

YERSINIA ENTEROCOLITICA

Tra i microrganismi capaci di trasmettere gastroenteriti *Yersinia Enterocolitica* va assumendo un interesse crescente.

Nel 1966 vennero descritti, nell'uomo, solo 23 casi di infezione dovute a tale germe; nel 1970 i casi salirono a 642, nel 1972 a più di 1.000, nel 1974 ad oltre 4.000, così come risulta da un bollettino dell'OMS.

Attualmente i casi di gastroenterite da *Yersinia* sono ai primi posti in Danimarca e in Belgio.

L'incremento della casistica è certamente correlato anche allo sviluppo delle conoscenze su tale germe ed al maggior numero di accertamenti condotti per la sua evidenziazione.

Sotto il profilo microbiologico, ricorderemo che la Y.E. appartiene alla famiglia delle Enterobacteriaceae, si presenta sotto forma di cellule ovoidi e coccobacillari, gram - e mobili a temperatura inferiore a 30°C per flagelli peritrichi, priva di capsula e di spora; tale germe anaerobio facoltativo, psicrofilo, può crescere anche a 4°C, cioè ovviamente ha un notevole significato per gli alimenti contaminati e mantenuti in frigorifero; infatti anche un basso numero iniziale di germi è in grado di proliferare fino a raggiungere i livelli di pericolosità senza alterare i caratteri organolettici dell'alimento stesso.

Tale psicrofilia, inoltre viene utilizzata nei procedimenti analitici per l'isolamento del germe dagli alimenti.

Per quanto concerne l'aspetto antigenico, Y. E. possiede un antigene O somatico, di natura lipopolisaccaridica, un antigene H flagellare ed un antigene K capsulare. Sulla base degli antigeni O sono stati classificati circa 60 sierotipi e fra questi sembrano più frequentemente patogeni per l'uomo i seguenti: 0:8; 0:3; 0:9; 0:5,27 che sono spesso ripartiti in diverse aree geografiche nei vari continenti.

Oltre alla Y.E. patogena esistono ceppi della *Yersinia* non patogeni e quindi non associati a forme patologiche umane od animali, pur presentandosi sotto molti aspetti simili alla Y.E. patogena.

I ceppi denominati *Yersinia* simili sono stati oggi classificati da numerosi ricercatori in 7 differenti specie: *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii*, *Y. intermedia*, *Y. aldovae*, *Y. rohdei*, *Y. mollaretii*, *Y. hercovieri*.

Patogenicità sperimentale

E' appurato che i sierotipi 0:3, 0:8, e 0:9 sono patogeni per la specie umana. Il microrganismo penetra nell'ospite essenzialmente per via digerente: le lesioni primarie sono rappresentate infatti da ascessi a carico delle placche di Peyer e da necrosi caseosa dei linfonodi mesenterici.

Secondo Pearson e coll. Y. e. sierotipo 0:8 è il più patogeno nell'ambito della specie essendo capace di provocare la morte del 100% negli animali da esperimento inoculati per via sottocutanea o intraperitoneale. I sierotipi 0:3 e 0:9 invece, meno virulenti, non determinano morte, ma infettano i topini da esperimento ed essi continuano poi per mesi ad eliminare il microrganismo con le feci; per avere effetto patogeno per via speri-

mentale però sono richieste dosi di inoculo assai elevate.

Produzione di tossina

Y.e. produce una tossina termostabile, la cui sintesi è più marcata nei ceppi isolati da casi clinici che non da quelli isolati nell'ambiente. L'enterotossina resiste per 30 minuti a temperatura di 121°C per 7 mesi alla conservazione a + 4°C; risulta stabile in un intervallo di pH compreso tra 1 e 11. E' verosimile quindi che la tossina possa perdurare a lungo nei prodotti alimentari, resistendo anche al pH gastrico; lo stato morboso dell'uomo può quindi essere il risultato dell'assunzione della tossina di Y. e. preformata nell'alimento.

Alcuni autori mettono in dubbio il ruolo di preminenza svolto dall'enterotossina termostabile nella patogenesi dell'infezione umana poichè da episodi clinici sono stati isolati anche ceppi che non sintetizzano la tossina.

Resistenza e moltiplicazione

Una delle sue proprietà più costanti e caratteristiche è l'abilità di svilupparsi a temperature di refrigerazione, anche assai prossime a quelle di congelamento ~~XXXXXX~~ resiste infatti per 90 giorni a - 18°C. Nel latte la pastorizzazione determina sicuramente la morte del germe, il quale non sopravvive che pochi istanti al di sopra di 60°C. Per le carni valgono le stesse condizioni: il riscaldamento fino a + 62°C a cuore del prodotto determina la completa scomparsa dell'agente microbico.

