

# PRESENZA DI *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN ALIMENTI READY TO EAT PRELEVATI DALLE AUTORITÀ SANITARIE DELLA LOMBARDIA NEL BIENNIO 2009-2010

## ***OCCURRENCE OF Listeria monocytogenes IN READY TO EAT FOOD SAMPLES COLLECTED BY LOMBARDY REGION HEALTH AUTHORITIES IN 2009-2010***

Oliverio E., De Nadai V., Daminelli P., Finazzi G., Bertasi B., Losio M.N.  
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna- Sede di Brescia- Reparto Microbiologia

### **SUMMARY**

The study provides data on the prevalence of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat food samples collected by Lombardy region health authorities and analyzed by Department of Food Microbiology, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna. From the total of 503 food samples analyzed, the pathogen was detected in 85 (16,9%). In particular it was highlighted in 8/152 (5,3%) meat products, in 5/245 (2%) dairy products and in 42/106 (39,6%) fishery products. Given the considerable public health implications, the study confirms that a well-planned program of listeriosis surveillance should be enforced to suitably estimate the burden of disease and to prevent foodborne outbreaks.

### **KEYWORDS**

*L.monocytogenes*, prevalence, RTE

### **INTRODUZIONE**

*Listeria monocytogenes* è un batterio ubiquitario responsabile di una patologia chiamata listeriosi che causa febbre, dolori muscolari e talvolta sintomi gastrointestinali come nausea o diarrea. Se l'infezione diffonde al sistema nervoso possono essere presenti sintomi quali emicranie, irrigidimento del collo, confusione, disorientamento (1).

In individui immunocompetenti l'infezione solitamente non è grave, mentre nelle donne in gravidanza può causare aborto spontaneo, natimortalità, parto prematuro o infezione del neonato. Soggetti immunodepressi ed anziani costituiscono la fascia di popolazione più sensibile, dove la listeriosi raggiunge un elevato tasso di mortalità (2).

La trasmissione generalmente avviene consumando cibo contaminato, soprattutto prodotti lattiero-caseari ottenuti da latte non pastorizzato e prodotti *ready-to-eat* (RTE) a base di carne e pesce (3). Inoltre *L. monocytogenes* è stata ritrovata in una varietà di alimenti crudi come

carni e vegetali, così come in alimenti trasformati, contaminati dopo la lavorazione, come formaggi molli e carni fredde tipiche delle gastronomie (4;3). Potenziali fonti di contaminazione da *L. monocytogenes* sono le materie prime, le manipolazioni, l'ambiente, utensili e apparecchiature che potrebbero essere la fonte primaria di contaminazione o veicolare i microrganismi se pulizia e sanificazione sono scarse.

La listeriosi è sottostimata in quanto non è una malattia soggetta a notifica in diversi Paesi e non esistono adeguati programmi di sorveglianza. In accordo con i report dell'EFSA, il numero dei casi di listeriosi confermati è aumentato dal 2004 al 2006 con un lieve calo osservato nel 2007 (3). Sebbene l'infezione da *L. monocytogenes* sia di solito limitata ai soggetti immunocompromessi, il tasso di mortalità elevato associato a questa malattia rende tale microrganismo la causa principale di morte tra i patogeni batterici trasmessi con il consumo di cibi contaminati (5).

In questo studio è stata valutata la presenza ed

è stata effettuata la numerazione di *L. monocytogenes* in alimenti RTE prelevati con finalità di controllo ufficiale, suddivisi per matrice. I campioni che hanno rivelato la presenza del microrganismo sono stati ulteriormente classificati, in base al Regolamento CE 1441/2007 (6) in “alimenti pronti che costituiscono terreno favorevole alla crescita di *L. monocytogenes*” e “alimenti pronti che non costituiscono terreno favorevole alla crescita di *L. monocytogenes*”.

