

# RICERCA DI *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN ALIMENTI E FRIGORIFERI DI CASE DI CURA

## **RESARCH OF *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN FOODS AND REFRIGERATORS OF PRIVATE HOSPITALS**

Murru N., Mormile A., Barile M., Pezone G.<sup>1</sup>

Dipartimento di Scienze Zootecniche e Ispezione degli alimenti di o.a. Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Napoli "Federico II"

<sup>1</sup>Veterinario ASL NA 1

### **SUMMARY**

The purpose of this study was to research *Listeria monocytogenes* (*L.m.*) in 90 different food and refrigerators samples collected in 13 private hospitals in Naples. *L.m.* was detected in 25g in 2 samples of chilled chicken and vacuum packed cooked ham. At the quantitative evaluation *L.m.* was detected in three samples of chilled chicken, vacuum packed cooked ham and minced meat at levels of 46 cfu/g, 0,36 cfu/g and 21cfu/g, respectively.

### **KEYWORDS**

*Listeria monocytogenes*, foods, refrigerator

### **INTRODUZIONE**

Il Community Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks del 2008 (1) riporta che il numero di casi di listeriosi, nei Paesi Europei, ha avuto un trend positivo soprattutto in particolari categorie come gli individui di età superiore a 65 anni che rappresentano quasi il 56% dei soggetti colpiti. *L.m.* rappresenta un pericolo in grado di compromettere la sicurezza di varie tipologie di alimenti, in particolar modo degli alimenti ready-to-eat, allorquando questi presentano caratteristiche di pH ed aw in grado di determinare sopravvivenza e crescita del microrganismo a temperature di refrigerazione. Pinner et, al. (1992) (2) hanno esaminato il ruolo svolto dagli alimenti in casi sporadici di listeriosi rilevando che l'11% di circa 2000 alimenti raccolti da frigoriferi di pazienti era contaminato da *L.m.* In 79 frigoriferi il ceppo isolato, sottoposto a specifiche analisi, è risultato lo stesso isolato dai pazienti.

L'esposizione della popolazione e delle categorie a rischio, come gli anziani, può anche dipendere dalla crescita di *L.m.* durante il periodo di conservazione in frigorifero dei prodotti ready-to-

eat. Secondo Richmond (2010) (3) *L.m.* è stata isolata fino al 62% delle cucine domestiche e nei frigoriferi la percentuale può arrivare al 10%. Numerose indagini riguardanti un vasto numero di frigoriferi, domestici e di rivendite al dettaglio, hanno riportato temperature superiori a +4°C, temperatura raccomandata da molti produttori di ready-to-eat, rilevando quindi situazioni che permettono la crescita di microrganismi psicrofili.

Scopo del lavoro è stato quello di valutare la presenza di *L.m.* in frigoriferi, collocati in case di cura private e ricoveri per anziani, e negli alimenti in essi contenuti all'atto del campionamento.

### **MATERIALI E METODI**

L'indagine è stata condotta presso i locali cucina di 11 case di cura e 2 ricoveri per anziani ubicati nella città di Napoli. Sono stati complessivamente prelevati n. 90 campioni di cui n. 49 unità campionarie di alimenti appartenenti a differenti tipologie (carni rosse e bianche refrigerate, prodotti di salumeria affettati e confezionati sottovuoto, latte in polvere ricostituito per lattanti, prodotti lattiero caseari freschi e stagionati, prodotti della pesca trasformati e

prodotti di gastronomia) e n. 41 tamponi effettuati su superfici dei frigoriferi, quali griglie interne, ripiani d'appoggio, guarnizioni, maniglie d'apertura dei frigoriferi (Tab.1). Le aree oggetto di prelievo mediante tampone sono state, dove possibile, pari ad una superficie di ~ 25 cm<sup>2</sup>. E' stata misurata, inoltre, mediante sonda, la temperatura interna dei frigoriferi.

Tutti i campioni sono stati trasportati, in contenitore isotermico a +4°C, presso il laboratorio della Sezione di Ispezione del Dipartimento di Scienze Zootecniche ed Ispezione degli alimenti per essere sottoposti alla ricerca di *Listeria* secondo le metodiche EN/ISO 11290-1/ EN/ISO 11290-2 riportate nel Regolamento (CE) 2073/2005 sui "Criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari".(4) Negli alimenti sono stati anche determinati il pH, mediante potenziometro Metteler Toledo (Pbi-international), e l'attività dell'acqua mediante activity-water Rotronic Igrolab (Pbi-international).

## RISULTATI

I risultati relativi alla ricerca di *L.m* sono riportati nella Tab.2. *L.m* è risultata presente, in 25g, in due unità campionarie, rispettivamente di pollo refrigerato e prosciutto cotto confezionato sottovuoto, prelevate dalla Casa di cura A.. Negli stessi campioni è risultata positiva anche alla metodica EN/ISO 11290-2, attestandosi a

livelli di 46 ufc/g nel pollo fresco refrigerato e di 0,36ufc/g nel prosciutto cotto confezionato sottovuoto. *L.m* è risultata presente anche in un campione di carne trita della Casa di cura E, a livelli di 21ufc/g.

*Listeria* spp. è stata isolata in 25 g in 7 u.c., in particolare *L. welshimeri ed innocua* da pollo fresco, *L. innocua* da prosciutto cotto confezionato sottovuoto e *L. ivanovii* da salame confezionato sottovuoto, tutti della casa di cura A; *L. welshimeri ed innocua* da filetto di merluzzo impanato congelato della Casa di cura C; *L. innocua* da formaggio affettato e carne trita della casa di cura D; *L. ivanovii* e *L. welshimeri* da carne trita della casa di cura E (Tab.3). *L.m* non è stata mai isolata dalle superfici interne ed esterne dei frigoriferi.

Le temperature, registrate mediante sonda all'interno dei frigoriferi, hanno mostrato una variazione di almeno 2 gradi superiore a quanto riportato sul display del termometro del frigorifero.

Tale evenienza è stata osservata in particolare nelle strutture A, D ed E dove i frigoriferi, regolati a temperature comprese tra 4° e 6°C, al rilevamento con la sonda hanno presentato una temperatura tra 6° e 8°C. I risultati relativi al pH e all'activity water sono riportati nella Tab.1.

Tabella 2

| Azienda | Matrice                                       | u.c. | <i>Listeria monocytogens</i> |                | <i>Listeria</i> spp.      |                |
|---------|---|------|------------------------------|----------------|---------------------------|----------------|
|         |   |      | EN/ISO 11290-1               | EN/ISO 11290-2 | EN/ISO 11290-1            | EN/ISO 11290-2 |
| A       | <i>Pollo refrigerato</i>                      | 1    | Presenza in 25 g             | 46 ufc/g       | L. welshimeri, L. innocua | Ass            |
|         | <i>Prosciutto cotto</i>                       | 1    | Presenza in 25 g             | 0.36 ufc/g     | L. innocua                | ass            |
|         | <i>Salame sottovuoto</i>                      | 1    | ass                          | ass            | L. ivanovii               | ass            |
| C       | <i>Filetto di merluzzo impanato congelato</i> | 1    | ass                          | ass            | L.innocua, L.welshimeri   | 9.3ufc/g       |
| D       | <i>Formaggio affettato</i>                    | 1    | ass                          | ass            | L. innocua                | 0.36ufc/g      |
|         | <i>Carne trita</i>                            | 1    | ass                          | ass            | L.innocua                 | 1.5ufc/g       |
| E       | <i>Carne trita</i>                            | 1    | ass                          | 21 ufc/g       | L. ivanovii; L.welshimeri | ass            |

Tabella 1. Distribuzione dei campioni nelle strutture

| Case di cura              | N. totale tamponi | Tipo Frigo / N.tamponi  | N. alimenti | Tipologia di alimento                         | pH   | a <sub>w</sub> |
|---------------------------|-------------------|---|-------------|---|------|----------------|
| A                         | 10                | Frigo magazzino/4<br>Frigo cucina/4<br>Frigo frutta-verdura/1<br>Frigo formaggi/1 | 14          | Latte fresco in confezione aperta             | ---  | ---            |
|                           |                   |   |             | Latte in polvere ricostituito                 | ---  | ---            |
|                           |                   |   |             | Latte fresco intero in confezione aperta      | ---  | ---            |
|                           |                   |   |             | Latte in polvere                              | ---  | ---            |
|                           |                   |   |             | Carne di manzo in fette                       | 6,09 | 0,971          |
|                           |                   |   |             | Carne di manzo in fette                       | 6,01 | 0,978          |
|                           |                   |   |             | Coscia di pollo fresco                        | 7,05 | 0,982          |
|                           |                   |   |             | Prosciutto cotto SV §                         | 5,64 | 0,978          |
|                           |                   |   |             | Mortadella SV §                               | 5,80 | 0,56           |
|                           |                   |   |             | Salame tipo Napoli SV §                       | 6,07 | 0,954          |
|                           |                   |   |             | Coppa tipo Parma SV §                         | 6,60 | 0,929          |
|                           |                   |   |             | Burro §                                       | 5,21 | 0,951          |
|                           |                   |   |             | Burro §                                       | 5,37 | 0,851          |
|                           |                   |   |             | Formaggio spalmabile §                        | 6,14 | 0,990          |
| B                         | 2                 | Frigo servizio/2  | 1           | Latte magro per lattanti                      | 6,70 | -              |
| C<br>Ricovero per anziani | 2                 | Frigo carni/1<br>Frigo verdure/1  | 7           | Polipetto scongelato                          | 7,33 | 0,967          |
|                           |                   |   |             | Filetto di merluzzo impanato congelato        | 6,86 | 0,973          |
|                           |                   |   |             | Pesce azzurro impanato congelato              | 6,61 | 0,976          |
|                           |                   |   |             | Medaglioni di merluzzo congelato              | 6,72 | 100            |
|                           |                   |   |             | Formaggio fresco spalmabile §                 | 4,72 | 0,950          |
|                           |                   |   |             | Formaggio grattugiato §                       | 6,58 | 0,968          |
|                           |                   |   |             | Latte e caffè §                               |      |                |
| D                         | -                 | -   | 8           | Prosciutto cotto preincarto §                 | 6,00 | -              |
|                           |                   |   |             | Formaggio a fette preincarto §                | 6,05 | -              |
|                           |                   |   |             | Carne trita                                   | 5,79 | -              |
|                           |                   |   |             | Pesce lesso §                                 | 7,36 | -              |
|                           |                   |   |             | Formaggio grattugiato §                       | 5,76 | -              |
|                           |                   |   |             | Formaggio spalmabile §                        | 5,96 | -              |
|                           |                   |   |             | Crescenza §                                   | 5,47 | -              |
|                           |                   |   |             | Pure di patate §                              | 5,86 | -              |
| E                         | 6                 | Frigo di servizio/2<br>Frigo carni bianche/2<br>Frigo carni rosse/2               | 12          | Bastoncini di pesce preincarto                | 7,01 | 0,894          |
|                           |                   |   |             | Frittata di verdure preincarto                | 8,22 | 0,897          |
|                           |                   |   |             | Prosciutto cotto affumicato preincarto        | 6,45 | 0,894          |
|                           |                   |   |             | Burro   | 5,42 | 0,820          |
|                           |                   |   |             | Latte in polvere ricostituito acqua rubinetto | --   | --             |
|                           |                   |   |             | Carne trita                                   | 5,93 | --             |
|                           |                   |   |             | Formaggio grattugiato                         | 5,60 | 0,890          |
|                           |                   |   |             | Formaggio fresco spalmabile                   | 5,10 | 0,895          |
|                           |                   |   |             | Uova in guscio                                | --   | --             |
|                           |                   |   |             | Confettura                                    | 3,9  | 0,891          |
|                           |                   |   |             | Crescenza                                     | 6,20 | 0,899          |
| Formaggio spalmabile §    | 5,10              | 0,945   |             |   |      |                |
| F                         | 11                | Frigo cucina/5<br>Frigo servizio/4<br>Frigo farmaci//2                            | 7           | Burro   | 6,2  | 0,869          |
|                           |                   |   |             | Formaggio grattugiato                         | 5,77 | 0,840          |
|                           |                   |   |             | Prosciutto cotto porzionato                   | 6,65 | 0,897          |
|                           |                   |   |             | Prosciutto crudo                              | 6,00 | 0,837          |
|                           |                   |   |             | Latte puerpera                                | --   | --             |
|                           |                   |   |             | Formaggio tipo Edammer                        | 5,94 | 0,882          |
|                           |                   |   |             | Pollo refrigerato                             | 6,28 | 0,900          |
| G                         | 2                 | Frigo ovo prodotti/2  | -           | -   | -    |                |
| H                         | 1                 | Frigo Lactarium/1   | -           | -   | -    |                |
| I                         | 1                 | Frigo Latticini/1   | -           | -   | -    |                |
| L<br>Ricovero per anziani | 1                 | Frigo Lactarium/1<br>????????????   | -           | -   | -    |                |
| M                         | 1                 | Frigo Servizio/1  | -           | -   | -    |                |
| N                         | 2                 | Frigo Latticini/2   | -           | -   | -    |                |
| O                         | 2                 | Frigo Servizio/2  | -           | -   | -    |                |

§ "Alimenti pronti che costituiscono terreno favorevole alla crescita di *L.monocytogenes*, diversi da quelli destinati ai lattanti ed a fini medici speciali" diversi da quelli con valori di pH ≤ 4,4 o di a<sub>w</sub> ≤ 0,92 o con pH ≤ 5,0 e a<sub>w</sub> ≤ 0,94, o una shelf-life 5 gg., in base al Reg 2073/05

## CONCLUSIONI

Il Regolamento (CE) 2073/2005 (5) sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari, stabilisce, nei criteri di sicurezza, che i prodotti ready-to-eat non debbono superare il limite di 100 ufc/g durante la conservabilità, suddividendo inoltre gli alimenti in categorie legate alle caratteristiche di pH e  $a_w$  responsabili di determinare o meno la crescita di *L.m*. In accordo con questa classificazione, n.34 delle unità campionarie complessivamente analizzate sono alimenti ready-to-eat, di cui 19 u.c. rientrano tra gli "alimenti che costituiscono terreno favorevole alla moltiplicazione di *Listeria monocytogenes*" con valori di pH > 4.4 o di  $a_w$  > 0.92 o pH > 5.0 e  $a_w$  > 0.94. Nell'ambito di quest'ultima tipologia *L.m* è stata isolata, in un solo campione di prosciutto cotto, attestandosi a livelli di 0.36 ufc/g, valore inferiore al limite di 100 ufc/g previsto dalla normativa.

Nonostante, nei campioni di carni fresche, quali il pollo refrigerato e la carne trita, siano risultati rispettati i limiti previsti dal Regolamento comunitario sui criteri microbiologici, bisogna considerare la possibilità di contaminazioni crociate e l'abuso termico registrato nei frigoriferi. In particolare i campioni di pollo refrigerato e prosciutto cotto della Casa di cura A sono stati prelevati dallo stesso frigorifero che era regolato a 4°C ma che, al momento del prelievo degli alimenti e della concomitante misurazione della temperatura, mediante sonda, ha presentato una temperatura di 8°C.

Le condizioni di abuso termico, la spiccata psicofilia del microrganismo, le caratteristiche di pH ed  $a_w$ , la tipologia di consumatori ai quali in questo caso era riservato l'alimento, rappresentano sicuramente fattori in grado di determinare la crescita del microrganismo.

Garrido et al. (2010) (6), in uno studio condotto mediante challenge test su prosciutto contaminato da *L.m* e conservato in frigoriferi domestici hanno dimostrato che il massimo della popolazione ( $N_{max}$ ) di *L.m* raggiunto a 9°C è in rapporto alla temperatura di stoccaggio. Alla temperatura del frigorifero di 9°C, con una contaminazione iniziale inferiore a 10 ufc/g di *L.m.*, sono stati necessari solo due o tre giorni di stoccaggio per superare il limite previsto dal Regolamento comunitario. Al fine di evitare queste evenienze l'OSA, secondo quanto previsto dalla normativa,

deve ricorrere a studi rivolti allo studio della crescita di *L.m* secondo quanto suggerito dal Documento Tecnico preparato dal Laboratorio Comunitario di Referenza per la *Listeria monocytogenes* (7).

Tra i fattori determinanti nel controllo della crescita del microrganismo, oltre agli studi sulla conservabilità, vi è sicuramente un rigoroso rispetto e controllo delle temperature di stoccaggio degli alimenti. Sono inoltre sempre più enfatizzate giustamente, negli ultimi anni, la formazione e l'informazione anche del consumatore finale.

In una struttura di degenza, in cui gli alimenti sono somministrati a categorie di popolazione ad alto rischio di sviluppare forme gravi di listeriosi alimentare, il rispetto delle buone pratiche d'igiene nella preparazione e somministrazione dei pasti, il corretto stoccaggio delle diverse categorie di alimenti e la puntuale implementazione delle procedure di detersione e sanificazione delle apparecchiature frigorifere rappresentano le condizioni indispensabili minime per ridurre il rischio di contaminazioni crociate e la formazione di biofilm.

## BIBLIOGRAFIA

1. The Community Summary Report on Trends and Source of Zoonoses, Zoonotic Agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008, The EFSA Journal (2010). 1496;
2. Pinner, R.W., Schuchat, A., Swaminathan, B., Hayes, P.S., Deaver, K.D., Weaver, R.E., Plikaytis, B.D., Reeves, M., Broome, C.V. and Wenger, J.D., 1992. Role of foods in sporadic listeriosis. II: Microbiologic and epidemiologic investigation. *Journal of American Medical Association* **267**, pp. 2046–2050.
3. Richmond
4. 4.
5. G.U. L338 del 22.12 2005.
6. Garrido V., Garcia- Jalón I., Vitas A.I., (2010) Food Control 21,896-901;
7. Commission of The European Communities – Guidance Document on *Listeria monocytogenes* shelf-life studies for ready-to-eat foods, under Regulation (EC) N. 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs