

CORSO MICROBIOLOGIA ALIMENTARE:

Listeria monocytogenes

1.0 GENERALITA'

Il genere *Listeria* (dal nome del medico inglese *J. Lister*), inizialmente costituito dalla sola specie *L. monocytogenes*, è composto da bacilli Gram +, asporigeni, aerobi ed anaerobi facoltativi, catalasi positivi ed ossidasi negativi; tali microrganismi sono mobili grazie a flagelli peritrichi.

Il genere, che in passato è stato continuamente sottoposto a revisioni tassonomiche, attualmente comprende sei specie: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. grayi*. Nell'ambito del genere soltanto *L. monocytogenes* è sicuramente patogena per l'uomo, mentre *L. ivanovii* è di sospetta patogenicità per l'uomo e gli animali.

Listeria presenta un optimum di crescita a 37 °C, essendo però un microrganismo psicrofilo cresce anche a temperature di refrigerazione intorno ai 4 °C; il pH ottimale si aggira intorno a 7, e il valore di acqua libera può anche essere inferiore a 0.93.

Essendo alotollerante tale microrganismo riesce a moltiplicarsi fino a concentrazioni di sale dell' 8-10%. Biochimicamente, *L. monocytogenes* non riduce i nitrati, non produce idrogeno solforato, fermenta glucosio, fruttosio, mannosio, galattosio, cellobiosio, trealosio e saccarosio con la conseguente produzione di acidi.

L. monocytogenes si comporta come un parassita endocellulare poiché si moltiplica all'interno dei monociti, che la trasportano nel sangue; da qui deriva il nome *monocytogenes*.

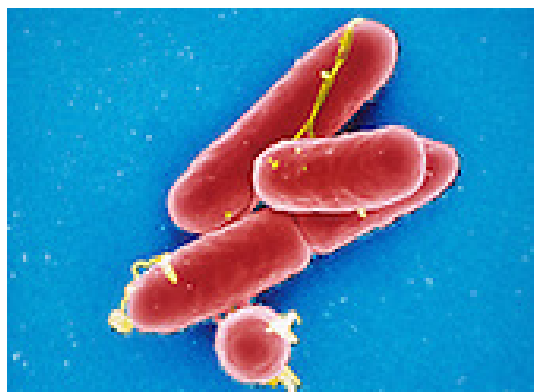


Fig. 1: *Listeria monocytogenes*, microscopio elettronico a scansione

Il genere *Listeria* comprende microrganismi ad habitat ambientale ed intestinale; le nicchie ecologiche prevalenti di questi microrganismi sono rappresentate dal suolo e dai vegetali soprattutto in decomposizione. La sopravvivenza della *Listeria* nell'ambiente sembrerebbe influenzata dall'umidità, dal tipo di terreno e dall'esposizione ai raggi solari; in generale questi batteri sono molto resistenti agli stress ambientali. Come citato sopra, le *Listerie* vivono anche

nell'intestino di animali, sia selvatici che domestici, dove possono condurre una vita saprofitica per essere poi eliminate nell'ambiente esterno con le feci.

L'ubiquitarietà di questi microrganismi sia nell'ambiente naturale che agrozootecnico, ne permette pertanto la diffusione alle materie prime di origine animale e vegetale utilizzate nell'industria alimentare e quindi la trasmissione all'uomo tramite gli alimenti, tanto che la listeriosi è considerata ormai, più che una zoonosi, una malattia trasmessa da alimenti.

2.0 LISTERIA MONOCYTOGENES NEGLI ALIMENTI E TOSSINFEZIONI ALIMENTARI

Appartenente al gruppo di malattie definibili come tossinfezioni alimentari, la listeriosi prende il nome dall'agente patogeno che la causa, il batterio *Listeria monocytogenes*. Nonostante evidenze della malattia siano state descritte fin dalla fine dell'800 in diversi animali, il primo caso umano di listeriosi è stato riportato nel 1929, e il primo caso perinatale nel 1936. Nei paesi occidentali la malattia sta assumendo sempre più una dimensione problematica per la sanità pubblica, sia per la sua potenziale gravità sia per il fatto che epidemie si sono manifestate anche in anni recenti nei nostri paesi, soprattutto in seguito alla distribuzione di cibo contaminato attraverso le grandi catene di ristorazione.

