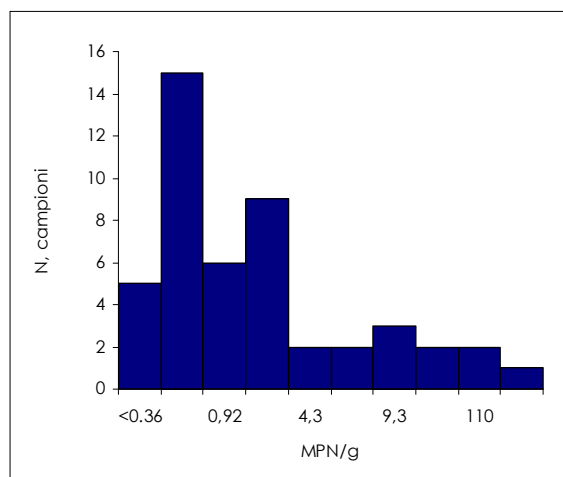


Figura 1  
Distribuzione del livello di contaminazione di *Listeria monocytogenes*

La determinazione dell'acqua libera è riportata in Tabella VII, quella del pH in Tabella VIII e quella del sodio cloruro in Tabella IX.

### Analisi statistica

Il test del  $\chi^2$  non ha evidenziato alcuna associazioni significativa tra positività dei campioni per *L. monocytogenes* e tre dei potenziali fattori di rischio relativi presi in considerazione: tipo di punto vendita, presenza di divisori nel banco espositore, presenza di preincarto per la protezione del prodotto.

Sono stati rilevati valori statistici scarsamente significativi relativamente alla porzionatura del prodotto ( $\chi^2 = 4,06$ ;  $p = 0,04$ ) e al prelievo eseguito dal personale del punto vendita ( $\chi^2 = 4,46$ ;  $p = 0,03$ ).

La regressione logistica, prendendo in considerazione le 5 variabili in studio, non ha permesso di rilevare alcuna associazione significativa con la positività per *L. monocytogenes* (Tabella X).

Tabella V  
Risultati della ricerca di *Salmonella* spp. di *Escherichia coli* O157 e limite di confidenza superiore, al 95%

Tipo di formaggio	Campioni (il numero di campioni esaminati per ricerca di <i>Escherichia coli</i> O157)	Positivi	Limite di confidenza superiore al 95%
Asiago	449	0	0,7%
Brie	299 (300)	0	1,0%
Camembert	178	0	1,7%
Crescenza	436	0	0,7%
Gorgonzola	441	0	0,7%
Taleggio	323	0	0,9%
Totale	2.126 (2.127)		

Tabella VI  
Risultati della ricerca di enterotossine stafilococciche nei campioni di formaggio esaminati e limiti di confidenza

Tipo di formaggio	Campioni	Positivi	Positivi (%)	Limite di confidenza inferiore al 95%	Limite di confidenza superiore al 95%
Asiago	442	1	0,2	0,1%	1,2%
Brie	299	2	0,7	0,2%	2,4%
Camembert	178	1	0,6	0,1%	3,1%
Crescenza	432	0	0,0	0,0%	0,7%
Gorgonzola	436	9	2,1	1,1%	3,8%
Taleggio	320	0	0,0	0,0%	0,9%
Totale	2.107	13			

Tabella VII  
Valore di acqua libera (Aw) nei campioni di formaggio esaminati

Tipo di formaggio	Campioni	Media	Minimo	Massimo
Asiago	68	0,967	0,926	0,988
Brie	53	0,978	0,936	0,996
Camembert	34	0,980	0,965	0,996
Crescenza	56	0,985	0,928	1,000
Gorgonzola	62	0,964	0,919	0,994
Taleggio	59	0,963	0,921	0,995
Totale	332			

Tabella VIII  
Valore di pH nei campioni di formaggio esaminati

Tipo di formaggio	Campioni	Media	Minimo	Massimo
Asiago	369	5,715	5,209	7,660
Brie	191	6,862	5,370	8,176
Camembert	66	6,827	5,500	7,930
Crescenza	359	5,526	4,900	7,270
Gorgonzola	362	6,629	4,989	7,996
Taleggio	219	6,088	5,374	8,033
Totale	1.566			

Tabella IX  
Contenuto di sodio cloruro nei campioni di formaggio esaminati (g/100g)

