

Versione 001

Revisione Narrativa su: "Un caso di Listeriosi negli insaccati". Caso di studio riportato dal Medico Veterinario Anna Duranti.

Matteo Rocchetti

m.rocchetti@izsum.it

Referee: Giovanni Pezzotti, Marinella Capuccella, Anna Duranti,
Carmen Maresca, Maria Luisa Marenzoni, Maria Paola Torlone

Abstract: la listeriosi è una delle patologie alimentari più rilevanti a livello mondiale, a causa del numero elevato di ospedalizzazioni e decessi che si verificano ogni anno nella popolazione suscettibile. Tra gli alimenti che possono veicolare questo patogeno alimentare ci sono i salami; prodotti fermentati a base di carne che possono rappresentare un substrato ottimale per lo sviluppo di *L. monocytogenes*. In questa revisione si è cercato di valutare se l'utilizzo di colture starter appositamente selezionate può aiutare a ridurre la prevalenza di *L. monocytogenes* in questa tipologia di prodotti.

Introduzione

Il genere *Listeria* comprende al suo interno diciassette specie; tuttavia solamente due *L. monocytogenes* e *L. ivanovii*, sono patogene per l'uomo (Orsi e Wiedmann; 2009).

Listeria monocytogenes è un bacillo, gram positivo, aerobio facoltativo, con la capacità, rispetto ad altri patogeni alimentari, di potersi sviluppare anche in condizioni di refrigerazione (da 4°C a 10°C) (Robert Bortolussi; 2008); è inoltre capace di aderire alle superfici a contatto con gli alimenti e formare un biofilm, che risulta poi particolarmente difficile da rimuovere durante la lavorazione degli alimenti (ReisTeixeira et al., 2017).

In individui in salute la listeriosi in genere causa solamente una gastroenterite (Charlier et al., 2017). In soggetti suscettibili come: donne in gravidanza, neonati, persone anziane (con età maggiore di 60 anni) e persone immunocompromesse (ad esempio malati di cancro, o di HIV) (Robert Bortolussi; 2008), può portare a condizioni ben peggiori, come febbre, meningiti e setticemia che richiedono spesso ospedalizzazione o trattamento medico (EFSA, ECDC; 2022).

L. monocytogenes continua ad essere il patogeno alimentare a causare il maggior numero di decessi in Europa, soprattutto tra la popolazione anziana.

I focolai di listeriosi sono causati prevalentemente da prodotti pronti al consumo (ready to eat), carne e derivati, pesce affumicato e verdure surgelate (EFSA, ECDC; 2022).

In questa revisione, partendo dal trattamento di un focolaio di *Listeria monocytogenes* verificatosi nel 2015-2016 nella Regione Marche, causato dalla contaminazione della cosiddetta "coppa di testa", un salume della tradizione norcina marchigiana preparato con parti di minor valore della carcassa suina bollite, condite ed insaccate nella vescica di bovino, si sono rintracciate in letteratura scientifica le modalità applicabili per ridurre i livelli di contaminazione di questi prodotti.

Materiali e metodi

Per questa revisione narrativa l'argomento è stato analizzato trattato tramite l'utilizzo di keyword e frasi esatte. La ricerca del materiale utilizzato è stata effettuata su Pubmed/Medline e Google Scholar utilizzando labels e filtri per ciascuno specifico database . È stato privilegiato, come previsto dal protocollo semplificato per le Revisioni Narrative del Progetto Micro Epidemic One Health, un arco temporale di 5 anni.

I risultati ottenuti dalla ricerca sono stati inizialmente valutati considerando: titolo, abstract e discussione. I lavori così individuati sono stati poi letti ed analizzati.

Risultati

In letteratura vengono riportati molteplici trattamenti tecnologici che potrebbero permettere di risanare gli alimenti dalla contaminazione da *L. monocytogenes*, come ad esempio trattamenti termici, l'utilizzo dell'irradiazione oppure di disinfettanti (Mengjie Wu et al. 2022). Tuttavia non si è reputato opportuno prendere in considerazione questi trattamenti, che difficilmente si conciliano con il processo di lavorazione dei salumi.

La lavorazione di questi prodotti prevede, infatti, una macinazione e miscelazione di carne, grasso e altri ingredienti (spezie, sale ecc.), insieme a delle colture starter; successivamente vi è la fase di stagionatura, a cui segue la vendita del prodotto.

In questa revisione è stata esaminata proprio questa fase, cercando di indagare come questo processo potrebbe aiutare a ridurre l'impatto di *L. monocytogenes* in questa tipologia di prodotti.

Durante la stagionatura dei prodotti, infatti, la disidratazione e la fermentazione della flora microbica, addizionata o naturalmente presente nella carne, determinano un duplice effetto: la riduzione dell'attività dell'acqua del prodotto e la competizione con la microflora in moltiplicazione, che possono portare ad una riduzione dei livelli del patogeno (Tirloni et al., 2019).

Branciani e colleghi. (2020) concludono anche loro come lo sviluppo della flora autoctona dei salumi, insieme ad altri fattori come l'utilizzo di alcuni additivi come i nitriti e i nitrati possono aiutare a limitare lo sviluppo del patogeno.

Diversi studi reperiti in letteratura scientifica hanno cercato di dimostrare quali potrebbero essere i batteri migliori da inserire in una coltura starter da aggiungere alle materie prime per poter avere la massima efficacia per ridurre l'incidenza della *Listeria*.

Bisogna infatti specificare come non tutti i batteri protecnologici siano ugualmente efficaci nel limitare lo sviluppo di *L. monocytogenes*; infatti, spesso essi si dimostrano abili nel contrastare solamente alcuni ceppi di *Listeria*. Per ridurre ancora più efficacemente la crescita della *Listeria* sarebbe raccomandabile l'utilizzo di colture starter in combinazione con altre sostanze con funzionalità antibatterica, che potrebbero aiutare a controllare lo sviluppo, la virulenza e la capacità del microrganismo di formare biofilm (Mengjie Wu et al. 2022).

A tal proposito, Dong et al. (2020) ha dimostrato come l'utilizzo combinato di *L. plantarum* e di fruttooligosaccaridi (FOS) possono ridurre significativamente il rateo di crescita, l'abilità di adesione delle cellule, la capacità di invasione e il livello dell'espressione dei geni di virulenza di *L. monocytogenes*; non mostrando allo stesso tempo effetti negativi sugli alimenti testati.

Nella revisione pubblicata da Mengjie Wu e colleghi (2022) è emerso come i batteri: *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactiplantibacillus sakei*, e *Lacticaseibacillus rhamnosus* hanno la capacità di limitare lo sviluppo di *L. monocytogenes* in diverse tipologie di alimenti.

Anche Petruzzelli e colleghi (2011) sottolineano il contributo che alcuni batteri lattici come *L. plantarum* e *L. sakei* hanno sia nella definizione delle proprietà organolettiche dei salumi che nella capacità di produrre batteriocine attive contro *L. monocytogenes*.

L'efficacia di questi batteri lattici è ribadita anche da Ciarrocchi e colleghi (2011) che evidenziano le particolari attività anti-*Listeria*, proteolitica (*L. sakei*) e acidificante (*L. plantarum*).

Discussione

Gli studi reperibili in letteratura scientifica confermano come l'utilizzo di colture starter selezionate possa avere effetti positivi sulla riduzione dell'impatto della *Listeria* in prodotti fermentati a base di carne come i salumi.

Le colture utilizzate sono spesso microrganismi probiotici, che la FAO e l'OMS descrivono come batteri vivi che se assunti in dosi adeguate, costantemente e per un periodo duraturo possono portare effetti benefici sulla salute di chi li ha assunti; all'interno di questo gruppo confluiscono specie appartenenti ai generi *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* (FAO, WHO, 2002).

Questa loro caratteristica rende questi batteri additivi alimentari sicuri, in quanto, se addizionati agli alimenti non hanno effetti negativi sulla loro sicurezza (Zielinska et al., 2018).

Alcuni specifici batteri possiedono inoltre una dimostrata capacità di inibire lo sviluppo della *Listeria* attraverso diversi meccanismi come: la competizione per i nutrienti; l'interruzione del quorum sensing, con conseguente blocco dello sviluppo, riduzione della tolleranza alle condizioni ambientali circostanti e riduzione della virulenza (Machado et al. 2020; Martin et al. 2022). Si evidenzia a tal proposito *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactiplantibacillus sakei*, e *Lacticaseibacillus rhamnosus*.

Viene ulteriormente ribadito come l'utilizzo di colture starter idonee in combinazione con altri additivi potrebbe avere ulteriori vantaggi (Branciarri et al. 2020), rispetto al solo utilizzo di colture starter. Tra gli additivi utilizzabili in combinazione con i batteri probiotici vale la pena citare le batteriocine.

Questi composti sono una classe di peptidi o loro precursori, con funzioni antibatteriche, antiadesive e antibiofilm.

Esistono diverse tipologie di batteriocine, che possono inibire lo sviluppo di diversi microrganismi patogeni con diversi meccanismi (Mengjie Wu et al. 2022).

Una di queste è la nisina, prodotta da alcuni batteri lattici, che per le sue caratteristiche di bassa tossicità, ampia specificità, e stabilità è stata autorizzata dall'EFSA per poter essere utilizzata in alimenti quali latte e prodotti a base di carne come additivi (EFSA 2017). Churklam e colleghi (2020) hanno confermato l'attività della nisina nel limitare lo sviluppo di *L. monocytogenes*.

In alcuni casi gli stessi batteri probiotici sono capaci di produrre da soli alcuni metaboliti che potrebbero limitare lo sviluppo di microrganismi patogeni, come nel caso della nisina, metabolita che viene prodotta da alcuni batteri lattici, di cui è stata dimostrata l'abilità di ridurre i livelli di contaminazione di *Listeria* (Zhou et al. 2020).

Anche la plantaricina prodotta da *L. plantarum* ha dimostrato una forte attività antimicrobica verso *L. monocytogenes* (Wang et al. 2019).

Conclusioni

La maturazione dei salumi gioca un ruolo fondamentale nella sicurezza di questi prodotti alimentari. Durante questa fase una rapida crescita della microflora protecnologica con conseguente acidificazione del prodotto e la disidratazione dello stesso giocano un ruolo rilevante per impedire lo sviluppo della *Listeria*; che in condizioni ottimali potrebbe rapidamente moltiplicarsi in substrati a lei favorevoli.

Dall'analisi della letteratura reperta si evidenzia come *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactiplantibacillus sakei*, e *Lacticaseibacillus rhamnosus*, risultano essere i microrganismi più indicati nel limitare lo sviluppo di *L. monocytogenes*.

L. plantarum ha dimostrato una forte attività acidificante (Ciarrocchi et al. 2011), nonché la capacità di alcuni ceppi di produrre la plantaricina, batteriocina particolarmente efficace verso la *Listeria* (Wang et al. 2019).

L. sakei oltre che alla sua attività anti-*Listeria* ha anche mostrato un importante contributo nel definire le caratteristiche organolettiche del prodotto finito, grazie alla sua attività proteolitica (Petruzzelli et al. 2011; Ciarrocchi et al. 2011).

È auspicabile quindi che nella preparazione di prodotti fermentati a base di carne si privilegi sempre l'utilizzo di colture starter selezionate, che contengano al loro interno alcuni dei microrganismi sopra riproposti, o che manifestino provate capacità anti-*Listeria*, come la capacità di produrre batteriocine o una rapida acidificazione.

Qualora ciò non sia possibile come nel caso di produzioni che non prevedono l'impiego di colture starter come nel caso del ciauscolo (Petruzzelli et al. 2011; Ciarrocchi et al. 2011), si potrebbe comunque prevedere l'utilizzo di alcune batteriocine consentite, addizionandole all'impasto dell'insaccato.

L'utilizzo di questi accorgimenti non deve però sostituire le buone pratiche di lavorazione da applicare in qualunque stabilimento di produzione alimentare.

Purtroppo come riportato da Ozel e colleghi nel loro studio del 2018 le batteriocine, come la nisina, non trovano molto spazio nell'industria alimentare, a causa degli alti costi di produzione e la scarsa produttività, tuttavia questi aspetti negativi possono essere superati grazie allo sviluppo di nuove biotecnologie, che potrebbero portare alla realizzazione di nuovi batteri produttori di batteriocine caratterizzati da un'elevata produttività a costi più contenuti.

Normativa

Reg. (CE) 2073/2005 DELLA COMMISSIONE del 15 novembre 2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari e successive modifiche.

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02005R2073-20200308&from=EN>

Reg. (CE) N. 178/2002 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 28 gennaio 2002 che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare e successive modifiche.

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02002R0178-20220701&from=EN>

Reg. (CE) N. 852/2004 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 29 aprile 2004 sull'igiene dei prodotti alimentari e successive modifiche

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02004R0852-20210324&qid=1675951922101&from=en>

Reg. (CE) N. 853/2004 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 29 aprile 2004 sull'igiene dei prodotti alimentari di origine animale e successive modifiche.

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02004R0852-20210324&qid=1675951922101&from=en>

Libro bianco sulla sicurezza alimentare. Commissione delle Comunità Europee Bruxelles, 12.1.2000. COM(1999) 719 definitivo. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=COM:1999:0719:FIN:IT:PDF>

Bibliografia

- Bortolussi, R. «Listeriosis: A Primer». *Canadian Medical Association Journal* 179, fasc. 8 (16 settembre 2008): 795–97. <https://doi.org/10.1503/cmaj.081377>.
- Branciari, Raffaella, Roberta Ortenzi, Rossana Roila, Dino Miraglia, David Ranucci, e Andrea Valiani. «Listeria Monocytogenes in Soft Spreadable Salami: Study of the Pathogen Behavior and Growth Prediction During Manufacturing Process and Shelf Life». *Applied Sciences* 10, fasc. 13 (2020): 4438.
- Charlier, Caroline, Élodie Perrodeau, Alexandre Leclercq, Benoît Cazenave, Benoît Pilmis, Benoît Henry, Amanda Lopes, et al. «Clinical Features and Prognostic Factors of Listeriosis: The MONALISA National Prospective Cohort Study». *The Lancet Infectious Diseases* 17, fasc. 5 (maggio 2017): 510–19. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30521-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30521-7).
- Churklam, Wasinee, Soraya Chaturongakul, Bhunika Ngamwongsatit, e Ratchaneewan Aunpad. «The Mechanisms of Action of Carvacrol and Its Synergism with Nisin against Listeria Monocytogenes on Sliced Bologna Sausage». *Food Control* 108 (febbraio 2020): 106864. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106864>.
- Ciarrocchi, Floriana. «Study of the native flora in food bio-preservation. Technological characterization of strains isolated in a traditional salami of the Marche Region (Italy), named Ciauscolo», 2011.
- Dong, Qingli, Wenmin Zhang, Liang Guo, Hongmei Niu, Qing Liu, e Xiang Wang. «Influence of Lactobacillus Plantarum Individually and in Combination with Low O₂-MAP on the Pathogenic Potential of Listeria Monocytogenes in Cabbage». *Food Control* 107 (gennaio 2020): 106765. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106765>.
- Dorota Zielin'ska, Barbara Sionek, Danuta Kołoz yn-Krajewska. «Safety of Probiotics», s.d. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-811440-7.00006-5>.
- EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS), Maged Younes, Peter Aggett, Fernando Aguilar, Riccardo Crebelli, Birgit Dusemund, Metka Filipič, et al. «Safety of Nisin (E 234) as a Food Additive in the Light of New Toxicological Data and the Proposed Extension of Use». *EFSA Journal* 15, fasc. 12 (dicembre 2017). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.5063>.
- European Food Safety Authority e European Centre for Disease Prevention and Control. «The European Union One Health 2021 Zoonoses Report». *EFSA Journal* 20, fasc. 12 (dicembre 2022). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7666>.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, e World Health Organization, a c. di. *Probiotics in Food: Health and Nutritional Properties and Guidelines for Evaluation*. FAO Food and Nutrition Paper 85. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations : World Health Organization, 2006.
- Glass, K. A., e M. P. Doyle. «Fate of Listeria Monocytogenes in Processed Meat Products during Refrigerated Storage». *Applied and Environmental Microbiology* 55, fasc. 6 (giugno 1989): 1565–69. <https://doi.org/10.1128/aem.55.6.1565-1569.1989>.
- Machado, Idalina, Luís R. Silva, Efstathios D. Giaouris, Luís F. Melo, e Manuel Simões. «Quorum Sensing in Food Spoilage and Natural-Based Strategies for Its Inhibition». *Food Research International* 127 (gennaio 2020): 108754. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108754>.
- Martín, Irene, Alicia Rodríguez, Josué Delgado, e Juan J. Córdoba. «Strategies for Biocontrol of Listeria Monocytogenes Using Lactic Acid Bacteria and Their Metabolites in Ready-to-Eat Meat- and Dairy-Ripened Products». *Foods* 11, fasc. 4 (14 febbraio 2022): 542. <https://doi.org/10.3390/foods11040542>.