La listeriosi si verifica principalmente in seguito all'assunzione di cibo inquinato, ma la dose infettante è incerta, generalmente considerata alta per individui sani, con tassi di contaminazione alimentare di oltre 1.000 cellule/g.

La listeriosi può assumere varie forme cliniche, che si manifestano in base al sistema immunitario dell'individuo interessato:

- forma diarroica in soggetti immunocompetenti: il quadro clinico è caratterizzato da crampi addominali, diarrea e febbre. Il tempo di incubazione è relativamente breve, 12-48 ore, e la malattia si esaurisce in pochi giorni;
- forma invasiva o sistemica in soggetti con sistema immunitario debole (ad esempio anziani, donne in gravidanza, malati di AIDS): il microrganismo a partire dai tessuti intestinali diffonde in altri siti attraverso il torrente circolatorio, sviluppando sepsi, encefaliti e meningiti. In questo caso, tra l'ingestione del cibo a rischio e la manifestazione dei sintomi possono passare anche periodi di tempo piuttosto consistenti, in media sui 30 giorni ma in qualche caso fino a 90 giorni. I primi sintomi sono spesso simili a quelli di altre malattie derivate da alimenti contaminati: febbre, dolori muscolari, nausea, diarrea. Quando l'infezione si diffonde al sistema nervoso, si possono manifestare emicranie, confusione, irrigidimento del collo, perdita dell'equilibrio o anche convulsioni;
- nelle donne in gravidanza la listeriosi può portare ad aborto prematuro, morte del feto e infezioni nel nascituro. Tra i neonati che hanno contratto l'infezione dalla madre, il tasso di mortalità è piuttosto elevato, e la malattia si manifesta sia sotto forma di polmonite che di meningite, difficilmente distinguibili a livello sintomatico da infezioni causate da altri agenti patogeni. Nei neonati però la listeriosi può dare luogo anche ad altri sintomi, come perdita di appetito, vomito, irritazione epidermica. Anche quando l'esito della malattia non è fatale, il

neonato ha comunque il rischio di subire danni neurologici a lungo termine e sviluppo ritardato.

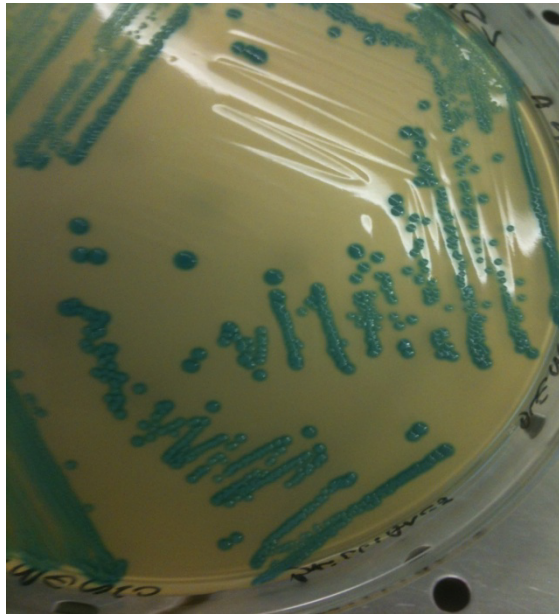


Fig. 2: *Listeria monocytogenes* isolata da alimenti in terreno di coltura Brilliance Agar Base

La probabilità che la malattia si verifichi dipende da quattro fattori ovvero la carica microbica presente nell'alimento, le caratteristiche del cibo che possono favorire la moltiplicazione delle cellule presenti, lo stato immunitario dell'individuo e la virulenza del ceppo microbico ingerito.

La migliore strategia di lotta alla listeriosi passa attraverso una efficiente prevenzione, che si può facilmente attuare applicando le generali norme di igiene e attenzione previste per tutte le altre tossinfezioni alimentari:

- cottura completa e corretta dei cibi derivati da animali;
- lavaggio accurato delle verdure prima del consumo;
- separazione delle carni crude dalle verdure e dai cibi cotti e pronti al consumo;
- uso di prodotti lattiero-caseari pastorizzati;
- lavaggio accurato di coltelli, taglieri e mani dopo aver maneggiato cibi crudi;
- corretta sanificazione del frigorifero, e disposizione degli alimenti con criterio, evitando di conservare al suo interno alimenti sfusi, ma sempre in avvolti da pellicola o in contenitori idonei.

