

Valutazione del rischio Listeriosi in gravidanza con particolare attenzione alla situazione in Piemonte

B. Griglio¹, G. Sattanino¹, R. Goi¹, V. Marotta², L. Pezzoli², L. Massari², C. Musella², M.P. Ghiotti³

¹ Centro Interdipartimentale di Ricerca e documentazione sulla Sicurezza Alimentare (CeIRSA), ARESS/ASL 8 (TO)

² Coordinamento dei Dipartimenti materno-infantili - Regione Piemonte

Introduzione

L'analisi del rischio è il metodo individuato dalla comunità scientifica internazionale per identificare i potenziali effetti sulla salute pubblica da parte dei microrganismi patogeni che contaminano gli alimenti (*risk assessment*) e consentire di formulare delle ipotesi per la gestione dei problemi (*risk management*).

La determinazione del rapporto dose-risposta è spesso considerata l'elemento chiave per la caratterizzazione del rischio, tuttavia i dati forniti dalla letteratura sono molto variabili e spesso non sufficienti. L'utilizzo di dati epidemiologici su tassi di incidenza, sulle tipologie di alimenti coinvolti, sui casi clinici correlati al consumo di determinati prodotti alimentari, potrebbe fornire dati complementari utili per la suddetta valutazione.

Sebbene negli ultimi anni le conoscenze sull'epidemiologia, sulla patogenesi, sulle condizioni di sviluppo e moltiplicazione di *Listeria m.* si siano notevolmente ampliate, tale patogeno rimane fonte di notevole preoccupazione per la gravità di effetti che esso determina sulla salute dell'uomo soprattutto se immunocompromesso (donne gravide, anziani, bambini etc.) ed i problemi gestionali che determina nell'industria alimentare.

Presso l'ASL 8 di Chieri, nell'ambito di un progetto multidisciplinare sulla sicurezza alimentare, sono state effettuate indagini, mediante la tecnica dei *focus group*, sulla percezione del rischio legato agli alimenti in donne in gravidanza. Dagli incontri è emerso che la donna gravida non ha alcuna percezione del rischio listeriosi.

Un sondaggio presso l'ospedale S. Anna di Torino e presso i dipartimenti materno-infantili ha permesso di confermare l'assenza di protocolli di informazione per il rischio listeriosi in gravidanza anche in relazione al ridotto numero di casi riconosciuti e diagnosticati presso tali strutture.

Esiste di conseguenza la difficoltà da parte di ginecologi ed ostetriche nel fornire indicazioni omogenee basate su evidenze scientifiche.

Materiali e metodi

Al fine di ottenere dati oggettivi per realizzare un protocollo informativo sul rischio listeriosi sono stati messi a confronto i dati presenti in letteratura circa le positività riscontrate in diverse categorie di alimenti ed i dati relativi ai focolai epidemici.

Per dare supporto ai dati bibliografici analizzati e per consentire uno scambio di informazioni tra i differenti *stakeholder* si è ritenuto opportuno realizzare un sondaggio tra esperti selezionati (ginecologi, esperti in sicurezza alimentare, psicologi, nutrizionisti) mediante

il Metodo Delphi, che consente, tramite la somministrazione ripetuta di questionari in cui vengono forniti alcuni elementi bibliografici, di creare un dibattito "virtuale", intorno all'oggetto della ricerca.

Risultati

Dai dati bibliografici raccolti emerge che gli episodi infettivi legati a tale microrganismo risultano prioritariamente causati da prodotti lattiero-caseari o carni, ma la malattia è stata anche riscontrata in seguito a consumo di prodotti della pesca conservati come cozze affumicate e pesce affumicato a freddo (trota).

Rilevamento di *Listeria* nei prodotti lattiero-caseari ed episodi infettivi legati al microrganismo

I prodotti lattiero-caseari a maggior rischio sembrano essere il latte crudo, i prodotti a base di latte crudo, i formaggi molli e i formaggi freschi. Casi di positività al patogeno, tuttavia, sono stati riscontrati in formaggi prodotti a partire da latte pastorizzato, probabilmente per fenomeni di ricontaminazione durante le fasi di produzione e manipolazioni successive alla pastorizzazione (Hof H, 2003; Sanaa M., 1996; Schuchat et al. 1992). Una contaminazione successiva al processo di pastorizzazione del burro è stata associata ad un episodio clinico manifestatosi in Finlandia (Lyytikäinen et al., 2000). Nel 1983 un episodio clinico in Massachusetts è stato epidemiologicamente correlato al latte pastorizzato, suggerendo l'ipotesi che *Listeria monocytogenes* possa sopravvivere ai processi di pastorizzazione (Fleming et al., 1985); tuttavia Ryser (1999) ha sollevato dubbi su questa conclusione citando studi che dimostrano che *Listeria* non è in grado di sopravvivere alla pastorizzazione.

L'isolamento di *Listeria* in tali prodotti è ampiamente confermato dalla letteratura (Hof H. 2003; Gianfranceschi M et al., 2003; Kozak J et al. 1996; Loncarevic S. et al, 1998; Norrung B., et al; Pak S., et al; Vitas AI, et al., 2004; Gombas DE, et al., 1994).

In un'indagine condotta in Svezia su 333 campioni provenienti da formaggi molli e semimolli (formaggi a muffa bianca, formaggi a muffa verde-blu, formaggi a muffa bianca-verde blu, formaggi spalmabili, spalmabili senza muffa), *Listeria monocytogenes* è stata isolata nel 6% dei campioni. I formaggi a latte crudo sono risultati contaminati con percentuali maggiori (42%) rispetto ai prodotti a base di latte sottoposti a trattamento termico (2%), ed i livelli del patogeno sono risultati compresi tra 1×10^2 ufc/g e 1×10^5 ufc/g. Maggiori quantitativi di *L. monocytogenes* sono stati invece riscontrati nei formaggi spalmabili (range 1×10^3 - 1×10^5 ufc/g) (Loncarevic S. et al., 1995).