- Orsi, Renato H., e Martin Wiedmann. «Characteristics and Distribution of *Listeria* Spp., Including *Listeria* Species Newly Described since 2009». *Applied Microbiology and Biotechnology* 100, fasc. 12 (giugno 2016): 5273–87. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7552-2>.
- Özel, Burcu, Ömer Şimşek, Mustafa Akçelik, e Per E. J. Saris. «Innovative Approaches to Nisin Production». *Applied Microbiology and Biotechnology* 102, fasc. 15 (agosto 2018): 6299–6307. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9098-y>.
- Petruzzelli, A., F. Ciarrocchi, M. Fogliani, S. Fisichella, C. Sebastiani, W. Baffone, S. Santarelli, F. Tonucci, e G. Blasi. «MOLECULAR IDENTIFICATION AND GENOTYPING OF CIAUSCOLO AUTOCHTHONOUS MICROFLORA: PRELIMINARY STUDY». *Italian Journal of Food Safety* 1, fasc. 1zero (2011): 287–88.
- Reis-Teixeira, Fernanda Barbosa dos, Virgínia Farias Alves, e Elaine Cristina Pereira de Martinis. «Growth, Viability and Architecture of Biofilms of *Listeria Monocytogenes* Formed on Abiotic Surfaces». *Brazilian Journal of Microbiology* 48, fasc. 3 (luglio 2017): 587–91. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.01.004>.
- Tirloni, Erica, Vanessa Di Pietro, Giuseppe Rizzi, Francesco Pomilio, Patrizia Cattaneo, Cristian Bernardi, e Simone Stella. «Non-Thermal Inactivation of *Listeria* Spp. in a Typical Dry-Fermented Sausage: “Bergamasco” Salami». *Italian Journal of Food Safety* 8, fasc. 3 (2 ottobre 2019). <https://doi.org/10.4081/ijfs.2019.8112>.
- Verma, Deepak Kumar, Mamta Thakur, Smita Singh, Soubhagya Tripathy, Alok Kumar Gupta, Deepika Baranwal, Ami R. Patel, et al. «Bacteriocins as Antimicrobial and Preservative Agents in Food: Biosynthesis, Separation and Application». *Food Bioscience* 46 (aprile 2022): 101594. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101594>.
- Wang, Yao, Yuxuan Qin, Ying Zhang, Ruiyun Wu, e Pinglan Li. «Antibacterial Mechanism of Plantaricin LPL-1, a Novel Class IIa Bacteriocin against *Listeria Monocytogenes*». *Food Control* 97 (marzo 2019): 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.10.025>.
- Wu, Mengjie, Qingli Dong, Yue Ma, Shuo Yang, Muhammad Zohaib Aslam, Yangtai Liu, e Zhuosi Li. «Potential Antimicrobial Activities of Probiotics and Their Derivatives against *Listeria Monocytogenes* in Food Field: A Review». *Food Research International* 160 (ottobre 2022): 111733. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111733>.
- Zhou, Jiacheng, Eirini Velliou, e Seok Hoon Hong. «Investigating the Effects of Nisin and Free Fatty Acid Combined Treatment on *Listeria Monocytogenes* Inactivation». *LWT* 133 (novembre 2020): 110115. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110115>.

	Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Via G. Salvemini 1. 06126, Perugia - Italy	
Centralino Istituto	Tel. +39 075 3431 - Fax. +39 075 35047	
Rivista SPVet.it ISSN 1592-1581	Tel. +39 075 343207 e-mail: redazione-spvet@izsum.it; http://spvet.it; https://indice.spvet.it	
U. R. P.	Tel. +39 075 343223; Fax: +39 075 343289 e-mail: URP@izsum.it	



The interview is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. Permissions beyond the scope of this license may be available at <http://indice.spvet.it/adv.html>.