Tipo di formaggio	Campioni	Media	Minimo	Massimo
Asiago	69	1,97	0,84	2,83
Brie	53	1,89	0,99	2,82
Camembert	32	1,71	1,16	3,24
Crescenza	57	0,97	0,59	1,16
Gorgonzola	63	1,94	1,15	4,26
Taleggio	60	2,66	1,85	3,42
Totale	334			

Tabella X  
Regressione logistica sulle modalità di conservazione e servizio dei formaggi:  
valori stimati dei parametri del modello (massima verosimiglianza) per *Listeria monocytogenes*

Parametro	Valore stimato	Deviazione standard	$\chi^2$	$p > \chi^2$
Porzionatura dall'acquisto	0,072	0,405	0,031	0,859
Presenza divisori nel banco espositore	-0,655	0,501	1,712	0,191
Prodotto servito	-0,677	0,493	1,890	0,169
Presenza di involucro	0,040	0,410	0,009	0,922
Venduto nella PD	-0,478	0,504	0,900	0,343

## Discussione

Nello studio effettuato, la rappresentatività dei campioni per la situazione abruzzese, è stata garantita dalla stratificazione del campionamento e dal prelievo dei campioni in un arco di tempo sufficientemente ampio per comprendere eventuali variazioni stagionali. I risultati hanno evidenziato come le prevalenze di contaminazione di *Salmonella*, *E. coli* O157 ed enterotossina stafilococcica, siano risultate sovrapponibili a quelle rilevate nell'ambito dei controlli ufficiali in Europa negli anni 2005 e 2006 (6, 7). Al contrario, la prevalenza di *L. monocytogenes* nel Gorgonzola (6,5%) è risultata superiore a quella rilevata in Italia con i programmi di sorveglianza relativi agli anni 2002-2003 per i formaggi erborinati (2,2%) (14). Per lo stesso patogeno, le prevalenze rilevate nel Gorgonzola e nel Taleggio, sono risultate nettamente superiori rispetto alla situazione generale dei formaggi italiani come si evidenzia dai risultati dei programmi comunitari coordinati di controllo ufficiale dei prodotti alimentari per il 2004 (1,8% di campioni positivi) (13) e dal report 2006 dell'EFSA (1,4% di campioni positivi) (6).

Gli elevati valori di prevalenza rilevati in questo studio, rispetto ai controlli ufficiali dello stesso periodo, potrebbero essere determinati dalla diversa popolazione bersaglio del campionamento (formaggi ad alto rischio di presenza di *Listeria* nel nostro studio, campione concernente tutti i formaggi nel caso dei dati EFSA) e dalla diversa numerosità del campione (2.132 in questo studio, 543 nei controlli ufficiali). Inoltre, in questo studio si sono avuti 3 campioni con livelli di contaminazione compresi tra 100 e 460 MPN/g, mentre nelle attività di controllo ufficiale esaminate non sono stati rilevati casi di contaminazione superiore a 100 UFC/g.

Relativamente alle variabili considerate nella fase di distribuzione, la mancanza di differenze significative di prevalenza tra i campioni positivi per *L. monocytogenes* conservati e manipolati nel rispetto della buona prassi igienica e quelli trattati con modalità non igieniche, fanno ipotizzare che il ruolo maggiore nel determinare il rischio di contaminazione dei formaggi sia dato dalle fasi di produzione precedenti la commercializzazione (34).

L'assenza di contaminazioni da *Salmonella* spp. ed *E. coli* O157 riscontrata in questo studio, in contrasto all'elevata frequenza di contaminazioni da *L. monocytogenes*, è probabilmente in relazione alla diversa ecologia delle tre specie microbiche: *L. monocytogenes* è principalmente un contaminante di origine ambientale, mentre *Salmonella* spp. ed *E. coli* O157 vengono introdotti nell'alimento con la materia prima.

Questo aspetto della ecologia di *Listeria* è stato dimostrato in letteratura (25), evidenziando, attraverso l'analisi della crosta del gorgonzola come gli ambienti contaminati siano soprattutto quelli relativi alla fase di stagionatura. Da qui l'esigenza da parte dei produttori e degli organi preposti all'educazione sanitaria di suggerire l'eliminazione della crosta prima del consumo.