Una notevole incidenza del patogeno (17,4%) si è riscontrata nei prodotti lattiero-caseari in un ulteriore studio condotto in Italia tra il 1990 e il 1999 su 4185 campioni prelevati da diverse tipologie di alimenti (Gianfranceschi *et al.*, 2003). Risultati più contenuti, invece, emergono da un'indagine condotta su campioni di latte crudo, dove le positività risultano del 3-4%, con livelli del patogeno piuttosto limitati (<10 ufc/ml). Dal medesimo studio si rileva che la contaminazione riguarda anche i prodotti finiti refrigerati: su 29 campioni si sono riscontrate positività del 27% sui dessert, 38% sui gelati, 14% sul latte e 21% sul cioccolato. Le quantità, tuttavia, risultano basse anche in questo caso (meno di 15 ufc/g). Notevole importanza secondo gli autori, considerata l'azione della pastorizzazione sul microorganismo, riveste il ruolo delle cross-contaminazioni di origine ambientale (Kozak J., *et al.*). (La contaminazione crociata, inoltre, viene riproposta da *Loncarevic* come fattore influente sui diversi sierotipi di *L. monocytogenes* isolati da formaggi molli e semimolli.)

Una ulteriore indagine, condotta in Belgio, ha evidenziato positività del 46,7% su 15 campioni provenienti da formaggi a latte crudo e contaminazioni pari al 54,5% su 11 campioni di formaggi a latte pastorizzato (Els Van Coillie *et al.*, 2004).

Pak et al. (2002), in uno studio condotto in Svizzera, mettono in rilievo come su 76271 campioni di prodotti lattiero caseari, 3722 (4,9%) siano risultati positivi per

Listeria monocytogenes, e come forti positività siano state rilevate nell'acqua di lavaggio dei formaggi (9,5%) e nell'ambiente (5%).

Interessante risulta un'indagine condotta in Danimarca (Norrung *et al.*, 1999) dove su 37 campioni analizzati nel '97 e 36 campioni valutati nel '98 si sono riscontrate rispettivamente positività del 62,2% e 100% con valori di *Listeria m.* <10 ufc/g, e del 37,8% e 0,0% con valori compresi tra 10-100 ufc/g.

Recenti studi condotti in Spagna, eseguiti su un totale di 3685 campioni di diversi alimenti, tra cui 641 prodotti lattiero-caseari, hanno evidenziato, anche in questo caso, la presenza del patogeno. Le positività hanno riguardato il latte di vacca (6,8%), il latte di pecora (3%), i formaggi molli (1%) (Vitas A.I., 2003).

Altri autori rilevano invece una contaminazione dei formaggi molli del 5% (Akpolat N.O *et al.*, 2004).

Prevalenze leggermente superiori (10%) sono state riscontrate nelle determinazioni effettuate dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna sulle croste del gorgonzola DOP, dove la concentrazione del patogeno è risultata compresa in un range di $2,92 \times 10^2$ e $9,04 \times 10^5$ ufc/g (Daminelli P. *et al.*, 2004). L'esistenza di un pericolo di contaminazione da parte di *Listeria monocytogenes* sulle croste di Gorgonzola viene ribadito da Carminati D. *et al.* (2004) in una ricerca condotta dall'Università di Parma in collaborazione con l'Istituto Sperimentale Lattiero Caseario di Lodi.

TABELLA 1. LISTERIA: POSITIVITÀ RISCOSETRATE NEI PRODOTTI LATTIERO - CASEARI

CATEGORIE DI ALIMENTI	Tipologia di formaggi contaminati	N° campioni analizzati	N° di campioni positivi	Positività (%)	Livelli di microorganismo riscontrati (ufc/g)
FORMAGGI	Formaggi a latte crudo (Loncarevic S. <i>et al.</i> , 1995)	333	13	5	Da 1×10^2 a 1×10^5
	Formaggi a latte pastorizzato (Loncarevic S. <i>et al.</i> , 1995)		7	0,14	
	Formaggi spalmabili			—	
	Formaggi a latte crudo (Els Van Coillie <i>et al.</i> , 2004)	15	7	46,7	ND
	Formaggi a latte pastorizzato (Els Van Coillie <i>et al.</i> , 2004)	11	6	54,5	ND
	Formaggi molli (Akpolat N.O. <i>et al.</i> , 2004)	120	6	5	ND
	Formaggi molli (Vitas A.I. <i>et al.</i> , 2004)	99	1	1	ND
	Gorgonzola			10	Da $2,92 \times 10^2$ a $9,04 \times 10^5$
LATTE	Latte crudo di vacca (Vitas A.I. <i>et al.</i> , 2004)	340	23	6,8	ND
	Latte crudo di pecora (Vitas A.I. <i>et al.</i> , 2004)	202	6	3	ND
	Latte crudo (Kozak J. <i>et al.</i> , 1996)	9837	342	3-4	<10
	Latte fresco refrigerato (Kozak J. <i>et al.</i> , 1996)	29	4	14	<15
Cioccolato (Kozak J. <i>et al.</i> , 1996)	6		21		
Dessert refrigerati (Kozak J. <i>et al.</i> , 1996)	8		27		
PROD. LATTIERO-CASEARI (non specificati)	Gelati (Kozak J. <i>et al.</i> , 1996)	11	38		
PROD. LATTIERO-CASEARI (non specificati)	<i>Pak S. et al.</i> , 2002	76271	3722	4,9	ND
	<i>Norrung B. et al.</i> , 1999	37 (1997)	23	62,2	<10
			14	37,8	Tra 10 e 100
			36 (1998)	36	100
	<i>Gianfranceschi M. et al.</i> , 2003	505	88	17,4	ND
Regione Piemonte, 2002-2003	883	40	4,58	ND	

I dati raccolti dalla Regione Piemonte nel 2002 e nel primo semestre del 2003, sono in accordo con la letteratura. Su un totale di 833 campioni di prodotti lattiero caseari 40 risultavano positivi (4,58%), mentre positività maggiori sono state riscontrate in pesci, crostacei, molluschi e preparazioni a base di pesce (12,79%), in altre preparazioni alimentari (12,68%), e in percentuale minore (9,74%) anche nella carne, prodotti a base di carne, cacciagione e pollame.

L'incidenza di *Listeria monocytogenes* in tali tipologie di prodotti ha destato non poche preoccupazioni nel mondo scientifico. Infatti, come mettono in evidenza alcuni autori (*Vitas A.I. et al., 2003*), anche livelli di *Listeria* molto contenuti potrebbero, nei prodotti a pronto consumo, rappresentare un serio rischio per le rapide moltiplicazioni che possono verificarsi in fase di conservazione.

La diffusa positività osservata nei prodotti lattiero-caseari trova riscontro nei numerosi casi di listeriosi con alta morbilità e mortalità rilevabili dalla bibliografia.

Sindromi cliniche causate da *Listeria monocytogenes* si manifestano soprattutto in soggetti immunocompromessi, donne in gravidanza, neonati ed anziani, con gastroenteriti febbrili, meningiti e sepsi neonatale, polmoniti, endocarditi, epatiti, ascessi, osteomieliti, artriti settiche, aborti e nascite premature (*Schelech W.F., 2000*). La patologia è spesso associata ad alti livelli di mortalità (20-30%) (*Cantoni C., 1998*).

Analizzando i casi di listeriosi verificatisi nell'ultimo ventennio, in diversi paesi del mondo, emerge una situazione tutt'altro che rassicurante. I formaggi molli sono stati identificati come diretti responsabili di 57 casi in Svizzera (1983-84) col 35% di mortalità; il formaggio di tipo "messicano" (tipologia di formaggio molle) è stato responsabile di 142 casi clinici negli Stati Uniti occidentali (1983) con una mortalità del 34% (*Van Collie et al., 2004*).

I formaggi molli risultano ancora i responsabili di 122 casi clinici in Svizzera (*Bille, 1990; Bula et al., 1995*) col 53,3% di mortalità e di 33 casi in Francia con mortalità leggermente inferiore (45%) (*Goulet et al., 1995; Jacquet et al., 1995*). Sono invece 23 i casi registrati in Dani-

marca tra l'89 e il '90 dovuti a porzioni di formaggio semimolle (*Jensen, 1994*).

Negli stessi anni, un'analisi condotta negli Stati Uniti sul rischio di listeriosi legata al consumo di alimenti ha registrato 1850 casi annuali di malattia (con 425 morti) messi in correlazione all'ingestione di formaggi di tipo "messicano".

Altri 11 casi, con una rilevante percentuale di mortalità, vengono registrati in Inghilterra nell'81 in seguito al consumo di vari formaggi (*Ryser, 1999*), e due anni dopo nello stesso paese vengono segnalati ben 49 casi, con una percentuale di mortalità del 34% correlati al consumo di latte pastorizzato (*Van Collie et al., 2004*). Nel '94 in Illinois sono stati identificati 45 casi clinici connessi al consumo di latte al cioccolato (*Schlech W.F., 2000*); in Finlandia, invece, negli ultimi anni sono stati riscontrati 25 casi per consumo di burro (*Lyytikainen et al., 2000*).

Dalla bibliografia relativa ai **prodotti lattiero-caseari**, emerge la presenza di diverse contaminazioni alimentari, tuttavia, in molti casi, i valori ritrovati sono alquanto contenuti o non riportati nello studio. I formaggi molli spalmabili ed il gorgonzola presentano livelli di contaminazione più elevati. I formaggi prodotti da latte crudo sembrano rappresentare un rischio più elevato sia in considerazione del grado di positività riportato da *Els Van Collie et al. (2004)*, sia per i livelli di contaminazione riscontrati da *Loncarevic S. et al. (1995)*. Si registrano, comunque, casi di contaminazione anche nei prodotti a base di latte pastorizzato.

Come emerge dalla tabella 2, inoltre, il numero maggiore di casi è legato al consumo di formaggio di tipo "messicano" ed ai formaggi molli e semimolli.

Rilevamento di listeria nei prodotti carnei ed episodi infettivi legati al microrganismo

In uno studio condotto in Veneto nel 2003 sono stati valutati i livelli di contaminazione di *Listeria monocytogenes* in insaccati freschi e stagionati prelevati al dettaglio dalla grande distribuzione, dalle macellerie e dalle salumerie del territorio, al fine di stabilire il li-

TABELLA 2. LISTERIOSI: CASI CLINICI E FORMAGGI IMPLICATI

Anno	Casi clinici	Mortalità in seguito a malattia (%)	Formaggi "implicati"	Fonte
1981	Inghilterra: 11	45,5	Vari	Ryser (1999)
1983	Inghilterra: 49	34	Latte pastorizzato	Van Collie et al. (2004)
1983-84	Svizzera: 57	32	Formaggio molle	Van Collie et al. (2004)
1983-87	Svizzera: 122	53,3	Formaggio molle	Bille (1990); Bula et al. (1995)
1985	Stati Uniti: 142	34	Formaggio di tipo "messicano"	Van Collie et al. (2004)
1988-90	Stati Uniti: 1890	425 (casi)	Formaggio tipo "messicano"	Elliot et al. (2000)
1989-90	Danimarca: 23	0	Formaggio semi-molle (blu)	Jensen (1994)
1994	Illinois: 45	—	Latte al cioccolato	Van Collie et al. (2004)
1995	Francia: 33	45	Formaggi molli ripieni (Brie, Camembert, Feta, Mozzarella)	Goulet et al. (1995); Jacquet et al. (1995)
1997	Francia: 14	0	Formaggio molle	Ryser (1999)
1998-99	Finlandia: 25	0	Burro	Lyytikainen et al., 2000

vello di esposizione del consumatore a questo patogeno emergente. Su 325 campioni di insaccati freschi e 250 stagionati si è riscontrata una percentuale di positività del 40,3% negli insaccati freschi (salsicce e salami da griglia), e del 15,4% in quelli stagionati pronti al consumo. Le quantità riscontrate negli insaccati stagionati sono risultate tuttavia alquanto contenute (< 10 ufc/g) (Mioni R. et al., 2004).

Una ricerca condotta in Italia, tra il 1990 e il 1999 su 1777 campioni, ha rilevato un'incidenza di *Listeria monocytogenes* nella carne e nei prodotti a base di carne del 17,3% (306 campioni positivi): le positività più rilevanti sono state quelle della carne cruda (239 campioni positivi) e in minor misura quelle ritrovate nei salami (Gianfranceschi M. et al., 2003).

Anche Norrung B. et al. (1999), in un'analisi effettuata nel 1997 e nel 1998 in Danimarca su circa 15000 campioni appartenenti a diverse categorie alimentari, hanno evidenziato positività marcate nei prodotti carnei. Sono stati presi in esame 3180 campioni nel '97 e 3629 campioni nel '98 di prodotti a base di carne trattati termicamente e manipolati dopo il trattamento e 132 campioni nel '97 e 225 nel '98 di prodotti conservati non trattati termicamente; per i prodotti a base di carne sottoposti a trattamento termico sono emerse rispettivamente positività del 92,2% (nel '97) e dell'89,9% (nel '98) con livelli accettabili del microrganismo (<10 ufc/g); il 7,6% ('97) ed il 9,6% ('98) dei campioni ha presentato livelli di *Listeria m.* tra 10 e 100 ufc/g, mentre solamente lo 0,2% e lo 0,5% dei campioni ha riportato livelli inaccettabili (>100 ufc/g). Anche per i prodotti a base di carne conservati le positività sono state rilevanti ed una percentuale maggiore di campioni (0,8% nel '97 e 1,8% nel '98) ha mostrato livelli del patogeno superiori ai 100 ufc/g.

Nel medesimo studio emerge che nell'intervallo di tempo tra il '94 ed il '95, su 328 campioni analizzati, i prodotti a base di carne conservati contenevano un'alta incidenza del patogeno (23,5%): l'1,8% dei prodotti presentava valori superiori ai 10 ufc/g (tra 10 e 100) ma solo lo 0,6% superava i 100 ufc/g. I prodotti a base di carne trattati termicamente (tot 772 campioni) sono risultati meno contaminati (5%) ma l'1,4% superava i 100 ufc/g. Nella carne cruda, invece, si sono riscontrate le maggiori positività: su 343 campioni analizzati 106 contenevano *Listeria monocytogenes* in 25 g di prodotto (30,9%) con livelli di positività superiori a 100 ufc/g nel 3,65% dei campioni, e valori compresi tra 10 e 100 cfu/g in 30 campioni (8,7%).

Risultati simili sono stati riscontrati da Vitas A.I. et al. (2004) che, nell'analisi condotta su 1195 campioni di prodotti carnei, sia crudi che trattati, provenienti da diverse industrie spagnole negli ultimi quattro anni, hanno messo in evidenza l'esistenza di una contaminazione rilevante di *Listeria m.* nel pollo crudo (36,1%) e nella carne cruda (34,9%). Valori più contenuti si evidenziano invece nei prodotti cotti e conservati (8,8% e 6,7%).

Gli esiti del campionamento effettuato a Ravenna nel 2003 su prodotti a base di carne freschi e stagionati

prelevati al dettaglio, hanno confermato ulteriormente i dati riportati dagli altri autori.

Anche in questo caso, infatti, si sono ritrovate forti percentuali di positività (58,88%) nelle preparazioni gastronomiche da consumarsi previa cottura (hamburger di pollo, di suino, salsicce fresche) e le carni fresche di pollo e tacchino (34,78%) e di suino (30,6%) sono risultate le più contaminate (Marzadori F., 2004).

Positività considerevoli (127 su 441 campioni) emergono inoltre dai dati riportati da Pinner et al., (1992) ottenuti mediante campionamento di diversi prodotti carnei raccolti dai frigoriferi di alcuni pazienti che avevano manifestato episodi di listeriosi.

Interessanti risultano i dati riportati da Van Collie E. et al. (2004) dove il 14,3 percento dei prodotti carnei è risultato positivo a *Listeria monocytogenes* (11 campioni positivi su 77) con elevati livelli di contaminazione (3×10^2 ufc/g) riscontrati nelle preparazioni di carne trita.

Le positività registrate in uno studio condotto in Turchia risultano invece più contenute. Le carni trite di vitello hanno presentato il 5% di contaminazione (3 campioni positivi su 60 analizzati), mentre anche in questo caso, positività più elevate sono emerse dall'analisi delle carni di pollo (18 positivi su 100 campioni) (Akpolat NO. et al., 2004).

I dati raccolti dalla Regione Piemonte nel 2002 e nel primo semestre del 2003 hanno evidenziato sulla carne, i prodotti a base di carne, sulla cacciagione e sul pollame una contaminazione complessivamente limitata (9,74%).

I risultati ottenuti in un piano di sorveglianza nazionale condotto su salami cacciatori italiani nel periodo 2002-2003 sono tutt'altro che rassicuranti. Su 1020 campioni prelevati alla fine del ciclo produttivo e prima della commercializzazione *Listeria monocytogenes* è risultata presente nel 22,7% dei campioni (230 positivi su 1020) pur se con contenuti livelli di contaminazione (<10 ufc).

ECONORMA S.r.l.s.
Monitoraggio e
Telecontrollo della
TEMPERATURA
UMIDITA' RELATIVA

serie FT-105/RF

**VIA RADIO
SENZA FILI**

ECONORMA S.r.l.s.
31020 SAN VENDEMIANO - TV
Via Olivera 52 Tel. 0438.409049 Fax 0438.409036
info@econorma.com www.econorma.com

Sebbene i livelli di contaminazione non siano elevati, gli autori sottolineano come i prodotti analizzati siano da considerarsi comunque non regolamentari e potenzialmente pericolosi per la salute: la normativa italiana, europea ed extraeuropea infatti non stabilisce limiti di tolleranza per i prodotti a pronto consumo in cui *Listeria monocytogenes* deve risultare assente in 25 g di prodotto (Fiore A. et al., 2004).

Considerazioni analoghe vengono riportate da Garzaroli C. et al. (1993) in seguito ad un'indagine condotta su 77 campioni di salami italiani a breve stagionatura, in cui, sebbene con livelli non elevati (<100 ufc/g), il 28% dei campioni è risultato positivo a *Listeria monocytogenes*.

Il principio di cautela assunto da molti autori nei confronti di determinate tipologie di prodotti carnei (carne cruda soprattutto pollo e tacchino, paté di carne, hot dog) positivi a *Listeria m.* anche se con quantità contenute nasce dal maggior coinvolgimento, insieme ai prodotti lattiero-caseari, di questi alimenti nella trasmissione di listeriosi umana (Braden C., 2003; Hof H., 2003).

Schlech W.F. (2000) mette in evidenza come nel periodo compreso tra il '98 e il '99 si siano registrati 101 casi di listeriosi negli Stati Uniti, con una mortalità del 21% (12% di casi perinatali), legati al consumo di hot dog e prodotti a base di carne spalmabile, e come solamente nel '99 il consumo di lingua di maiale in Francia abbia causato il 31% di mortalità su 32 casi di malattia. La carne spalmabile ed i paté di carne sono stati inoltre responsabili di 355 casi in Inghilterra (26,5% di mortalità) tra l'87 e l'89 (McLaughlin et al., 1991) e 11 casi, tutti neonati, in Australia nel 1990 (54,5% di mortalità) (Ryser, 1989).

In Francia, invece, nel 1992 vengono registrati 280 casi di listeriosi (22,5% di mortalità) collegati al consumo di lingua di maiale in gelatina (Jacquet et al., 1995) e tra il '99 e il 2000 26 casi clinici legati all'ingestione dello stesso alimento (Dorozynski, 2000).

Molto più allarmanti sono i dati rilevati negli Stati Uniti dove tra il 1986 e il 1987 si sono registrati ben 1600 casi di listeriosi, con un numero altrettanto considerevole di morti (400) associati al consumo di hot dog e pollo crudo (Elliot E.L. et al., 2000).

Sempre negli Stati Uniti vengono registrati 29 casi clinici nel 2000, con una mortalità del 24,1%, legati al consumo di carne turca "deli" (CDC, 2000) e 63 casi nel 2002 (11,1% di mortalità) legati al consumo dello stesso alimento (CDC, 2002).

Altro caso di infezione (manifestatosi con una forma febbrile di gastroenterite acuta) si è riscontrato a Los Angeles nel corso di un ricevimento: le indagini condotte dal dipartimento di sanità pubblica hanno attribuito l'episodio al consumo di tacchino precotto e affettato da parte dei soggetti colpiti (Frye D.M., 2002).

Per quanto riguarda i **prodotti carnei** le Tabelle 3 e 4 mostrano i risultati ottenuti da un primo tentativo di valutazione e correlazione dei dati.

Il tasso di positività per *Listeria monocytogenes* riscontrato nei diversi prodotti carnei risulta il seguente:

- Insaccati: 20% (parziali)

- Prodotti carnei crudi: 30% (parziali)
- Prodotti carnei cotti: 86,36
- Prodotti carnei conservati (salati e affumicati): 44,37
- Prodotti carnei non specificati: 26,7

L'analisi dei dati rivela una diffusa contaminazione di tali prodotti: le positività maggiori riguardano i prodotti carnei cotti e in minor misura i prodotti conservati; in ambedue le categorie citate si sono registrati due casi in cui i valori del microrganismo sono risultati superiori a 100 ufc/g. Considerate le modalità di consumo di tali alimenti, tali positività probabilmente riconducibili ad una forma di contaminazione post-processo (per contatto delle carni con superfici ed ambienti non adeguatamente deterse e sanificate), sono quelle che destano le maggiori preoccupazioni.

Le positività osservate nei prodotti crudi, legate ad un inquinamento delle materie prime, suscitano in generale un minore timore per la trasmissione di listeriosi, considerato il trattamento termico che subiscono prima del consumo.

Rilevamento di listeria nei prodotti ittici ed episodi infettivi legati al microrganismo

Recenti dati statunitensi hanno mostrato che 4-5% dei campioni di pesce affumicato erano positivi per *L. monocytogenes* (Gombas et al., 2003). Uno studio danese (Jørgensen e Huss, 1998) ha indicato una grande variazione da stabilimento a stabilimento nel tasso di contaminazione, infatti in alcuni stabilimenti tutti i campioni erano positivi mentre in altri stabilimenti *Listeria* non venne trovata. *L. monocytogenes* si assesta a livelli <10 ufc L. m./g, ma sporadicamente viene isolata a livelli superiori (Gombas et al., 2003; Jørgensen e Huss, 1998). Nel recente studio di Gombas et al., 2003, il pesce affumicato era l'unico prodotto i cui campioni contenessero livelli di *L. monocytogenes* tra i 10⁴ e 10⁶ ufc/g.

L. monocytogenes può crescere in salmone affumicato a freddo, impacchettato sotto vuoto e conservato a temperature di frigo (4-5°C). Alcuni trials (su confezioni inoculate artificialmente) riportano diversi incrementi logaritmici in 3-4 settimane mentre altri studi riferiscono crescite più lente o nessuna crescita (Gram, 2004).

L. monocytogenes è stata isolata da prodotti della pesca freschi, congelati o lavorati, incluso crostacei, molluschi e pesci (Jinneman et al. 1999). Anche se *L. m.* è stata riscontrata nelle cozze fresche (Simon et al., 1996) e affumicate (Hudson et al. 1992), nelle altre specie di molluschi l'incidenza è bassa (Jinneman et al. 1999).

L'organismo è stato trovato in prodotti ready-to-eat come carne di granchio cotta, gamberi, pesci e salmone affumicato a caldo e cozze, salmone e altri pesci affumicati a freddo (Jinneman et al. 1999).

La FDA degli USA ha analizzato prodotti ready to eat nazionali e di importazione e ha rinvenuto *L. m.* in campioni di granchio e in pesce affumicato.

