



Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare

Listeria monocytogenes: caratteri generali ed epidemiologici

Antonietta Gattuso

La presenza di *Listeria monocytogenes* in differenti alimenti destinati al consumo umano ha destato negli anni un sempre maggiore interesse per questo microorganismo annoverandolo tra i patogeni più importanti trasmessi per via alimentare.

STORIA

- 1924 – Australia: Murray descrive per la prima volta un germe ancora sconosciuto, che chiama *Bacterium monocytogenes*
- 1940 – Stati Uniti: Pirie dedica il genere a Lister
- 1949 – Germania: caso di *granulomatosi infantiseptica* (85 feti abortiti e neonati morti)
 - Ø Pötel isola da tutti un batterio che crede un *Corynebacterium*
 - Ø Seeliger lo riconosce come *Listeria*
- 1983 – Francia: Rocout distingue *L. monocytogenes* da altre *Listerie*, e comincia ad intuire che è l'unica patogena per l'uomo
- 1983 – Canada: descrizione del primo caso di listeriosi umana da alimenti (crauti fermentati)

SPECIE DEL GENERE LISTERIA

Fino al 1961 *L. monocytogenes* era l'unica specie riconosciuta del genere *Listeria*.

Studi di tassonomia batterica condotti negli anni successivi hanno consentito di ascrivere attualmente a questo genere 6 specie:

- *L. monocytogenes* (produzione di β -emolisi: patogena per l'uomo e per gli animali)
- *L. innocua*
- *L. ivanovii* (produzione di β -emolisi: patogena per gli animali)
- *L. welshimeri*
- *L. seeligeri* (produzione di β -emolisi: patogena per gli animali)
- *L. grayi*.

– Caratteristiche differenziali delle specie del genere *Listeria*.

Caratteristiche	<i>L. grayi</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. ivanovii</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. murrayi</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. welshimeri</i>
β-Emolisi	–	–	+	+	–	+	–
Camp test <i>S. aureus</i>	–	–	–	+	–	+	–
Camp test <i>R. equi</i>	–	–	+	–	–	–	–
Produzione di acido da:							
– Mannitolo	+	–	–	–	+	–	–
– α-Metil-d-mannoside	nd	+	–	+	nd	–	+
– L-Rammosio	–	d	–	+	d	–	d
– Amido solubile	+	–	–	–	+	nd	nd
– D-Xilosio	–	–	+	–	–	+	+
– Idrolisi ippurato	–	+	+	+	–	nd	nd
– Riduzione nitrati	–	–	–	–	+	nd	nd
– Patogenicità in topino	–	–	+	+	–	–	–

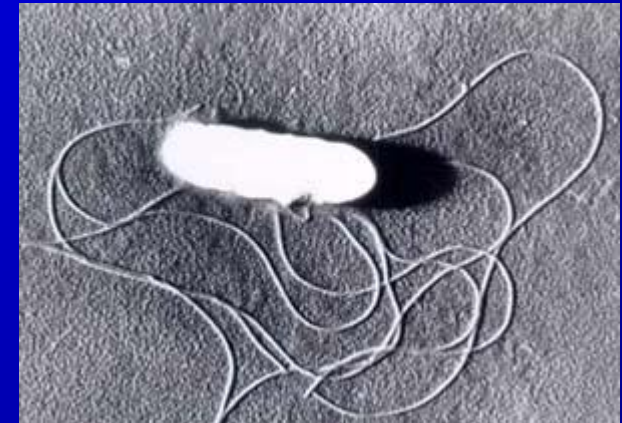
d: 11-89% dei ceppi sono positivi; nd: non determinato; * da *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9^a ed.).



CARATTERISTICHE GENERALI

I microorganismi appartenenti al genere *Listeria* sono:

- bacilli pleomorfi, Gram positivi
- aerobi o anaerobi facoltativi
- ossidasi negativi, catalasi positivi
- in grado di idrolizzare l'esculina ad esculetina
- non capsulati, non sporigeni
- mobili (a 20-25°C) per la presenza di flagelli peritrichi.