## MATERIALI E METODI

### Campionamento

Nel biennio 2009/2010 sono stati analizzati come campioni ufficiali conoscitivi e campioni ufficiali legali 503 alimenti. In particolare 152 prodotti a base di carne, 245 prodotti lattiero caseari, 106 prodotti ittici, costituiti nella quasi totalità da salmone affumicato.

### Isolamento e numerazione di *Listeria monocytogenes*

L'isolamento e l'identificazione di *L. monocytogenes* nei campioni è stata effettuata secondo la metodica UNI EN ISO 11290-1/2004 (7), in accordo con quanto previsto dal Regolamento CE 1441/2007. Una porzione di 25g del campione è stata omogeneizzata in 225 ml di terreno half Fraser e incubata a 30°C per 24 h. Un quantitativo pari a 0,1 ml della coltura ottenuta è stato trasferito in una provetta da 10 ml di Fraser broth e incubato a 37°C per 48 h. Dal terreno di arricchimento è stata seminata un'ansata di coltura su piastre di terreno selettivo ALOA e Oxford, in modo da ottenere colonie isolate. Sono quindi state selezionate 5 colonie di ciascuna piastra, isolate su terreno TSYEA, e sottoposte a test di valutazione delle caratteristiche morfologiche, fisiologiche e biochimiche per la conferma di *L. monocytogenes*.

Sui campioni si è inoltre proceduto alla numerazione di *L. monocytogenes* con metodica UNI EN ISO 11290-2/2004 (8). Un quantitativo pari a 10g del campione è stato omogenato in APT 1:10 e la sospensione ottenuta è stata lasciata 1 h a temperatura ambiente al fine di consentire la rivitalizzazione dei microrganismi stressati. In seguito 0,1 ml della sospensione iniziale sono stati trasferiti in due piastre di terreno selettivo ALOA, incubate a 37°C per 48 h.

### Determinazioni chimico-fisiche

Due porzioni di ciascun campione sono state prelevate per la misurazione di pH e Aw. La determinazione del pH è stata effettuata sul campione sminuzzato, mediante strumento con compensazione automatica della temperatura (Hanna Instruments HI223). I valori di Aw sono

stati misurati mediante apparecchiatura della Ditta Testo con sonda fattore k. In relazione al valore di tali parametri i prodotti in cui è stata riscontrata la presenza di *L. monocytogenes* sono stati suddivisi in alimenti che costituiscono terreno favorevole e alimenti che non costituiscono terreno favorevole alla crescita del patogeno.

## RISULTATI

La presenza di *L. monocytogenes* è stata riscontrata in 55 dei 503 campioni analizzati (10,9%). In particolare il patogeno è stato evidenziato in 8 su 152 (5,3%) campioni di prodotti a base di carne, in 5 su 245 (2%) campioni di prodotti derivati del latte e in 42 su 106 (39,6%) campioni di prodotti ittici, come riportato nel grafico 1. L'analisi quantitativa ha dimostrato la presenza di un numero di colonie del patogeno superiore a 100 ufc/g in un solo campione di salmone affumicato. La determinazione dei parametri di pH e Aw ha evidenziato che gli alimenti in cui è stata dimostrata la presenza di *L. monocytogenes* sono risultati costituire terreno favorevole allo sviluppo del patogeno, in relazione a quanto definito dal Reg. CE1441/2007 (6), nel 100% dei prodotti lattiero caseari e dei prodotti ittici e nel 75% dei campioni di prodotti a base di carne.

## CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

L'incidenza di *L. monocytogenes* osservata negli alimenti del presente studio risulta essere mediamente più elevata di quella riportata nei dati EFSA 2009, in particolare per i prodotti ittici. Relativamente alla divergenza di positività rilevata in tale tipologia di alimenti, è necessario ricordare che la quasi totalità di matrici analizzate nel presente lavoro è costituita da salmone affumicato, prodotto particolarmente a rischio per contaminazione da *L. monocytogenes*. Pertanto i dati di prevalenza osservati risultano in linea con quanto descritto da altri autori (9, 10) e confermano la significativa presenza del patogeno in questa tipologia di prodotto, attribuita principalmente a contaminazioni della materia prima o ricontaminazioni in seguito al trattamento di affumicatura.