Da luglio 1987 a gennaio 1988 su 98 campioni di granchio cotto proveniente dagli USA 4 (4,1%) sono risultati positivi per *Listeria* e 2 (8,3%) su 24 campioni di granchio importato (Archer, 1998). Tra il 1991 e il 1996

TABELLA 3. LISTERIA: POSITIVITÀ RISCOSETRATE NEI PRODOTTI CARNEI

CATEGORIE DI ALIMENTI	Tipologia di prodotti contaminati	N° campioni analizzati	N° di campioni positivi	Positività (%)	Livelli di microrganismo riscontrati (ufc/g)
INSACCATI	Insaccati freschi (Mioni R et al., 2004)	325	46	40,3	ND
	Insaccati stagionati (Mioni R et al., 2004)	250	38	15,4	<10
	Salame cacciatore italiano (Fiore A. et al., 2004)	1020	230	22,7	<10
	Salame italiano (Garzaroli C. et al., 1993)	77	22	28	<100
	Salami (Gianfranceschi M. et al., 2003)	1777	67	3,8	ND
	TOTALI PARZIALI 1672*		336*	20*	
PRODOTTI CARNEI CRUDI	Carne cruda (Gianfranceschi M. et al., 2003)	343	239	13,4	ND
	Carne cruda (Norrung B. et al., 1999) ('94-'95)		106	30,9	30 camp (8,7%) tra 10 e 100 12 camp (3,6%) > 100
	Carne trita di vitello (Akpolat NO. Et al., 2004)	60	3	5	ND
	Carne di pollo (Akpolat NO. et al.,)	100	18	18	ND
	Pollo crudo (Vitas A.I. et al., 2004)	158	57	36,1	ND
	Carne cruda (Vitas A.I. et al., 2004)	295	103	34,9	ND
	Hamburger di pollo, di tacchino, salsicce fresche (Marzadori F., 2004)	—	—	58,88	ND
	Carne fresca di pollo e tacchino (Marzadori F., 2004)	—	—	34,78	ND
	Carne fresca di suino (Marzadori F., 2004)	—	—	30,6	ND
	TOTALI PARZIALI	956*	287*	30*	
PRODOTTI CARNEI COTTI	Prodotti trattati termicamente (Norrung B. et al., 1999) ('94-'95)	772	45	5	12 camp (1,5%) tra 10 e 100 11 camp (1,4%) > 100
	Prodotti trattati termicamente e manipolati dopo trattamento (Norrung et al., 1999)	3180 ('97)	2932	92,2	<10
			242	7,6	Tra 10 e 100
			6	0,2	>100
	Prodotti trattati termicamente e manipolati dopo trattamento (Norrung et al., 1999)	3629 ('98)	3263	89,9	<10
			348	9,6	Tra 10 e 100
	Carne cotta (Vitas A.I. et al., 2004)	396	35	8,8	ND
TOTALI	7977	6889	86,36		
PRODOTTI CARNEI CONSERVATI (salati e affumicati)	Prodotti conservati non trattati termicamente (Norrung B. et al., 1999) ('94-'95)	328	77	23,5	6 camp (1,8%) tra 10 e 100 2 camp (0,6%) > 100
	Prodotti conservati non trattati termicamente (Norrung et al., 1999)	132 ('97)	113	85,6	< 10
			18	13,6	Tra 10 e 100
			1	0,8	> 100
	Prodotti conservati non trattati termicamente (Norrung et al., 1999)	225 ('98)	188	83,6	< 10
			33	14,7	Tra 10 e 100
	Carne conservata (salata o affumicata) (Vitas A.I. et al., 2004)	345	23	6,7	ND
TOTALI	1030	457	44,37		
PRODOTTI CARNEI NON SPECIFICATI	Campioni prelevati dal frigorifero di pazienti con listeriosi (Pinner et al., 1992)	441	127	29	ND
	Carni varie (Van Collie E. et al., 2004)	77	11	14,3	Preparazioni di carne trita 3 x 10 ²
	Carne, prodotti a base di carne, cacciagione e pollame (Regione Piemonte 2002-2003)	—	—	9,7	ND
	TOTALI	518	138	26,7	

*NB. Per insaccati e prodotti crudi sono stati calcolati totali parziali: sono stati esclusi infatti i 1777 campioni riportati da Gianfranceschi comprendenti sia campioni di carne cruda sia salami e i valori riportati da Marzadori et al. poiché privi del n. di campioni analizzati e del numero di campioni positivi.

TABELLA 4. LISTERIOSI: CASI CLINICI E PRODOTTI CARNEI IMPLICATI

Anno	Casi clinici	Mortalità in seguito a malattia (%)	Prodotti carnei implicati	Fonte
1986-87	Stati Uniti: 1600	25	Hot dog - pollo crudo	Elliot E.L. et al., 2000
1987-89	Inghilterra: 355	26,5	Carne spalmabile e paté di carne	McLaughlin et al., 1991
1990	Australia: 11	54,5	Carne spalmabile e paté di carne	Ryser, 1999
1992	Francia: 280	22,5	Lingua di maiale in gelatina	Jacquet et al., 1995
1998-99	Stati Uniti: 101	21	Hot dog - prodotti a base di carne spalmabile	Schlech W.F., 2002
1999	Francia: 32	31	Lingua di maiale	Schlech W.F., 2002
1999-2000	Francia: 26	0	Lingua di maiale in gelatina	Dorozynski, 2000
2000	Stati Uniti: 29	24,1	Carne "deli" turca	CDC, 2000
2002	Stati Uniti: 63	11,1	Carne "deli" turca	CDC, 2000
2002	Los Angeles: /	/	Tacchino precotto e affettato	Frye D.M., 2002
TOTALE CASI CLINICI ('86-2002)	2497			

si sono analizzati 1886 campioni di granchio trovando 142 campioni positivi per *Listeria* (7,5%) e 1210 campioni di pesce affumicato trovandone 164 positivi (13,6%) (Jinneman et al. 1999).

In Italia tra il 1990 e il 1999 52 campioni di prodotti a base di pesce e 18 di pesce fresco sono stati trovati positivi su 280 analizzati (Gianfranceschi et al. 2003).

72 campioni di salmone affumicato sono stati analizzati per la presenza di *Listeria spp.* e *Listeria monocytogenes*. Al giorno 0 solo un prodotto è risultato positivo per *Listeria monocytogenes*.

Analisi dopo 7, 14 e 28 giorni hanno dato positività per *Listeria sp.* ma in nessun caso essa ha superato i 100 cfu, questo ci porta a pensare che in un periodo di 4 settimane la crescita di *L. m.* sia molto ridotta nel salmone affumicato. (Lappi et al., 2004).

In Danimarca tra il 1994 e il 1995 su 232 campioni di pesce crudo fatti nei negozi al dettaglio 35 sono risultati positivi per *L. m.* in 25 g, 6 con *L. m.* tra i 10 e i 100 ufc/g e 1 con *L. m.* > 100 e su 335 campioni di prodotti della pesca conservati (non trattati con il calore) 35 sono risultati avere *L. m.* su 25 g, 11 con livelli tra i 10 e 100 ufc/g e 6 con livelli superiori a 100 ufc/g. Nel 1997 su 105 campioni di prodotti della pesca conservati (non trattati termicamente) 80 (76,2%) erano al di sotto dei 10 ufc/g, 22 (21%) era tra 10 e 100 e il 3 (2,9%) era > 100 ufc/g. Nel 1998 su 177, 139 (78,5%) erano sotto i 10, 38 (21,5%) erano tra il 10 e il 100, nessuno sopra i 100 (Norrung et al., 1999).

È stata condotta un'indagine per la ricerca di *Listeria* in diversi negozi per la vendita al dettaglio in Belgio: sono stati analizzati 252 alimenti di pronto consumo, soprattutto pesce e prodotti a base di carne. *Listeria* è stata identificata nel 23,4% dei campioni. I livelli più alti sono stati riscontrati nei prodotti a base di carne e nell'halibut affumicato (33,3%). I livelli di contaminazione erano in molti casi inferiori a 10 cfu/g, mentre valori superiori a 100 cfu/g sono stati riscontrati in campioni di salmone affumicato, halibut affumicato e preparazioni a base di carne trita (Van Coillie et al., 2004). In Spagna del nord su 100 campioni di salmone affumicato 28 sono stati trovati positivi per *Listeria monocytogenes* (Vitas et al., 2004).

In Turchia per due anni si sono campionati diversi prodotti di origine animale. Su 70 campioni di pesce congelato 1 (1,4%) è stato trovato positivo per *Listeria monocytogenes* (Akpolat et al., 2004).

Per quanto riguarda i casi umani di listeriosi Elliot et al., 2000 riportano casi registrati dal 1984 al 1997 che possono essere così riassunti: 29 casi (9 fatali) probabilmente dovuti al consumo di molluschi e pesce e crudo (Lennon et al., 1984), 10 dovuti ai gamberi (Riedo et al., 1994), 1 al pesce (Facinelli et al., 1989), 1 al merluzzo affumicato (Rocourt, 1991), 4 alle cozze affumicate importate dalla Nuova Zelanda (Misrachi et al., 1991) (Mitchell, 1991), 4 allo stesso tipo di cozze ma in Australia (Brett et al., 1998) e 9 casi sospetti da trota iridea affumicata a freddo (Ericsson et al., 1997).

I dati sulla contaminazione dei **prodotti della pesca** hanno permesso di stabilire il tasso di positività per *Listeria monocytogenes* nelle diverse tipologie dei prodotti della pesca:

- Prodotti della pesca conservati (tasso di positività riscontrato: 14%)
- Prodotti della pesca crudi (tasso di positività riscontrato: 11,7%)
- Crostacei ready to eat (tasso di positività riscontrato: 7,6%).

In base a tale classificazione i prodotti della pesca conservati (insalata di pesce, prodotti affumicati) sembrano i più rischiosi, anche se, raramente i livelli di contaminazione superano i 100 ufc/g. I pesci affumicati (soprattutto halibut e salmone) (Tabella 5), invece, superano frequentemente le 100 ufc/g.

Per quanto riguarda la registrazione dei casi clinici legati al consumo di alimenti specifici (vedi Tabella 6), gli alimenti più pericolosi sembrano essere il pesce e i molluschi crudi, il pesce affumicato e i molluschi affumicati.

La percezione del rischio

In seguito all'analisi dei questionari Delphi, nella maggior parte dei casi, la percezione dichiarata da coloro che si occupano di medicina clinica (ginecologi, pediatri e medici di base) si è rivelata bassa in re-

TABELLA 5. LISTERIA: POSITIVITÀ RISCONTRATE NEI PRODOTTI ITTICI

CATEGORIE DI ALIMENTI		Numero di campioni	Numero di positivi per L. m.	Livelli di contaminazione	% positivi	
PESCE CRUDO	Fresco (Norrung et al., 1999)	232	33	14,2% (33) positivi in 25 g. 2,6% (6) L.m. tra 10 e 100 ufc/g. 0,5% (1) > 100 ufc/g.	14,2	
	Congelato (Akpolat et al., 2004)	70	1	ND	1,4	
	Filetti di aringa (Van Coillie et al. 2004)	5	0	ND	0	
	TOT.	307	36		11,7	
CROSTACEI READY-TO-EAT	Granchio U.S. 1987/88 (Archer, 1998)	98	4	ND	4,9	
	Granchio non U.S. 1987/88 (Archer, 1998)	24	2	ND	8,3	
	Granchio 1991/96 (Jinneman et al. 1999)	1886	142	ND	7,5	
	Insalata di gamberi (Van Coillie et al. 2004)	5	0	ND	0	
	Insalata di granchio (Van Coillie et al. 2004)	4	4	<10 cfu/g (2x); ND (2x)	100	
	Insalata di imitazione di polpa di granchio (Van Coillie et al. 2004)	12	3	<10 cfu/g (1x); ND (2x)	25	
	TOTALI	2029	155		7,6	
PESCE CONSERVATO	Pesce affumicato (Jinneman et al., 1999)	1210	148	ND	13,6	
	Salmone affumicato (Lappi et al, 2004)	72	1	ND	1,4	
	Pesce conservato non trattato con il calore nel 1994-95 (Norrung et al., 1999)	335	35	10,4% (35) positivi in 25 g. 3,3% (11) L.m. tra 10 e 100 ufc/g. 1,8% (6) > 100 ufc/g.	10,4	
		Pesce conservato non trattato con il calore nel 1997 (Norrung et al., 1999)	105	25	21% (22) L.m. tra 10 e 100 ufc/g. 2,9% (3) > 100 ufc/g.	24
			177	38	TUTTI TRA 10 e 100 ufc/g.	21,5
	Salmone affumicato (Vitas et al 2004)	100	28	ND	28	
	Salmone affumicato (Van Coillie et al. 2004)	42	8	10 CFU/g (1x); <10 cfu/g (1x); 104 CFU/g (1x); ND (5x)	19	
	Insalata di salmone affumicato (Van Coillie et al. 2004)	6	3	<10 cfu/g (3x)	50	
	Trota affumicata (Van Coillie et al. 2004)	15	0	ND	0	
	Spratto (<i>Clupea sprattus</i>) affumicato (Van Coillie et al. 2004)	2	1	ND	50	
	Sgombro affumicato (Van Coillie et al. 2004)	4	2	ND	50	
	Halibut affumicato (Van Coillie et al. 2004)	18	6	5 x 103 CFU/g (1x); 2 x 103 CFU/g (1x); <10 cfu/g (3x); ND (1x)	33	
	Insalata di pesce (Van Coillie et al. 2004)	4	2	<10 cfu/g (2x);	50	
	Insalata di tonno (Van Coillie et al. 2004)	14	4	<10 cfu/g (2x); ND (2x)	29	
	Pesce spalmabile (Van Coillie et al. 2004)	3	0	ND	0	
	TOTALI	2107	301		14	