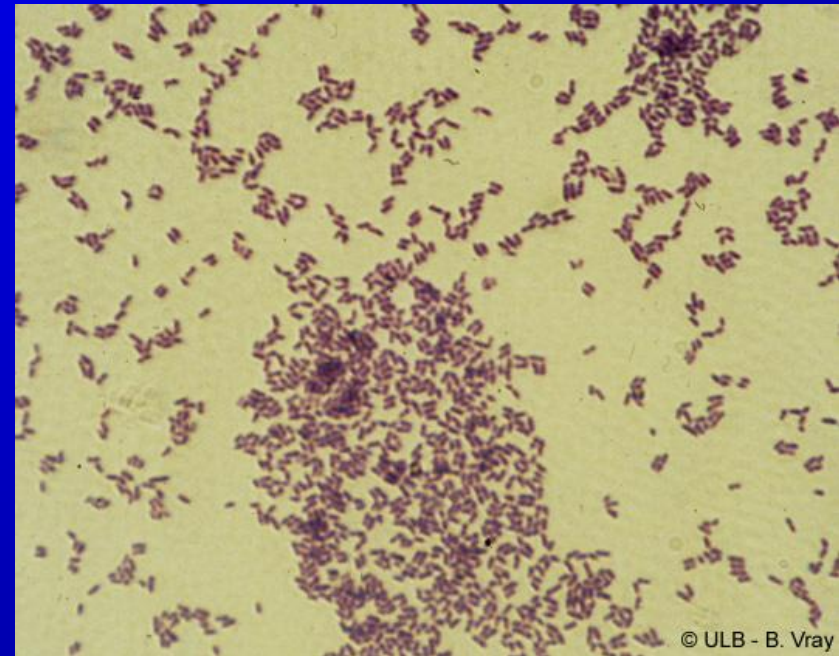


Il pleomorfismo permette di osservare questi microrganismi sotto forma allungata e filamentosa o cocco bacillare.

- Nella forma giovane (coltura di 24 ore) la *Listeria* si presenta come un corto bacillo con estremità arrotondate (diametro 0.5-0,8 μm , lunghezza 1-2 μm)
- Nella sua forma più vecchia (coltura di 2-5 giorni) presenta un aspetto allungato e filamentoso.



- All'osservazione al microscopio ottico la *Listeria* si presenta con una tipica disposizione a palizzata
- Le cellule da coltura di 24 ore sono sempre Gram positive
- Le cellule da colture di più di 24 ore perdono la Gram positività e assumono colorazione bipolare (Ggram negatività soprattutto nella parte centrale della cellula)





- Cresce su normali terreni ma le colture ottimali si ottengono su terreni arricchiti con sangue (5%), glucosio o triptosio
- Temperatura di crescita: 0 - 45°C
- Resiste all'essiccamento e al congelamento
- pH di sviluppo 5-9 (viene inattivato da pH inferiori a 4,3)
- Crescere a concentrazioni di NaCl del 10% e a valori di aw inferiori a 0,92

Lo sviluppo ottimale si ottiene a pH neutro, concentrazione di NaCl di 0,5% un range di temperatura dai 30 ai 37°C e una aw di 0,93.

Parametro	Comportamento della <i>Listeria spp.</i>
Temperatura	0 - 45°C = crescita >50°C = completa inattivazione <0°C = moderata inattivazione
pH	<4.3 = no crescita 5.0-9.6= crescita
NaCl	Fino al 10-12% = crescita
Aw	Fino a 0.924 = crescita



L. monocytogenes è resistente a varie condizioni ambientali sfavorevoli quali:

1. **congelamento** (la carica della *L. monocytogenes* si riduce di un logaritmo dopo 10 mesi di conservazione a -18°C, in varie matrici alimentari)
2. **lo scongelamento**
3. **l'essiccamento**

può sopravvivere nella **materia organica** per lunghi periodi, quando il valore del pH è intorno alla neutralità.



Caratteristiche antigeniche

I ceppi di *L.monocytogenes* possono essere differenziati per la presenza di antigeni somatici O di natura polisaccaridica e antigeni flagellari H di natura proteica.

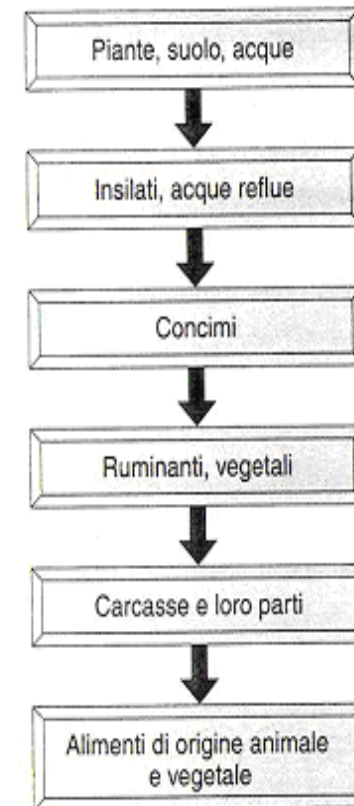
In base al corredo antigenico la *L. monocytogenes* viene suddivisa in 13 sierotipi