In relazione all'indagine chimico-fisica, i formaggi analizzati hanno evidenziato caratteristiche simili a quelle tipiche di questi prodotti (30), che rientrano negli intervalli che favoriscono la contaminazione e lo sviluppo degli agenti patogeni indagati, in particolare di *L. monocytogenes* (pH 4,4-9,4; acqua libera 0,90-0,93; sodio cloruro  $\leq 10\%$ ) (31).

Le variazioni rilevate, inoltre, non permettono di svolgere una valida analisi del rischio relativa a ciascun tipo di formaggio nel suo complesso, ma richiedono di considerare separatamente i singoli prodotti commerciali, pure appartenenti allo stesso consorzio di tutela.

L'elevazione del livello di contaminazione, ammesso a 100 UFC/g ad opera del Regolamento (CE) N. 2073/2005, ha comportato un aumento del rischio accettabile per il consumatore di 2500 volte rispetto alla situazione precedente l'entrata in vigore del regolamento (che prevedeva l'assenza di *Listeria* in 25 g). Ciò diventa particolarmente grave se si considera che tutti i campioni di formaggio esaminati hanno mostrato valori di composizione chimico-fisica che consentono lo sviluppo di *L. monocytogenes* alla temperatura di refrigerazione alla quale vengono conservati in fase di distribuzione e che, la dose-risposta, è influenzata oltre che dalla sua carica anche dalla virulenza dei ceppi e dallo stato immunitario dell'ospite (10).

I livelli di rischio raggiungibili in fase di consumo, pertanto, possono essere anche superiori ai già elevati valori accettati dal regolamento. Ne consegue che, dati i parametri chimico-fisici rilevati nei formaggi esaminati, per questo tipo di alimenti, il criterio microbiologico dovrebbe essere ulteriormente valutato.

Ad ulteriore conferma della necessità di rivedere il criterio microbiologico, i dati epidemiologici evidenziano come in Europa, negli anni 1999-2001, circa metà dei focolai e dei casi sporadici di listeriosi nell'uomo siano risultati associati al consumo di formaggi prodotti a partire da latte crudo e pastorizzato (28) e che nel 2006 in Francia e altri Paesi europei è aumentata l'incidenza di listeriosi umana (16).

## Conclusioni

Attraverso il Sistema di allerta comunitario, è stato ripetutamente segnalato il riscontro di *L. monocytogenes* in formaggi prodotti in Italia e commercializzati sia in Europa che Paesi terzi. Queste segnalazioni hanno generato il bisogno di innalzare il livello di attenzione sulla contaminazione da *L. monocytogenes* lungo tutta la catena produttiva, fino alla fase di vendita al dettaglio di questi prodotti.

Ad oggi non è ancora possibile stabilire l'effettivo rischio per il consumatore poiché i dati sulla presenza di *L. monocytogenes* sono insufficienti e tra loro non comparabili. L'esiguo numero di risultati positivi, inoltre, interessa formaggi diversi da quelli segnalati nelle allerte e da quelli che in letteratura sono indicati come prodotti a rischio per le loro caratteristiche chimico-fisiche e per le tecnologie produttive impiegate.

Le prevalenze e i livelli di contaminazione da *L. monocytogenes* riscontrati in quattro dei sei formaggi studiati (Brie, Camembert, Gorgonzola, Taleggio), suggeriscono di riconsiderare per questi prodotti i criteri microbiologici fissati dal Regolamento (CE) 2073/2005. I valori dei parametri chimico-fisici rilevati in questi formaggi rientrano, infatti, negli intervalli che favoriscono la sopravvivenza e lo sviluppo di *Listeria*. Inoltre,



la capacità di *Listeria* di sopravvivere e moltiplicarsi anche a temperatura di refrigerazione durante il periodo di vita commerciale, potrebbe esporre il consumatore a rischi inaccettabili, soprattutto le categorie più a rischio. In particolare alcuni dei formaggi esaminati hanno lunghi periodi di shelf life che associata alla difficoltà di garantire il mantenimento di corrette temperature di conservazione soprattutto in ambiente domestico potrebbero determinare in breve tempo la presenza di livelli elevati di *L. monocytogenes* nel prodotto.

A fronte dei bassi livelli di contaminazione da *L. monocytogenes* riportati in letteratura e confermati anche nel nostro studio, negli ultimi due anni in Europa si è assistito ad un aumento dei casi di Listeriosi nell'uomo. Questo suggerisce la necessità di approfondire

ulteriormente la dinamica dei meccanismi che intervengono nella trasmissione dell'infezione, di determinare la reale carica infettante del microorganismo nell'alimento al momento del consumo e le caratteristiche di patogenicità dei ceppi di *L. monocytogenes* isolati. Non tutti i ceppi di *L. monocytogenes* sono ugualmente patogeni per l'uomo e sono necessari ulteriori studi sulla patogenicità dei ceppi isolati per comprendere l'epidemiologia di questo patogeno.

## Finanziamento

Lo studio è stato finanziato dal Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Sociali (precedentemente Ministero della Salute)

## Bibliografia

1. Anon. 1986. Decreto Ministeriale 21 aprile 1986. Approvazione dei Metodi ufficiali di analisi dei formaggi. Suppl. ord. *Gazz Uff*, **88**, 2 ottobre 1986.
2. Anon. 1993. Decreto Ministeriale 16 dicembre 1993: Individuazione delle sostanze alimentari deteriorabili alle quali si applica il regime di controlli microbiologici ufficiali. *Gazz Uff*, **303**, 28 dicembre 1993.
3. Association Française de Normalisation (AFNOR) 2002. Système BAX *Salmonella* (automatisé). N° attestation: QUA-18/3-11/2002-Confirmation of validation of alternative analysis method according to NF V 03-100 Standard. Afnor, Bobigny, 8 pp ([www.afnor-validation.org/attestations/OXOID/QUA%2018-03%2011-02%20\(fr\).pdf](http://www.afnor-validation.org/attestations/OXOID/QUA%2018-03%2011-02%20(fr).pdf) ultimo accesso 9 giugno 2010).
4. Bolton L.F. & Frank J.F. 1999. Defining the growth/no-growth interface for *Listeria monocytogenes* in Mexican-style cheese based on salt, pH, and moisture content. *J Food Prot*, **62** (6), 601-609.
5. Busani L., Cigliano A., Taioli E., Caligiuri V., Chiavacci L., Bella C., Battisti A., Duranti A., Gianfranceschi M., Nardella M.C., Ricci A., Rolesu S., Tamba M., Marabelli R. & Caprioli A. 2005. Prevalence of *Salmonella* enterica and *Listeria monocytogenes* contamination in foods of animal origin in Italy. *J Food Prot*, **68** (8), 1729-1733.
6. Chen Y., Ross W.H., Gray M.J., Wiedmann M., Whiting R.C. & Scott V.N. 2006. Attributing risk to *Listeria monocytogenes* subgroups: dose response in relation to genetic lineages. *J Food Prot*. **69** (2), 335-344.
7. Consorzio Tutela Taleggio 2009. Tabella nutrizionale del formaggio Taleggio. Consorzio Tutela Taleggio, Treviglio, 1 p ([www.taleggio.it/IT/TATavola.htm](http://www.taleggio.it/IT/TATavola.htm) ultimo accesso 17 maggio 2010).
8. Commissione delle Comunità Europee (CE) 2004. Raccomandazione della Commissione (CE) del 19 dicembre 2003 relative a un programma coordinato dei controllo ufficiali dei prodotti alimentari per il 2004. *Off J*, **L 6**, 05.03.2005, 29-37 ([eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:006:0029:0037:it:pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:006:0029:0037:it:pdf) ultimo accesso 17 maggio 2010).
9. Commissione delle Comunità Europee (CE) 2005. Raccomandazione della Commissione del 1° marzo 2005 relativa a un programma coordinato dei controllo ufficiali degli alimenti per il 2005. *Off J*, **L 59**, 05.03.2005, 27-39 ([eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:059:0027:0039:it:Pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:059:0027:0039:it:Pdf) ultimo accesso 17 maggio 2010).
10. Commissione delle Comunità Europee (CE) 2005. Regolamento (CE) n° 2073/2005 della Commissione del 15 novembre 2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimenti. *Off J*, **L 338**, 22.12.2005, 1-26 ([eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:338:0001:0026:it:pdf](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:338:0001:0026:it:pdf) ultimo accesso 17 maggio 2010).