La prevalenza del patogeno osservata nei prodotti a base di latte risulta in accordo con quanto descritto da Di Pinto *et al.* e Iida *et al.* (10, 11). I dati dimostrano la sostanziale efficacia dei processi di produzione nel modulare la presenza del patogeno e la corretta applicazione delle buone prassi igieniche di lavorazione nell'industria lattiero-casearia.

Gli alimenti a base di carne analizzati com-

prendevano un'ampia gamma di produzioni quali insaccati e prodotti di salumeria crudi e cotti. La positività di *L. monocytogenes* riscontrata nel 5,3% dei campioni non risulta distribuita in modo omogeneo nei diversi prodotti testati. La totalità dei campioni contaminati, infatti, era costituita da insaccati. Tale tipologia di prodotti non presenta nel processo di produzione particolari fasi in grado di abbattere efficacemente il patogeno, in particolare in salami a stagionatura breve. Un'accurata selezione dei fornitori al fine di assicurarsi una materia prima di elevata qualità risulta pertanto un requisito essenziale per la produzione di alimenti salubri. *L. monocytogenes* non è stata riscontrata nei prodotti a base di carne sottoposti a trattamento termico, comprovando l'attenzione posta dall'OSA al fine di evitare ricontaminazioni dell'alimento dopo cottura.

Nonostante l'analisi quantitativa abbia dimostrato la presenza di un numero di colonie di *L. monocytogenes* >100 ufc/g in un solo campione di salmone affumicato, le caratteristiche chimico-fisiche della totalità dei prodotti ittici e lattiero caseari e il 75% dei prodotti a base di carne positivi per *Listeria* classificano tali alimenti tra i prodotti considerati "terreno favorevole alla crescita di *L. monocytogenes*" in base al Regolamento CE 1441/2007 (6). E' responsabilità dell'OSA dimostrare, con soddisfazione dell'autorità competente, attraverso gli studi previsti dal Regolamento CE 2073/2005, che nonostante la classificazione in tale categoria il proprio prodotto non costituisca un potenziale rischio per la salute pubblica in quanto non supporta la crescita del patogeno.

La presenza di *L. monocytogenes* nei diversi alimenti è sempre correlabile al tipo di confezionamento, alle tecniche di preparazione degli alimenti, alle temperature di conservazione, al momento del campionamento rispetto al periodo di conservabilità, alla mancanza di un efficace sistema HACCP e alla mancanza di conoscenze e formazione del personale addetto alla manipolazione degli alimenti, considerando che la crescita del patogeno avviene in funzione del tipo di cibo nonché della durata e della temperatura di conservazione. La temperatura di conservazione nel punto vendita al dettaglio e la temperatura nei frigoriferi domestici possono variare in modo significativo, soprattutto in questi ultimi.

Sulla diffusione di *L. monocytogenes* si è espresso il gruppo di esperti scientifici BIOHAZ, sostenendo che per valutare meglio i rischi e migliorare le conoscenze sugli alimenti responsabili di listeriosi sono necessari una più approfondita indagine sui casi sporadici e sui focolai di listeriosi nonché dati sul consumo degli alimen-

ti pronti che favoriscono la crescita di *L. monocytogenes*.

Considerando come obiettivo primario la riduzione del rischio di listeriosi, è auspicabile un'applicazione coerente e sistematica delle buone pratiche igieniche (GHP) in combinazione con il sistema HACCP onde ridurre al minimo la contaminazione iniziale a livello di produzione e/o ridurre il potenziale di crescita di *L. monocytogenes* (12).