	sierotipo	Struttura dell'antigene somatico O	Struttura dell'antigene flagellare H
<i>L. monocytogenes</i> ^a	1/2a	I II (III) ^b	AB
	1/2b	I II (III)	ABC
	1/2c	I II (III)	BD
	3a	II (III) IV	AB
	3b	II (III) IV (XII) (XIII)	ABC
	3c	II (III) IV (XII) (XIII)	BD
	4a	(III) (V) VII IX	ABC
	4ab	(III) V VI VII IX X	ABC
	4b	(III) V VI	ABC
	4c	(III) V VII	ABC
	4d	(III) (V) VI VIII	ABC
	4e	(III) V VI (VIII) (IX)	ABC
	7	(III) XII XIII	ABC

La maggior parte (>90%) delle infezioni umane sono associate a ceppi appartenenti ai sierotipi 1/2a, 1/2b e 4b

Habitat

- La *L. monocytogenes* è largamente diffusa nell'ambiente, dove può sopravvivere per lunghi periodi anche in condizioni non ottimali
- l'ambiente naturale rappresenta un “serbatoio” di contaminazione da cui il microrganismo può diffondersi alla catena alimentare



– Diffusione della *Listeria monocytogenes* dall'ambiente agli alimenti.

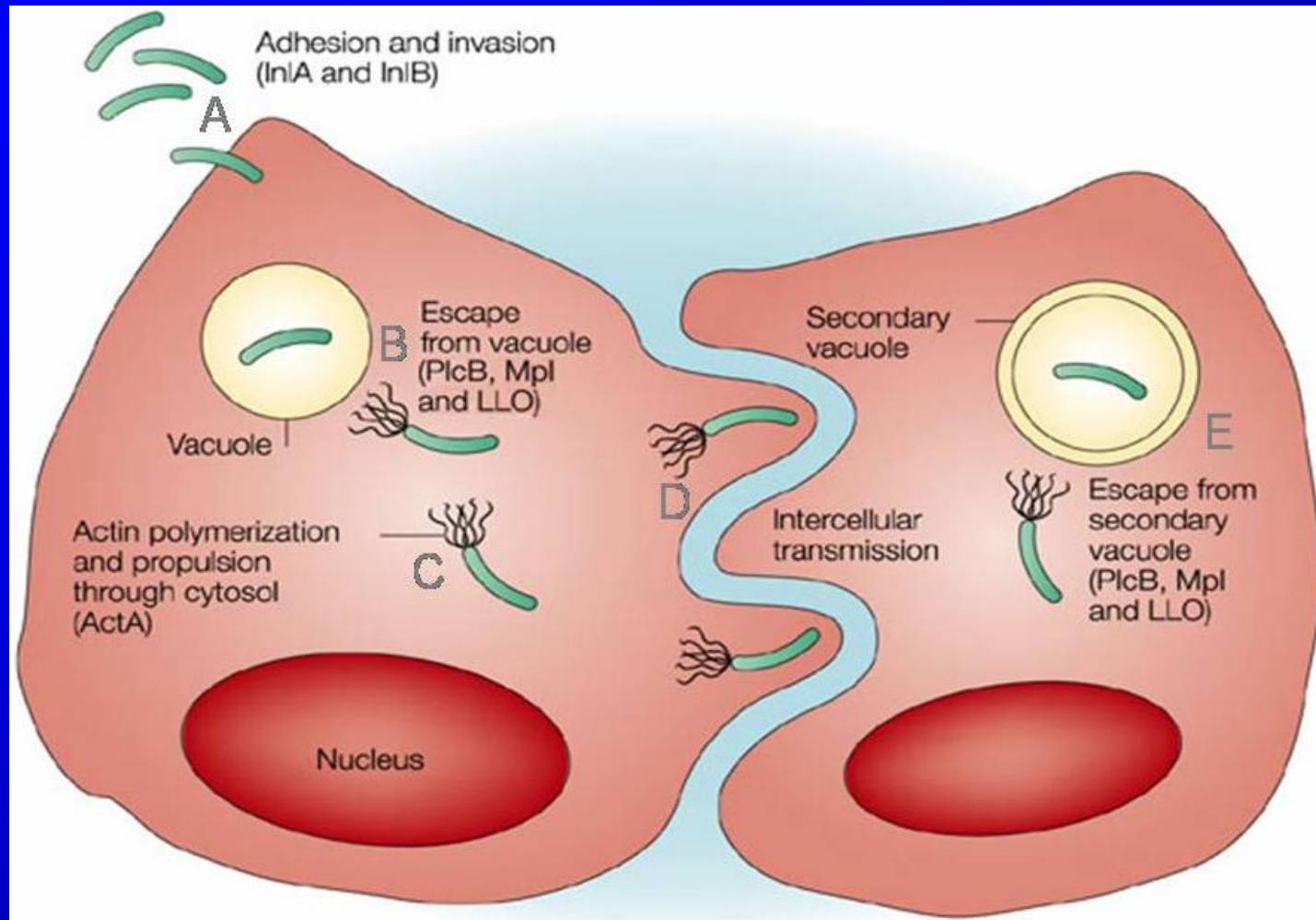
- Molti capi da allevamento, ma anche animali selvatici, sono portatori sani di *L. monocytogenes*.
- Nell'uomo *L. monocytogenes* entra a far parte della normale flora microbica intestinale senza determinare nessuna manifestazione clinica.