lazione alle problematiche proposte ed in alcuni casi discordante rispetto agli esperti di sicurezza alimentare. In merito ai formaggi molli e semimolli con muffe poi si evidenziano delle differenti opinioni nella stessa classe dei clinici.

Il problema listeriosi non è inoltre avvertito dalle donne gravide, che risultano avere una percezione pressoché nulla.

Le differenze di valutazione evidenziate nel corso del lavoro tra coloro che si occupano di sicurezza alimentare ed i clinici sono probabilmente il risultato di un differente approccio al problema che vede da una parte i clinici poco preoccupati in relazione al ridotto riscontro nella pratica clinica di casi di listeriosi effettivamente riconosciuti e gli esperti in sicurezza alimentare che si confrontano giornalmente con una realtà di campo che registra positività sempre crescenti in alimenti più vari.

Discussione e Conclusioni

La bibliografia esistente su listeria mette in luce una diffusa contaminazione degli alimenti e rischi sempre maggiori per il consumatore, indotto spesso per motivi di tempo e lavorativi a far sempre più uso di prodotti "ready to eat" a lunga vita commerciale, alimenti in cui listeria trova le migliori condizioni di sviluppo.

Le contaminazioni, evidenziano alcuni autori (Virgilio et al., 2004), sono da collegare alla grande capacità di adattamento del microrganismo e possibilmente anche alla inadeguata applicazione degli strumenti di natura igienica e tecnologica che l'industria alimentare ha attualmente a disposizione per limitarne la presenza a livelli accettabili.

Attraverso i dati statistici in nostro possesso, si rileva

TABELLA 6. LISTERIOSI: CASI CLINICI E PRODOTTI ITTICI

Categoria di alimenti	Numero di campioni	Numero di positivi per L. m.	% positivi	Numero di casi di listeriosi (%mortalità)	Stato
Pesce Crudo	307	36	11,7	29 (31%) (Lennon et al, 1984) pesce crudo e molluschi	NZ
Crostacei Ready-to-Eat	2029	155	7,6	10 (10%) dovuti ai gamberi (Riedo et al., 1994)	USA
Pesce Ready-to- Eat	2207	301	14	1 caso dovuto al merluzzo affumicato (Rocourt, 1991)	Francia
				9 casi dovuti a trota iridea affumicata a freddo (Ericsson et al. 1997)	Svezia
Molluschi Affumicati				4 casi dovuti alle cozze affumicate (Misrachi et al. 1991) (Mitchell, 1991)	Tasmania, Australia
				4 casi dovuti alle cozze affumicate (Brett et al., 1998)	NZ
ALTRO				1 caso dovuto al pesce non specificato (Facinelli et al, 1989)	Italia

TABELLA 7. PERCEZIONE DEI RISCHIO LISTERIOSI LEGATA AD ALCUNI ALIMENTI

Alimenti	stakeholder	N.r	B.r	M.r	A.r
Prodotti ittici affumicati	Donne gravide	x			
	Esperti sicurezza alimentare			x	
	Clinici		x		
	gruppo di lavoro		x		
Prodotti ittici freschi e congelati	Donne gravide	x			
	Esperti sicurezza alimentare	x			
	Clinici	x			
	gruppo di lavoro		x		
Formaggi molli e semimolli con muffe	Donne gravide	x			
	Esperti sicurezza alimentare				x
	Clinici		x	x	x
	gruppo di lavoro				x
Salumi/carni salate (prosciutti crudi, pancette, ecc...) freschi e/o prodotti a livello familiare	Donne gravide	x			
	Esperti sicurezza alimentare		x		
	Clinici		x		
	gruppo di lavoro			x	
Salumi/carni salate (prosciutti crudi, pancette, ecc...) stagionati, DOC, IGP	Donne gravide	x			
	Esperti sicurezza alimentare	x			
	Clinici		x		
	gruppo di lavoro	x			

(N.r=nessun rischio; B.r=basso rischio; M.r=medio rischio; A.r=alto rischio)

che il numero di isolamenti di *L. monocytogenes* da alimenti è in realtà di gran lunga superiore a quello degli episodi di listeriosi che si censiscono ogni anno. Questo rivela probabilmente come gran parte dei casi clinici sfugga al riconoscimento e alla diagnosi. A ciò si aggiunge probabilmente la difficoltà, nei casi conclamati, dell'individuazione dell'alimento responsabile dell'infezione e dell'isolamento del patogeno in esso.

I risultati ottenuti nel corso del lavoro dimostrano la necessità di predisporre e mettere in atto un'adeguata formazione del personale sanitario sulla reale diffusione

del patogeno ed organizzare adeguate campagne informative e di educazione alimentare che vedano una unicità di messaggi da parte delle strutture sanitarie al fine di consentire la diffusione di notizie controllate in grado di ridurre eventuali comportamenti a rischio adottati dalle donne per mancanza di una corretta informazione.

Sarebbe inoltre utile predisporre maggiori controlli batteriologici e clinici che consentano di identificare precocemente gli episodi infettivi ed isolare eventualmente i patogeni dagli alimenti ingeriti.