11. European Food Safety Authority (EFSA) (Autorità europea per la sicurezza alimentare) 2006. The Community Summary Report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2005. EFSA, Parma, 288 pp. *EFSA J*, **94**, 105-119 ([www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa\\_locale-1178620753812\\_1178620767319.htm](http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620767319.htm) ultimo accesso 17 maggio 2010).
12. European Food Safety Authority (EFSA) (Autorità europea per la sicurezza alimentare) 2007. The Community Summary Report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance and foodborne outbreaks in the European Union in 2006. EFSA, Parma, 351 pp. *EFSA J*, **130**, 133-150 ([www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa\\_locale-1178620753812\\_1178671312912.htm](http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178671312912.htm) ultimo accesso 17 maggio 2010).
13. Food Safety Authority of Ireland 2005. 2nd Trimester National Microbiological Survey 2005 (05NS2): EU Coordinated programme 2005. Bacteriological safety of cheeses made from pasteurised milk. Food Safety Authority of Ireland, Dublin, 36 pp ([www.fsai.ie/uploadedFiles/cheeses\\_bacteriological\\_05.pdf](http://www.fsai.ie/uploadedFiles/cheeses_bacteriological_05.pdf) ultimo accesso 17 maggio 2010).
14. Gattuso A., Gianfranceschi M. & D'Ottavio M.C. 2005. *Listeria monocytogenes*: attività di sorveglianza della listeriosi e monitoraggio di prodotti tipici. Workshop: Focus su sicurezza d'uso e nutrizionale degli alimenti, 21-22 November, Rome. Istituto Superiore di Sanità, Rome, 1-30.
15. Gay M. & Amgar A. 2005. Factors moderating *Listeria monocytogenes* growth in raw milk and in soft cheese made from raw milk. *Lait*, **85** (3), 153-170.
16. Goulet V., Hedberg C., Le Monnier A. & De Valk H. 2008. Increasing incidence of listeriosis in France and other European countries. *Emerg Infect Dis*, **14** (5), 734-740.
17. Hammer P. 2004. Heat inactivation of classical *Mycobacteria* in milk - a historical review. *Bull Int Dairy Fed*, **392**, 42-48.
18. Hassan A.N. & Frank J.F. 2000. Heat inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in milk. *Egyptian J Dairy Sci*, **28** (2), 129-137.
19. Health Canada 2003. Laboratory procedure MFLP-30: The Dupont Qualicon Bax<sup>®</sup> system method for the detection of *E. coli* O157:H7 in raw beef and fruit juice. Health Canada, Ottawa, 4 pp ([www.hc-sc.gc.ca/fn-an/alt\\_formats/hpfb-dgpsa/pdf/res-rech/mflp30-eng.pdf](http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/alt_formats/hpfb-dgpsa/pdf/res-rech/mflp30-eng.pdf) ultimo accesso 9 giugno 2010).
20. International Organization for Standardisation (ISO) 1991. Fruit and vegetable products – determination of pH. ISO, Geneva, ISO 1842: 1991, 2 pp.
21. International Organization for Standardisation (ISO) 2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs – determination of water activity. ISO, Geneva, ISO 21807:2004, 7 pp.
22. Istituto di Servizi per il Mercato Agricolo Alimentare (ISMEA) 2005. Acquisti domestici: formaggi. In Rapporto sui consumi alimentari in Italia. News Panel Consumi N. 6, 2000-2004. ISMEA, Rome, 12 pp ([www.ismea.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/557](http://www.ismea.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/557) accessed on 10 May 2010).
23. Istituto Nazionale di Statistica (ISTAT) 2001. 14°Censimento generale della popolazione e delle abitazioni. Popolazione residente e abitazioni nelle regioni italiane – fascicolo regionale Abruzzo. ISTAT, Rome, 194 pp ([www.istat.it/dati/catalogo/20071029\\_00/](http://www.istat.it/dati/catalogo/20071029_00/) ultimo accesso 17 maggio 2010).
24. Juffs H. & Deeth H. 2007. Scientific evaluation of pasteurisation for pathogen reduction in milk and milk products. Food Standards Australia New Zealand, Canberra, 146 pp ([www.foodstandards.gov.au/\\_srcfiles/Scientific%20Evaluation.pdf#search=%22Harley%20Juffs%20and%20Hilton%20Deep%22](http://www.foodstandards.gov.au/_srcfiles/Scientific%20Evaluation.pdf#search=%22Harley%20Juffs%20and%20Hilton%20Deep%22) ultimo accesso 17 maggio 2010).
25. Kozacinski L., Hadziosmanovic M., Miokovic B., Njari B. & Pranjić D. 2001. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in foodstuffs of animal origin. *Periodicum Biologorum*, **103** (2), 187-190.
26. Longhi C., Maffeo A., Penta M., Petrone G., Seganti L. & Conte M.P. 2003. Detection of *Listeria monocytogenes* in Italian-style soft cheeses. *Appl Environ Microbiol*, **94** (5), 879-885.
27. Lundén J., Tolvanen R. & Korkeala H. 2004. Human listeriosis outbreaks linked to dairy products in Europe. *J Dairy Sci*, **87** (Suppl.), E6-E12.
28. McClure P.J., Roberts T.A. & Oguru P. O. 1989. Comparison of the effects of sodium chloride, pH and temperature on the growth of *Listeria monocytogenes* on gradient plates and in liquid medium. *Lett Appl Microbiol*, **9** (3), 95-99.
29. Marchisio E. & Soncini G. 2001. Survival analysis of *Listeria monocytogenes* during shelf-life of artificially contaminated Taleggio cheeses. *Industria Latte*, **37** (3/4), 3-12.
30. Petrone G., Conte M.P., Longhi C., Di Santo S., Superti F., Ammendolia M.G., Valenti P. & Seganti L. 1998. Natural milk fatty acids affect survival and invasiveness of *Listeria monocytogenes*. *Lett Appl Microbiol*, **27** (6), 362-368.

31. Radhakrishnan S., Puri V.M., Knabel S.J. & Anantheswaran R.C. 1999. Growth modeling of *Listeria monocytogenes* in Camembert cheese. Paper No. 99-6061. American Society of Agricultural and Biological Engineers (ASABE), St Joseph, Missouri, 14 pp.
32. Regione Lombardia Agricoltura 2004. Il formaggio Gorgonzola ed il problema *Listeria monocytogenes* *Quaderni Ricerca*, **28** 42 pp ([www.cultura.regione.lombardia.it/shared/ccurl/57/695/QdR%2028%20GOLIS.pdf](http://www.cultura.regione.lombardia.it/shared/ccurl/57/695/QdR%2028%20GOLIS.pdf) ultimo accesso 5 maggio 2010).
33. Ryu J.-H. & Larry R. Beuchat L.R. 2005. Biofilm formation by *Escherichia coli* O157:H7 on stainless steel: effect of exopolysaccharide and curli production on its resistance to chlorine. *Appl Environ Microbiol*, **71** (1), 247-254.
34. Salvadori Del Prato O. 1998. Trattato di Tecnologia Casearia. Edagricole, Bologna, 1 070 pp.
35. Tienungoon S., Ratkowsky D.A., McMeekin T.A. & Ross T. 2000. Growth limits of *Listeria monocytogenes* as a function of temperature, pH, NaCl, and lactic acid. *Appl Environ Microbiol*, **66** (11), 4979-4987.
36. United States Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service (USDA/FSIS) 2009. Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* from red meat, poultry, egg and environmental samples, Chapter 8, Revision 7. USDA/FSIS, Washington, MLG 8.07, 20 pp ([www.fsis.usda.gov/PDF/MLG\\_8\\_07.pdf](http://www.fsis.usda.gov/PDF/MLG_8_07.pdf) ultimo accesso 12 maggio 2010).
37. United States Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service (USDA/FSIS) 2009. Procedure for the use of *Listeria monocytogenes* polymerase chain reaction (PCR) screening test, Revision 4. USDA/FSIS, Washington, MLG 8A.04, 5 pp ([www.fsis.usda.gov/PDF/MLG\\_8A\\_04.pdf](http://www.fsis.usda.gov/PDF/MLG_8A_04.pdf) accessed on 12 May 2010).
38. Wan J., Harmark K., Davidson B.E., Hillier A.J., Gordon J.B., Wilcock A., Hickey M.W. & Coventry M.J. 1997. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by piscicolin 126 in milk and Camembert cheese manufactured with a thermophilic starter. *J Appl Microbiol*, **82** (3), 273-280.