FATTORI DI PATOGENICITA'

L. monocytogenes elabora:

- due proteine di superficie, codificate dai geni *InlA* e *InlB*, denominate internalina A e internalina B. Inl A, permette l'adesione e la fagocitosi del batterio da parte degli enterociti; Inl B è implicata nel processo di fagocitosi da parte degli epatociti
- una proteina denominata listeriolisina O, codificata dal gene *hly*, determina la lisi del vacuolo
- una proteina di superficie, codificata dal gene *actA*, determina la formazione di polimeri di actina

*Fasi del ciclo intracellulare di **Listeria monocytogenes***



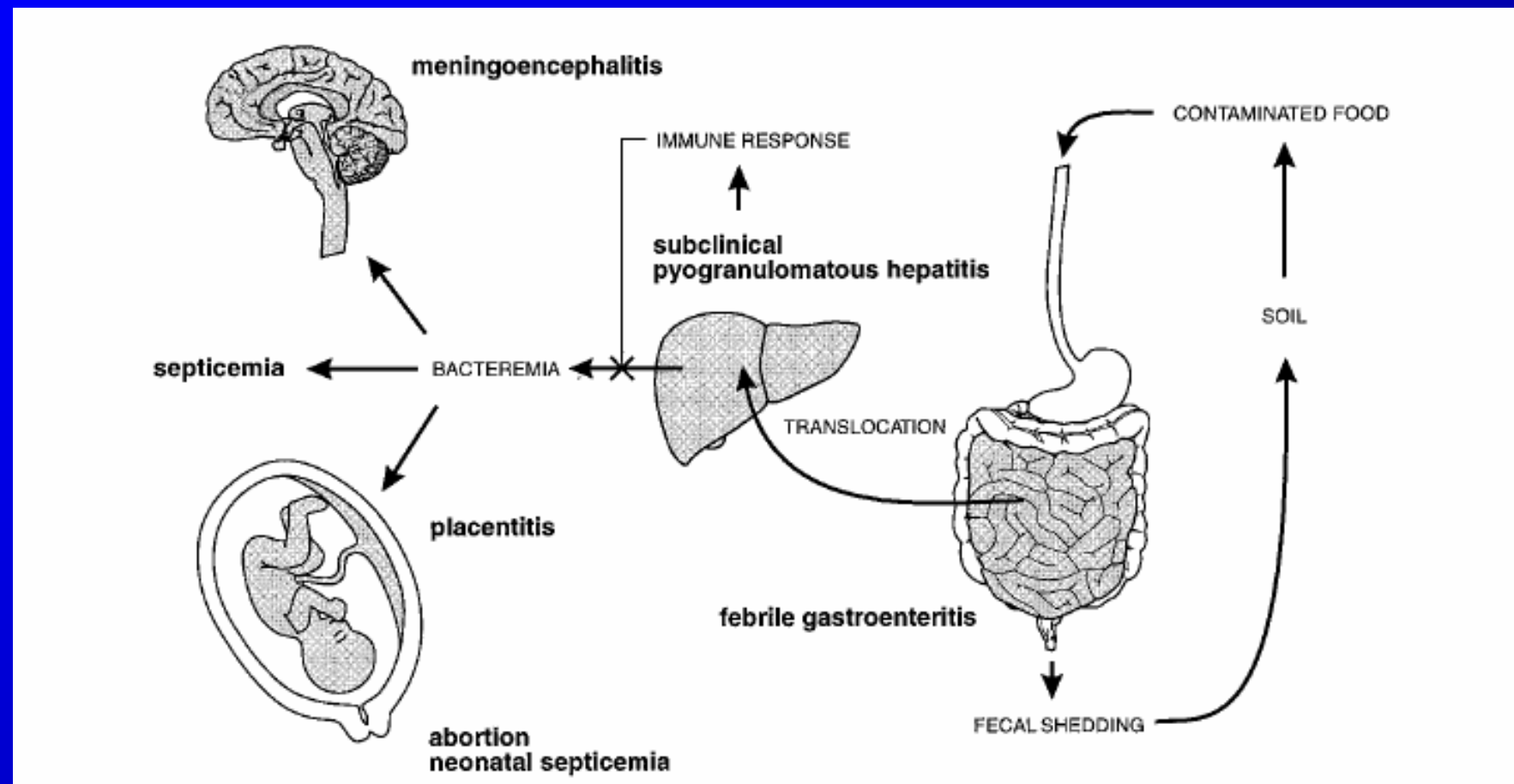
PROCESSO INVASIVO

L. monocytogenes è in grado di penetrare nelle cellule dell'epitelio intestinale sia attraverso gli enterociti, sia attraverso i macrofagi disseminati fra le cellule del lume intestinale.

Dai macrofagi e dagli enterociti il microrganismo si diffonde nel circolo sistemico fino al fegato e alla milza, dove viene neutralizzato principalmente dai neutrofili.

Nel caso in cui la risposta immunitaria T- mediata dell'ospite è inadeguata, *L. monocytogenes* sarà in grado di moltiplicarsi negli epatociti e nei macrofagi ed arrivare, tramite il flusso sistemico, fino al sistema nervoso centrale o al feto attraversando la barriera ematoencefalica e la placenta

*Schema rappresentativo della patofisiologia di **Listeria Monocytogenes***



LISTERIOSI

La listeriosi che colpisce l'uomo ha una bassa incidenza, ma è di norma una patologia molto grave con un tasso di mortalità che varia dal 20 al 30% in base alla categoria di soggetti presi in considerazione.

Dal punto di vista clinico possono essere distinte due forme di listeriosi:

- una non invasiva, tipica delle tossinfezioni alimentari, determinata dall'ingestione di una dose infettante elevata (circa 10^9 ufc/g), con sintomi a carico del tratto gastrointestinale