E' sperimentalmente dimostrato che la temperatura di refrigerazione è favorevole alla permanenza e alla moltiplicazione del germe, infatti Hanna e coll. hanno controllato lo sviluppo di Y.e. in carni bovine e suine crude e cotte conservate a temperature comprese tra 0° e 7° C constatando che nel giro di una settimana la carica totale del microrganismo era salita di oltre cinque potenze decimali. Il pH ottimale è compreso entro valori di 6 e 9 tenendo presente che i sierotipi patogeni per l'uomo sono più resistenti di quelli non patogeni nei confronti delle oscillazioni di pH. Si mantiene vitale anche nelle carni confezionate sottovuoto.

Epidemiologia

I sierotipi di Y. e. ritenuti tradizionalmente responsabili di malattie nell'uomo sono lo 0:3; 0:8; 0:5,27 e 0:13. Noble e coll. hanno però isolato anche altri sierotipi di Y.e. da pazienti con enterite acuta, come 0:5; 0:6,30; 0:7,13; 0:46; 0:7,8.

La diffusione di Y.e. fra gli animali può assumere un ruolo importante nella catena epidemiologica della malattia umana.

Il suino in particolare rappresenta una importante riserva di Y.e. e se bene non siano stati documentati casi di malattia nell'uomo correlati al consumo di carni suine, indagini epidemiologiche hanno dimostrato che il suino riveste un ruolo determinante nel rischio di contaminazione ambientale e che una notevole percentuale dei ceppi isolati da questo animale corrisponde a quelli riscontrati nell'uomo nella stessa area geografica. Le modalità di trasmissione dell'affezione non sono ancora del tutto chiarite, è diffusa la convinzione che Y.e. sfrutti gli stessi meccanismi di trasmissione dell'infezione da Salmonella spp e si suppone che ciò avvenga:

- per contagio interumano, attraverso il meccanismo mani - bocca, specialmente in ambito familiare o ospedaliero
- per ingestione di alimenti derivati da animali infetti o contaminati dall'uomo nel corso di varie manipolazioni
- per ingestione di acque inquinate da materiale fecale di uomo o da animali infetti.

Nella maggioranza dei casi l'infezione si instaura per via orale; anche se si è ipotizzata la possibilità di una trasmissione diretta per via aerogena.

La dose infettante minima necessaria a scatenare il processo patologico è compresa entro valori di $4,6 \times 10^4$ a $3,5 \times 10^9$ germi.

Non si hanno dati certi a proposito del periodo di incubazione della malattia, anche se in base ai dati epidemiologici si considera un periodo di tempo compreso tra 2 e 10 giorni.

Si ammette che la yersiniosi umana manifesti una maggiore incidenza stagionale nel periodo autunno-invernale, facendo registrare un calo progressivo in primavera-estate. Dopo l'ingresso attraverso la via orale *Y. e.* migra attraverso lo stomaco ed il piccolo intestino fino alla porzione terminale dell'ileo. I batteri penetrano nella lamina propria della mucosa passando attraverso le cellule epiteliali, si moltiplicano nelle placche di Payer e nei follicoli causando una tipica lesione: ileite terminale. Generalmente l'infezione è limitata a questo distretto, alcune volte i microrganismi raggiungono i linfonodi mesenterici e danno origine a interessamento sistemico.

I principali sintomi clinici sono:

- febbre generalmente sempre presente ($>38^\circ$)
- diarrea caratterizzata da frequenti scariche o feci acquose che a volte appaiono sanguinolente. Questo sintomo è il più importante e frequente ed è causato dal sierotipo 0:3; 0:9; 0:5,27.
- dolore addominale frequente e generalmente lieve, localizzato nel quadrante inferiore destro, costituisce il sintomo più costante e spesso associato con l'infezione del sierotipo 0:8
- nausea
- vomito
- complicazioni: sono rare ma molto gravi esse includono ulcerazioni diffuse del piccolo intestino e del colon, peritonite, perforazione intestinale, megacolon tossico e trombosi delle vene mesenteriche con cancrena del piccolo intestino
- manifestazioni secondarie: sono rappresentate prevalentemente da eritema nodoso ed artropatia reattiva che si manifestano a poche settimane dalla fase acuta.

Molte localizzazioni extraintestinali di *Y. enterocolitica* sono state descritte nella letteratura ma rivestono carattere di eccezionalità.

In contrasto la disseminazione sistemica di *Y. enterocolitica* è ragguardevole a causa della sua gravità e del suo quadro clinico, essa si verifica prevalentemente in anziani o immunodepressi. Nei bambini di età inferiore a 7 anni provoca generalmente enteriti non complicate.

La diagnosi si accerta mediante prove sierologiche come l'agglutinazione o la fissazione del complemento, o isolando il germe dal sangue o materiali patologici vari comprese le feci.

Yersinia enterocolitica negli alimenti

Per quanto concerne l'incidenza della Y.e. negli alimenti, essa è stata ritrovata in vari tipi di carne bovina, ovina, pollame, ma la fonte di infezione maggiore per l'uomo sembra essere il maiale; il sierotipo O:3 che è uno di quelli maggiormente patogeni per l'uomo è stato isolato da suini con notevole frequenza, e l'isolamento si realizza quasi sempre a partire da lingua e tonsille, (in genere y.e. è un normale componente della flora microbica della cavità orale del maiale). La lingua del maiale non dovrebbe comunque rappresentare un pericolo diretto per la salute del consumatore, dal momento che questo tipo di alimento viene consumato per consuetudine ben cotto.

Il rischio di una trasmissione diretta di y.e. all'uomo si può verificare invece con la carne trita che oltre ad essere consumata cruda, è facilmente esposta ad inquinamenti microbici per successive manipolazioni da parte dell'uomo.

In casi sporadici si rinvenivano nelle carni anche i sierotipi O:11, e O:5,27, entrambi patogeni per l'uomo.

Ricordiamo a questo proposito che è importante prevenire la contaminazione durante le varie fasi di macellazione.

Ceppi di y.e. appartenute a sierotipi ambientali sono stati isolati da frutti di mare, da vegetali, da acqua e dal latte sia crudo che pastorizzato (in questo caso per contaminazione successiva alla pastorizzazione); tali ceppi ambientali inoltre si vanno sempre più diffondendo negli alimenti in genere e nei vegetali in particolare, in relazione al crescente impiego anche al livello domestico della refrigerazione.

Prevenzione e controllo

Le misure per la prevenzione e il controllo della malattia non dovrebbero differire, in generale, da quelle della prevenzione e del controllo delle salmonellosi (WHO 1970), che comprendono:

- 1) l'allevamento degli animali da macello privi di germi patogeni specifici
- 2) miglioramento delle misure igieniche durante il trasporto, la macellazione e la lavorazione includendo vari sistemi di decontaminazione
- 3) istruzione e aggiornamento di tutto il personale addetto alla produzione e a tutti i procedimenti per la preparazione finale dei prodotti alimentari.

Un'igiene rigorosa è indispensabile nel corso dei procedimenti di lavorazione delle carni, soprattutto a causa della possibilità che ha la yersinia di riprodursi, anche a temperature intorno a 0°C e di resistere negli alimenti congelati.

*Listeria monocytogenes (L.m.)***Caratteristiche.**

Il genere *Listeria* è composto da piccoli batteri Gram-positivi, di forma cocco o bastoncellare, non sporigeni. Sono riconosciute come appartenenti a questo genere almeno 7 specie (*monocytogenes*, *ivanovii*, *innocua*, *welshimeri*, *seeligeri*, *grayi*, *murrayi*). Solo *L.m.* è costantemente associata a malattie dell'uomo, sebbene due altre specie (*ivanovii* e *seeligeri*) sono state implicate in varie occasioni.

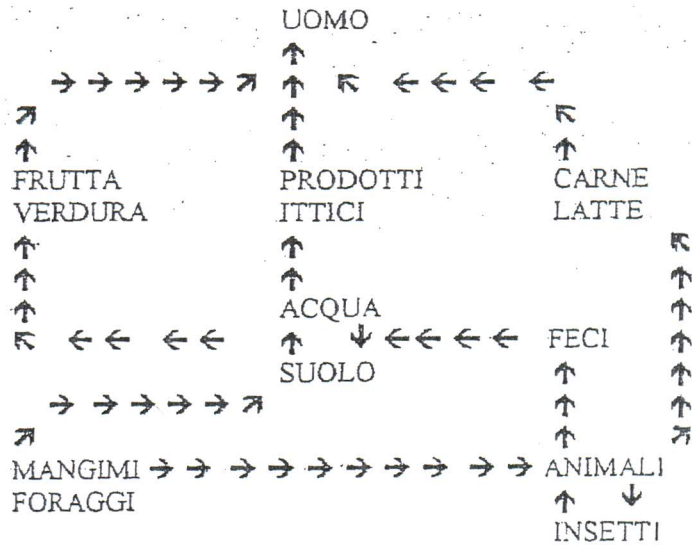
L.m. è un microorganismo catalasi positivo, anaerobio facoltativo, psicrofilo, poichè capace di crescere a temperature comprese tra 0 e 50°C, mobile grazie alla presenza di flagelli peritrichi a 20 ma non a 37°C, produttore di beta-emolisina evidenziabile in agar-sangue. Il range di pH richiesto per la crescita varia da 4,3 a 9. Il germe presenta un'elevata tolleranza al sale (crescita fino al 10%, sopravvivenza fino al 20-30%) ed una considerevole resistenza ai nitriti. La crescita a basse temperature sembra accentuare la virulenza di *L.m.* Sono conosciuti 13 sierovarianti di *L.m.* identificati sulla base degli antigeni O e H mediante reazione di agglutinazione con antisiero di coniglio. Patogene per l'uomo sono le sierovarianti 1/2a, 1/2b e 4b.

Presenza nell'ambiente.

L.m. si ritrova abitualmente in numerose specie di animali selvatici e domestici, nei quali può provocare mastite ed un particolare tipo di encefalite. I soggetti malati, una volta guariti, possono divenire portatori sani e disseminare il batterio sul terreno, nel fango, nelle acque superficiali e sulla vegetazione. Si ritrova anche nei foraggi insilati non correttamente fermentati. Il batterio può sopravvivere come saprofito nel suolo e, trasportato con la polvere, contaminare gli alimenti.

Trasmissione.

Possibile ciclo di infezione di *L.m.*



L.m. è stata isolata da molti alimenti grazie all'ubiquitarità del batterio ed alla sua capacità di moltiplicarsi anche a bassa temperatura. La via alimentare è considerata, a tutt'oggi, la principale via d'infezione. Nonostante ciò una relazione diretta tra listeriosi e prodotti alimentari particolari è stata dimostrata solo in alcuni focolai. Le ricerche epidemiologiche sono difficili per svariate ragioni, tra le quali la possibilità del lungo periodo di tempo che può trascorrere tra l'ingestione dell'alimento contaminato ed il manifestarsi dei primi sintomi (fino a 70 gg).

Proprietà patogene e diffusione clinica.

L.m. fu inizialmente identificata come causa di aborto precoce, mortalità prenatale, setticemie post-parto, in seguito si accertò che essa poteva provocare anche meningite ed encefalite nel neonato e nella donna gravida. Nella donna incinta la malattia si manifesta con febbre, brividi, cefalee, mal di schiena, urine incolori. Questi sintomi possono essere accompagnati da faringite, diarrea e pielite mentre la meningite

è poco frequente durante la gravidanza. Quando i sintomi si rendono evidenti è possibile isolare *L.m.* da numerosi tessuti, tra cui il cordone ombelicale e la placenta. L'infezione può essere trasmessa al feto per via transplacentare o durante il parto. Nei soggetti adulti con lesioni cardiache sono frequenti le endocarditi.

Negli USA e in Inghilterra l'incidenza segnalata è di circa 4 casi/milione di abitanti/anno, tuttavia, si stima che i casi effettivi siano superiori a 50/milione, con una letalità di circa il 30%.

Presenza negli alimenti.

Latte.

Il latte crudo sembra risultare contaminato nel 2.2% e costituisce la principale fonte di contaminazione dei caseifici. Le percentuali di portatori sani di *L.m.* variano, generalmente, tra l'1 ed il 5%, in particolare, nelle vacche mastitiche il livello di contaminazione può raggiungere 25-30.000 UFC/g. Il processo di pastorizzazione è comunque sufficiente per la sanitizzazione.

Prodotti lattiero-caseari

I formaggi che più frequentemente risultano inquinati da germi di *L.m.* sono quelli di tipo molle (italico e taleggio) e gli erborinati (gorgonzola). Il formaggio prodotto con latte sano o pastorizzato può subire una ricontaminazione di natura ambientale. Nei formaggi stagionati bassi valori di a_w e di pH limitano lo sviluppo del germe.

Carne e derivati

Nella carne la contaminazione riguarda per lo più le superfici cutanee e l'apparato digerente. Durante la macellazione i microrganismi presenti possono contaminare l'ambiente ed i prodotti ivi preparati. Un'altra fonte di contaminazione è rappresentata dall'ambiente esterno e dai possibili vettori del microrganismo (lavoranti, attrezzature mobili, ecc.). Un'ulteriore caratteristica di *L.m.* è rappresentata dalla capacità di aderire alle superfici tramite il flagello e quindi essa è rimossa difficilmente. Molti autori ritengono che la contaminazione avvenga durante il processo di eviscerazione.