In particolare le aziende che producono o utilizzano gli alimenti che risultano essere più spesso contaminati da *Listeria* dovrebbero integrare e programmare efficacemente i controlli di loro specifica competenza e valutare correttamente i prodotti in entrata e in uscita, con specifica attenzione a quegli alimenti che non necessitano di adeguato riscaldamento o cottura prima del consumo, che sono soggetti a contaminazioni successive alla produzione o che non posseggono caratteristiche fisico-chimiche in grado di ostacolare la crescita e la moltiplicazione dei microrganismi nel corso della loro shelf-life (13).

In conclusione, considerando le notevoli implicazioni sulla salute pubblica di episodi di listeriosi, i dati osservati confermano la necessità di implementare programmi di sorveglianza coerentemente pianificati a livello Nazionale ed Europeo e il dovere dell'OSA di garantire la sicurezza del consumatore.

## BIBLIOGRAFIA

1. MEAD P.S., DUNNE E.F., GRAVES L., WIEDMANN M., PATRICK M., HUNTER S., SALEI E., MOSTASHARI F., CRAIG A., MSHAR P., BANNERMAN T., SAUDERS B.D., HAYES P., DEWITT W., SPARLING P., GRIFFIN P., MORSE D., SLUTSKER L., SWAMINATHAN B. (2006). Nationwide outbreak of listeriosis due to contaminated meat. *Epidemiol. Infect.* **134**: 744-751.
2. GARRIDO V., TORROBA L., GARCÍA-JALÓN I., VITAS A.I. (2008). Surveillance of listeriosis in Navarre, Spain, 1995-2005 - epidemiological pattern and characterization of clinical and food isolates. *Euro Surveill.* **13**, (49): 19058.
3. EFSA, THE COMMUNITY SUMMARY REPORT ON TRENDS AND SOURCES OF ZOOSE AND ZOONOTIC AGENTS IN THE EUROPEAN UNION. (2009). The EFSA Journal.
4. CORDANO A.M., ROCOURT J. (2001). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in food in Chile. *Int. J. Food Microbiol.* **70**: 175-178.
5. JEMMI T., STEPHAN R. (2006). *Listeria monocytogenes*: food-borne pathogen and hygiene indicator. *Revue scientifique tech-*

- nique* (International Office of Epizootics). 25: 571-80.
6. Reg. CE 1441/2007 della Commissione del 5 Dicembre 2007.
  7. ISO 11290-1: 1999/Amd1: 2004.
  8. ISO 11290-2: 1999/Amd 1: 2004.
  9. UYTENDAELE M., BUSSCHAERT P., VALERO A., GEERAERD A.H., VERMEULEN A., JACXSENS L., GOH K.K., DE LOY A., VAN IMPE J.F., DEVLIEGHERE F. (2009). Prevalence and challenge tests of *Listeria monocytogenes* in Belgian produced and retailed mayonnaise-based deli-salads, cooked meat products and smoked fish between 2005 and 2007. *Int. J. Food Microbiol.* 133: 94-104.
  10. DI PINTO A., NOVELLO L., MONTE-MURRO F., BONERBA E., TANTILLO G., 2010. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods from supermarkets in southern Italy. *New Microbiologica*, 33: 249-252.
  11. IIDA T., KANZAKI M., NAKAMA A., KOKUBO Y., MARUYAMA T., KANEUCHI C.(1998) Detection of *Listeria monocytogenes* in Humans, Animals and Foods. *J. Vet. Med. Sci.* 60(12):1341-1343.
  12. EFSA, Richiesta di aggiornamento del precedente parere dell'SCVPH sul rischio di *Listeria monocytogenes* connesso agli alimenti pronti e di una consulenza scientifica sui diversi livelli di *Listeria monocytogenes* negli alimenti pronti e sul relativo rischio di malattia per l'uomo. Parere scientifico del gruppo di esperti scientifici sui pericoli biologici, 2008. *The EFSA Journal*.
  13. COMITATO NAZIONALE PER LA SICUREZZA ALIMENTARE, PARERE N. 3 del 22/04/2009 *Listeria monocytogenes* nei formaggi.

**Figura 1.** Prevalenza di *L. monocytogenes* in diverse tipologie di alimenti RTE