- una forma invasiva, che colpisce determinate classi di soggetti a rischio, caratterizzata da una dose infettante bassa (10^3 ufc/g) e con sintomi a livello sistemico.

LISTERIOSI

La fase invasiva è caratterizzata da setticemia, meningite ed endocardite.

- La forma più comune decorre come meningoencefalite accompagnata da severe alterazioni della coscienza, disordini motori, e in alcuni casi da paralisi dei nervi cranici.
- La forma encefalitica è di solito bifasica, con una fase sub-febbrile nei primi 3-10 giorni accompagnata da nausea, emicrania, disordini della vista e malessere generale, a cui segue una fase con sintomi severi a carico del SNC, caratterizzata da una mortalità del 20% circa

Le forme invasive riguardano inoltre batteriemie e setticemie con alta percentuale di mortalità (>70%) e in casi sporadici endocardite, epatite e ascessi localizzati (a livello epatico e del SNC).

LISTERIOSI

-
- La listeriosi umana interessa prevalentemente soggetti con sistema immunitario alterato
- o per particolari condizioni fisiologiche
 - donne in gravidanza, neonati ed anziani
- o per condizioni patologiche:
 - pazienti con tumori, pazienti HIV+, pazienti con insufficienza epatica, renale, cardiaca, pazienti trapiantati, pazienti diabetici, pazienti etilisti cronici ecc.

LISTERIOSI

- Una categoria particolarmente a rischio è rappresentata da donne in gravidanza, in cui la listeriosi si presenta di solito come una sindrome simil - influenzale, ma che ha gravi conseguenze sul feto o sul neonato
- La listeriosi neonatale, a differenza di quella materna, si presenta, invece, come una patologia grave e spesso fatale, con un tasso di mortalità che si assesta intorno al 20-30%.

LISTERIOSI

La listeriosi neonatale può essere clinicamente classificata in due forme:

- **La forma precoce** colpisce durante la prima settimana dalla nascita e di solito è acquisita per via transplacentare. E' contraddistinta da sepsi e raramente accompagnata da meningite, con casi sporadici di granulomatosi infantile (caratterizzata da granulomi o ascessi a livello di vari organi).
- **La forma tardiva** riguarda neonati sani che vengono colpiti dopo la prima settimana dalla nascita ed è caratterizzata più frequentemente da meningite. Nella forma tardiva non è nota con certezza la fonte del contagio

PRINCIPALI SINTOMI CLINICI DELLA LISTERIOSI

Tipo di popolazione	Condizioni predisponenti	Presentazione clinica	Diagnosi
Donne in gravidanza	Gravidanza	Febbre, mialgia, diarrea a Parto pretermine, Aborto Mortalità neonatale	Colture da sangue e/o da liquido amniotico e/o placenta
Neonati < 7 giorni >= 7 giorni	Prematurità	Sepsi Meningite, sepsi	Colture da Sangue o da altro sito non sterile Colture da liquido cerebrospinale, da sangue o da altro sito non sterile
Adulti	Immunosoppressione, età avanzata	Sepsi, meningite, infezioni focali	Colture da sangue, liquido cerebrospinale o da altro sito sterile
Adulti sani	Consumo di alimenti contaminati con un numero elevato di microrganismi	Diarrea e febbre	Colture da feci in terreno selettivo

Prevenzione

Poiché i sintomi della listeriosi possono manifestarsi dopo alcuni giorni, o settimane, e possono essere leggeri, può succedere di non accorgersi di aver contratto l'infezione. Per questo motivo è importante, durante la gravidanza, prendere alcune precauzioni.

NON MANGIARE

- Carni pronte al consumo
- Formaggi molli
- Alimenti che contengono latte non pastorizzato (il parmigiano o il groviera, fatti con latte non pastorizzato, sono sicuri perché molto stagionati)
- Pesce affumicato
- Carne, pollo e pesce solo se ben cotti

Prevenzione

Consigli utili di igiene domestica e preparazione casalinga degli alimenti

- cuocere bene gli alimenti di origine animale
- lavare accuratamente frutta e verdura prima di mangiarla
- sistemare gli alimenti cotti e quelli crudi in ripiani separati del frigorifero
- quando si cucina, lavare spesso le mani
- pulire accuratamente gli utensili e i ripiani di lavoro
- consumare i cibi deperibili precotti o già cotti il prima possibile
- riscaldare fino a bollire gli avanzi

.

ASPETTI EPIDEMIOLOGICI

- I primi isolati nell'uomo di *L.monocytogenes* risalgono agli anni '60, ma solo nel 1983, in seguito ad epidemie in Nord America ed Europa, fu riconosciuta in maniera definitiva la trasmissione del patogeno attraverso gli alimenti
- Accanto a casi isolati di listeriosi sono stati descritti negli anni anche focolai epidemici causati da contaminazione di molteplici tipologie di alimenti.
- In Europa e negli Stati Uniti si sono susseguiti a partire dagli '80 fino al 2003 diversi casi epidemici

RASSEGNA DEI PRINCIPALI EVENTI DI LISTERIOSI

Località	Anno	N. di casi (N. di decessi)	Alimento	Sierotipo
<i>Massachusetts (USA)</i>	1979	20 (5)	Vegetali Crudi	4b
<i>Nuova Scozia (Canada)</i>	1981	41 (18)	Insalata di cavoli	4b
<i>Massachusetts (USA)</i>	1983	49 (14)	Latte pastorizzato	4b
<i>California (USA)</i>	1985	142 (48)	Formaggio molle	4b
<i>Svizzera</i>	1983-87	122 (34)	Formaggio molle	4b
<i>Regno Unito</i>	1988-89	366 (0)	Patè	4b
<i>Conneticut (USA)</i>	1989	10 (0)	Gamberetti	4b
<i>Francia</i>	1992	279 (85)	Lingua in gelatina	4b
<i>Illinois (USA)</i>	1994	48 (0)	Latte al cioccolato	1/2b
<i>Italia</i>	1997	18 (0)	Mais in scatola	4b
<i>Diversi Stati (USA)</i>	2000	30 (7)	Carne RTE	1/2a
<i>Nord Carolina (USA)</i>	2000	13 (5)	Formaggio molle	4b
<i>Diversi Stati (USA)</i>	2002	54 (8)	Carne RTE	4b
<i>Quebec (Canada)</i>	2002	17 (0)	Formaggio	4b
<i>Texas (USA)</i>	2003	12 (N)	Formaggio molle	4b

Tabella 3. Rassegna dei principali eventi di listeriosi (Gianfranceschi, 2001; Swaminathan *et al.*, 2007).

ASPETTI EPIDEMIOLOGICI

- La listeriosi è definita dall'OMS una malattia relativamente rara (5 casi per milione di abitanti contro i 124 della salmonellosi), ma preoccupante per l'elevato tasso di mortalità (20-40% nelle forme invasive) e di ospedalizzazione (90,5% dei casi).
- OMS nel rapporto 2004 riporta un'incidenza annuale mondiale che varia da 0,1 a 11,3 casi per milione di abitanti, con 0,3-7,5 casi per milione di abitanti in Europa, 4,4 casi per milione negli USA e 3 casi per milione in Australia

ASPETTI EPIDEMIOLOGICI

I dati resi noti dall'EFSA nel 2009 per quanto riguarda la Comunità Europea indicano una lieve flessione nell'incidenza dei casi notificati e confermati nel 2007 rispetto al 2006 (0,35 casi per 100.000 abitanti nel 2006, contro 0,34 casi per 100.000 abitanti nel 2007), ma sempre al di sopra del periodo 2004-2005 (0,31 e 0,28 casi per 100.000 abitanti rispettivamente)

Trend di incidenza dei casi clinici

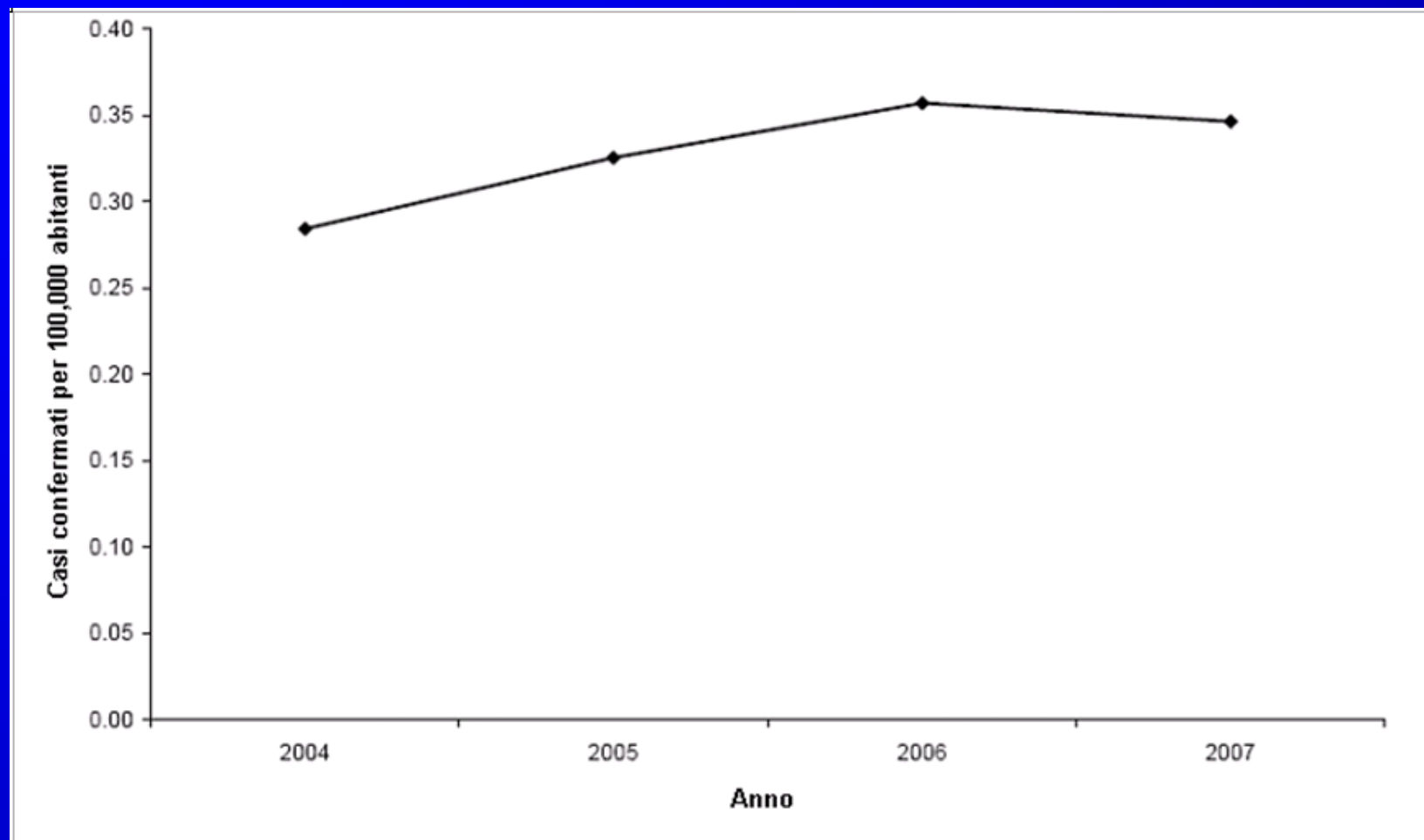


Figura 4. Trend di incidenza dei casi clinici notificati e confermati di listeriosi nel periodo 2004-2007 (EFSA, 2009).

DISTRIBUZIONE PER FASCE D'ETA' DEI CASI DI LISTERIOSI

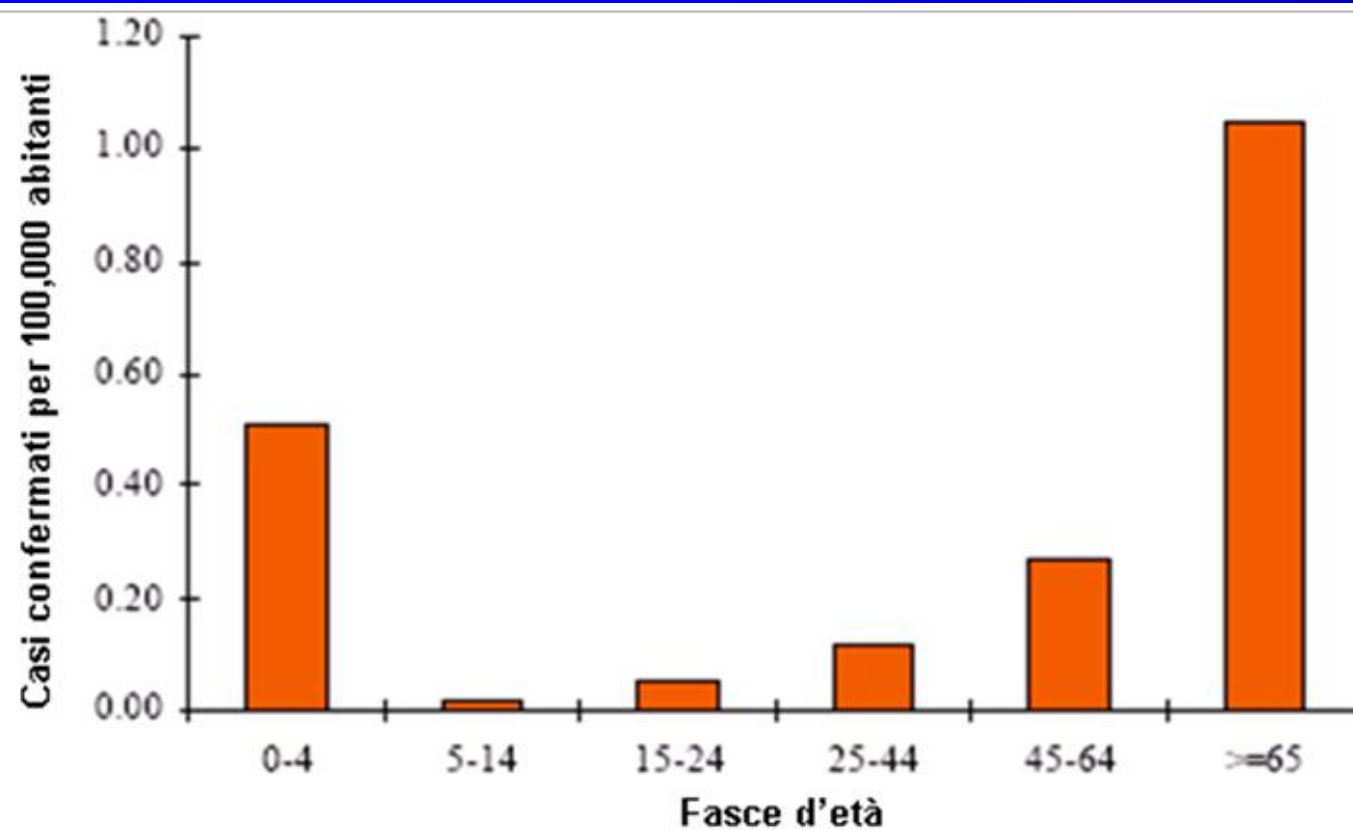


Figura 4. Distribuzione per fasce d'età dei casi di listeriosi notificati negli Stati Membri nel periodo 2007 (EFSA, 2009).