In particolare, i soggetti più a rischio, come le donne in gravidanza o le persone immunodepresse, dovrebbero:

- evitare di mangiare panini contenenti carni o altri prodotti elaborati da gastronomia senza che questi vengano nuovamente scaldati ad alte temperature;
- non mangiare formaggi molli se non si ha la certezza che siano prodotti con latte pastorizzato;
- non mangiare paté di carne freschi e non inscatolati;
- non mangiare pesce affumicato, a meno che non sia inscatolato in forme che non deperiscono a breve scadenza;

- evitare il consumo dei prodotti di IV gamma, ovvero frutta e verdure già tagliate e pronte al consumo, se non dopo successivo lavaggio.

I dati di letteratura riportano che le matrici alimentari maggiormente contaminate da listeria sono carne cruda di tutti i tipi, verdura cruda, latte crudo o erroneamente pastorizzato, formaggi molli e gelati. Ciò si ricollega alla capacità di questo microrganismo di sopravvivere e moltiplicarsi a basse temperature, e all'habitat in cui si trova, ovvero ambiente e intestino di animali. I cibi cotti raramente sono causa di tale patologia, infatti le alte temperature uccidono *Listeria monocytogenes*; in questo caso si parla di inadeguata cottura per mancato raggiungimento di 70°C in tutte le parti del prodotto o di contaminazione post processo, dovuta ad esempio per contatto con cibi crudi o utensili mal sanificati.

La listeriosi umana presenta tassi di mortalità che possono arrivare fino al 30-40% dei soggetti colpiti, valore che supera quello di altri agenti di malattia alimentare come *Salmonella spp.* e che si avvicina a quelli di *Clostridium botulinum* (i cui tassi di mortalità possono andare dal 20-30% fino al 70-80% delle persone colpite). A differenza del botulismo, però, la listeriosi è una malattia alimentare piuttosto frequente: si stima che la sua incidenza tra la popolazione sia di circa 0,7-1 caso/100.000 abitanti se si prendono in considerazione le persone in normali condizioni di salute (soggetti immunocompetenti). Tuttavia, la probabilità di contrarre l'infezione dagli alimenti è tre volte maggiore per le persone con più di 70 anni di età e sale a oltre 17 volte per le donne in gravidanza e i soggetti con compromissione delle difese immunitarie.

La listeriosi, oltre che per via alimentare, può essere contratta dall'uomo anche per via diretta: per contatto con animali infetti o materiali da essi derivati, per infezione crociata durante il periodo neonatale in ospedale, e per infezione da parto del personale ostetrico che assiste la partoriente, dal momento che il liquido amniotico e il canale del parto possono contenere a volte cariche elevatissime del batterio. Nel primo e nel terzo caso la listeriosi assume i connotati di una "malattia professionale", cui possono essere esposte persone che lavorano in determinate categorie a rischio, quali medici, veterinari e personale infermieristico. Queste forme di listeriosi, tuttavia, rivestono un'importanza relativa, visto che la grande maggioranza degli episodi infettivi che si registrano ogni anno è da attribuire al consumo di alimenti contaminati.

3.0 MECCANISMI PATOGENETICI DI LISTERIA MONOCYTOGENES

L. monocytogenes può penetrare e sopravvivere non soltanto nelle cellule deputate alla distruzione dei batteri, i macrofagi, ma anche in altri tipi di cellule, ovvero cellule epiteliali, cellule endoteliali ed epatociti, comportandosi come dei parassiti intracellulari facoltativi. Una volta penetrata all'interno di una singola cellula, *L. monocytogenes* va incontro a un ciclo intracellulare del tutto specifico, che le permette di invadere l'ospite senza mai venire in contatto con gli anticorpi che scorrono nel sangue e nella linfa, al di fuori delle cellule. Questo meccanismo è reso possibile da fattori di invasività propri di *Listeria monocytogenes*, ovvero:

- le internatine che inducono la membrana cellulare ospite a fagocitare il batterio;
- le due fosfolipasi, PlcA e PlcB, grazie alle quali il germe, lisa la parete del fagosoma e si rende libero nel citoplasma;

- la proteina ActA: un ammasso di filamenti di actina si dispone ad un polo della cellula batterica, e spinge il batterio contro la membrana della cellula ospite, che si estroflette mentre la membrana della seconda cellula si introflette. Quando il ponte di citoplasma s'interrompe, *L. monocytogenes* viene a trovarsi di nuovo libera nel citoplasma di un'altra cellula e il ciclo riprende.