Maggiore incidenza di *L.m.* si avrebbe nei prodotti crudi di salumeria e nella carne tritata poiché la diffusione del germe è facilitata dalla macinazione e dalla manipolazione dell'alimento. Inoltre il consumo di carne non cotta o poco cotta, o cotta ma consumata dopo un considerevole lasso di tempo, determina le condizioni per una massiva moltiplicazione del batterio.

Le carni di pollo possono veicolare il germe in una percentuale compresa tra il 12 e il 60%, la forte contaminazione è favorita dal diffondersi di forme di allevamento intensivo. Il fenomeno ha minore rilievo per le carni di bovini e di suini. La possibilità di moltiplicazione di *L.m.* nelle carni è condizionata negativamente da valori di pH <5.0. Nel patè l'uso di condimenti ad alto rischio su materiale carneo precedentemente trattato ad alta temperatura, e quindi mancante di flora microbica competitiva, può indubbiamente favorire la moltiplicazione di *L.m.* I wurstel, benché pastorizzati, possono essere contaminati se viene a mancare la ripastorizzazione finale della confezione.

Prodotti ittici

L.m. è stata isolata da crostacei (gamberi, aragoste, polpa di granchio) e pesci, anche marinati o affumicati.

Preparazioni alimentari non congelate

Le condizioni di raffreddamento promuovono la prevalenza di *L.m.*, la mescolanza di differenti ingredienti a rischio (carne, vegetali) e un trattamento di riscaldamento non adeguato predispongono a forti rischi di infezione. Secondo recenti studi anche i gelati rientrano in questa categoria di alimenti a rischio.

Vegetali

Patate e ravanelli sembrano essere contaminati regolarmente, benché *L.m.* sia stata isolata anche in insalate miste preconfezionate (prodotti IV gamma).

Uova

L.m. è stata isolata da uova liquide crude e sembra che sia capace di crescere bene nelle uova cotte.

Prevenzione.

L'accertata possibilità che la contaminazione da *L.m.* degli alimenti avvenga prevalentemente durante le fasi di produzione o di conservazione rende particolarmente necessari l'adozione del metodo dell'HACCP (Hazards Analysis and Critical Control Points) e del GMP (Good Manufacturing Practises). Infatti le procedure di raffreddamento favoriscono selettivamente la crescita di *L.m.* Secondo alcuni autori, i frigoriferi casalinghi sono la fonte più importante per la contaminazione crociata degli alimenti.

Disposizioni legislative.

La presenza di *L.m.* negli alimenti è stata recentemente regolamentata dall'ordinanza del Ministero della Sanità del 7 dicembre 1993 che ha previsto limiti di accettabilità per alcuni tipi di alimenti prelevati a livello di produzione. Tali limiti sono diversi a seconda che si tratti di alimenti crudi non sottoposti a trattamenti di riscaldamento, alimenti congelati o surgelati, alimenti precotti o pastorizzati. In ragione del minore o maggiore rischio di contaminazione del prodotto vengono quindi indicati il numero di campioni da eseguire, il numero di campioni negativi richiesto per licenziare al consumo la partita di alimenti ed i livelli massimi consentiti nei campioni positivi.

MINISTERO DELLA SANITÀ

ORDINANZA 7 dicembre 1993.

Limiti di *Listeria monocytogenes* in alcuni prodotti alimentari.

NEI SEUSI O PRECONFEZIONATI DESTINATI PER LORO NATURA AD ESSERE CONSUMATI PREVIA COCTURA O CHE RISCHINO SULLA CONFEZIONE DA CONSUMARSI PREVIA COCTURA (ESCLUSI IL LATTE E I DERIVATI DEL LATTE).

Prodotto alimentare	Determinazione analitiche	N (*)	Limite di tolleranza
crudi; non sottoposti a trattamento di cotto	<i>Listeria monocytogenes</i>	5 u.c.	non oltre 11/g in 1 u.c. non oltre 110/g in 2 u.c.
congelati o surgelati	<i>Listeria monocytogenes</i>	5 u.c.	non oltre 11/g in 2 u.c. non oltre 110/g in 3 u.c.
precotti o pastorizzati	<i>Listeria monocytogenes</i>	5 u.c.	non oltre 11/g in 4 u.c. non oltre 110/g in 1 u.c.