Il batterio può, così, diffondere nell'organismo passando da una cellula all'altra senza venire in contatto con i liquidi organici e quindi sfuggendo alle difese anticorpali del soggetto.

4.0 LISTERIA E ANTIBIOTICO RESISTENZA

L'evoluzione dei batteri verso la resistenza è stata notevolmente accelerata dalla pressione selettiva esercitata dai farmaci in ambito clinico e il loro utilizzo pesante come promotori della crescita degli animali da allevamento. Poiché i batteri hanno la straordinaria capacità di sviluppare resistenza ad ogni antibiotico, possiamo anticipare che anche le specie batteriche come listeria, che sono ancora considerati sensibili a quasi tutti gli antibiotici, si evolveranno verso la multiresistenza.

Nonostante la bassa incidenza di ceppi di *Listeria spp.* resistenti ad antibiotici, sono stati riportati in alcuni studi dati inerenti l'isolamento di *Listeria monocytogenes* resistente alla tetraciclina ed altri chemioterapici; si ipotizza che l'acquisizione di tale capacità sia dovuta alla presenza di un plasmide originario di enterococchi, batteri che la letteratura indica come resistenti ad un'ampia varietà di antibiotici.

La tetraciclina, come altre molecole, è stata ampiamente utilizzata in zootecnia per la cura degli animali, e ciò a indubbiamente favorito la comparsa di *Listeria* tetraciclina-resistente.

La comparsa di fenomeni di multiresistenza in *Listeria monocytogenes* rappresenterebbe un grave problema a livello terapeutico, che renderebbe difficoltosa la cura di infezioni causate da questo microrganismo.

5.0 BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

1. A. Morvan, C. Moubareck, A. Leclercq, M. Hervé-Bazin, S. Bremont, M. Lecuit, P. Courvalin and A. Le Monnier. Antimicrobial Resistance of *Listeria monocytogenes* Strains Isolated from Humans in France.
2. Emmanuelle Charpentier, Patrice Courvalin. Antimicrob Agents Chemother, Sep 1999; 43(9): 2103–2108. Antibiotic resistance in *Listeria* spp.
3. G A Dabiri, J M Sanger, D A Portnoy, and F S Southwick. Proc Natl Acad Sci U S A. Aug 1990; 87(16): 6068–6072. *Listeria monocytogenes* moves rapidly through the host-cell cytoplasm by inducing directional actin assembly.
4. Giorgio Gilli. Professione igienista. Manuale dell'igiene ambientale e territoriale, Casa editrice
5. ambrosiana, 2010. Lo Nostro Antonella, malattie trasmesse da alimenti pp 336-375.
6. Tanja Rožman, Barbara Jeršek, 2009. Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) against different species of *Listeria*. Acta agriculturae Slovenica, 93-1, maj 2009.
7. http://www.auslcesena.emr.it/Portals/0/Documenti/Dip%20Sanit%C3%A0%20Pubblica/Alimenti%20e%20nutrizione/Sicurezza%20alimentare/AN07_scheda%20Listeria.pdf
8. <http://www.cdc.gov/listeria/>
9. <http://www.efsa.europa.eu/it/topics/topic/listeria.htm>
10. <http://www.epicentro.iss.it/problemi/listeria/listeria.asp>
11. <http://www.foodsafety.gov/poisoning/causes/bacteriaviruses/listeria/>
12. <http://www.foodsafetywatch.org/factsheets/listeria/>
13. <http://www.listeria.it/>
14. <http://www.medscape.com/viewarticle/772643>
15. <http://www.micreosfoodsafety.com/en/listex-listeria.aspx>
16. http://visualsunlimited.photoshelter.com/search?I_DSC=listeria+monocytogenes&I_DSC_AND=t&_ACT=search
17. José A. Vázquez-Boland, Michael Kuhn, Patrick Berche, Trinad Chakraborty, Gustavo Domínguez-Bernal, Werner Goebel, Bruno González-Zorn, Jürgen Wehland, and Jürgen Kreft. Clin Microbiol Rev. Jul 2001; 14(3): 584–640. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants.