



Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

## Listeriosi



***Dr.ssa Maria Laura De Marchis***

*Zoonosi: epidemiologia sorveglianza e controllo*

*6,7 Ottobre - 10,11 Novembre - 1,2 Dicembre 2021*

***Infezioni da Escherichia coli produttore di tossine Shiga (STEC), listeriosi e yersiniosi***



## Listeriosi in UE (2019)

*Quinta malattia a trasmissione alimentare più frequentemente riferita in Europa*

**Segnalazioni**

**2621 casi confermati**

**Tasso di notifica**

**0.46 casi/100,000 abitanti**

Disease	Number of confirmed human cases	Hospitalisation				Deaths			
		Status available (%)	Number of reporting MS <sup>(b)</sup>	Reported hospitalised cases	Proportion hospitalised (%)	Outcome available (%)	Number of reporting MS <sup>(b)</sup>	Reported deaths	Case fatality (%)
Campylobacteriosis	220,682	29.1	16	20,432	31.8	78.0	17	47	0.03
Salmonellosis	87,923	44.5	15	16,628	42.5	71.8	17	140	0.22
STEC infections	7,775	37.3	18	1,100	37.9	61.0	20	10	0.21
Yersiniosis	6,961	27.4	15	648	22.9	57.0	14	2	0.05
Listeriosis	2,621	51.1	19	1,234	92.1	65.1	20	300	17.6
Tularaemia	1,280	22.8	12	149	51.0	21.6	13	1	0.36
Echinococcosis	739	33.3	14	109	44.3	31.4	14	2	0.86
Q fever	950	NA <sup>(c)</sup>	NA	NA	NA	67.3	13	4	0.63
West Nile virus infection <sup>(a)</sup>	443	83.7	9	347	93.5	99.3	11	52	11.8
Brucellosis	310	44.5	11	98	71.0	36.8	12	2	1.75
Trichinellosis	96	16.7	5	6	37.5	25.0	7	1	4.20
Rabies	4	NA <sup>(c)</sup>	NA	NA	NA	75.0	3	3	100.0

MS: Member State.

(a): Instead of confirmed human cases, the total number of human cases was included.

(b): Not all countries observed cases for all diseases.

(c): NA: Not applicable as the information is not collected for this disease.

**The European Union One Health 2019 Zoonoses Report**

European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control,  
27 February 2021





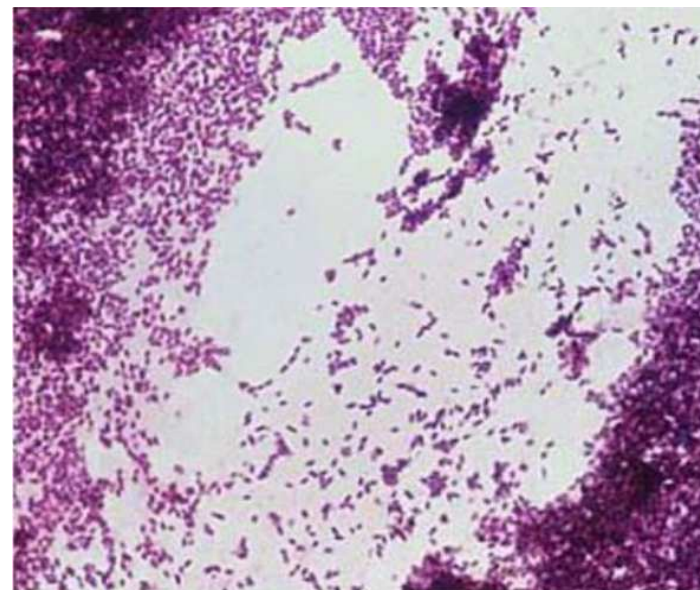
Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

## ***Listeria monocytogenes***

Classe: Bacilli Famiglia: Listeriaceae

- Gram positivo
- A forma di bastoncino
- Acapsulato
- Aerobio e anaerobio facoltativo
- Mobile tra i 22° C e i 28 °C (flagelli)
- Asporigeno
- Alotollerante** (fino a 20% NaCl)
- Psicrofilo** (-1,5°- 45°C)
- 4,3 < pH < 9,6
- 0,90 < Aw
- Catalasi positivo
- Ossidasi negativo

## Eziologia





## Produzione di biofilm

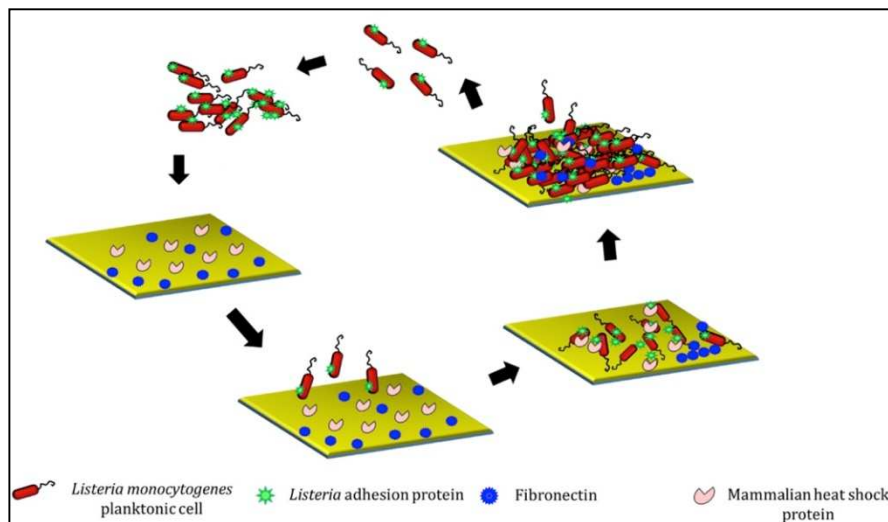


Immagine tratta da: Microb Pathog 2020 Dec;149:104575.. Kannah et al. 2020

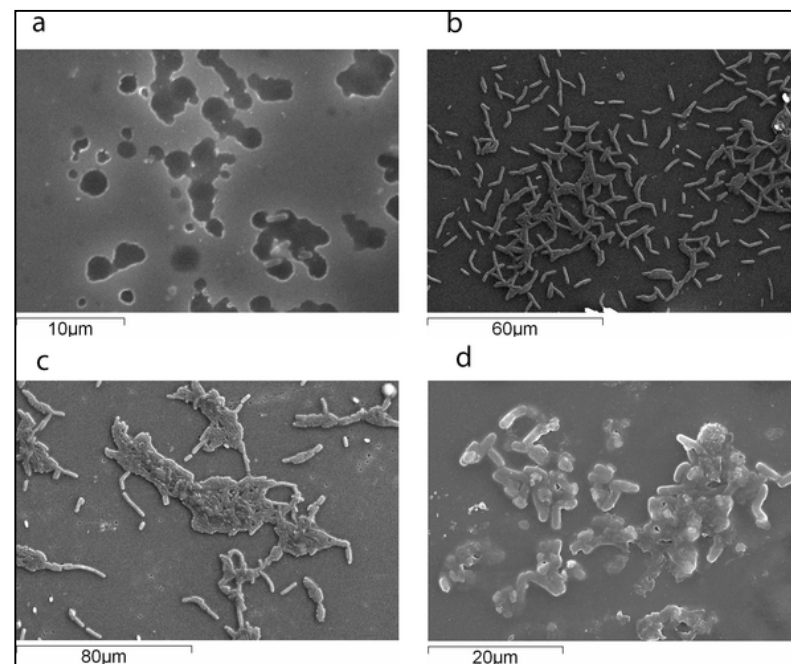


Immagine tratta da: Doijad SP, Barbuddhe SB, Garg S, Poharkar KV, Kalorey DR, et al. (2015)

**BIOFILM** → aggregato di cellule batteriche incluse in una matrice polisaccaridica. Favoriscono l'adesione di *L. monocytogenes* alle superfici di lavoro e ne aumentano la resistenza ai disinfettanti rendendo difficile la sua eliminazione dagli ambienti di lavoro.



## Fonti di contaminazione

***L. monocytogenes* è un microorganismo ubiquitario**

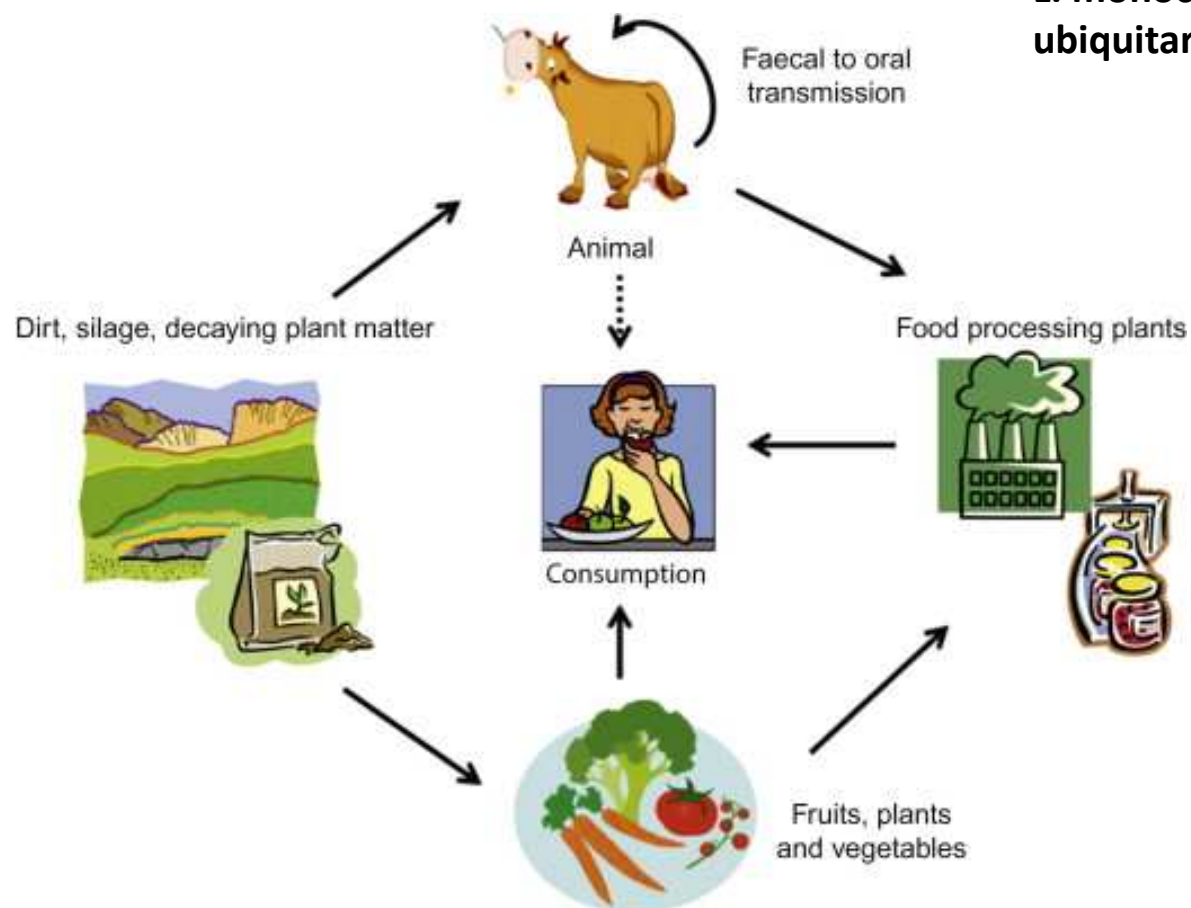
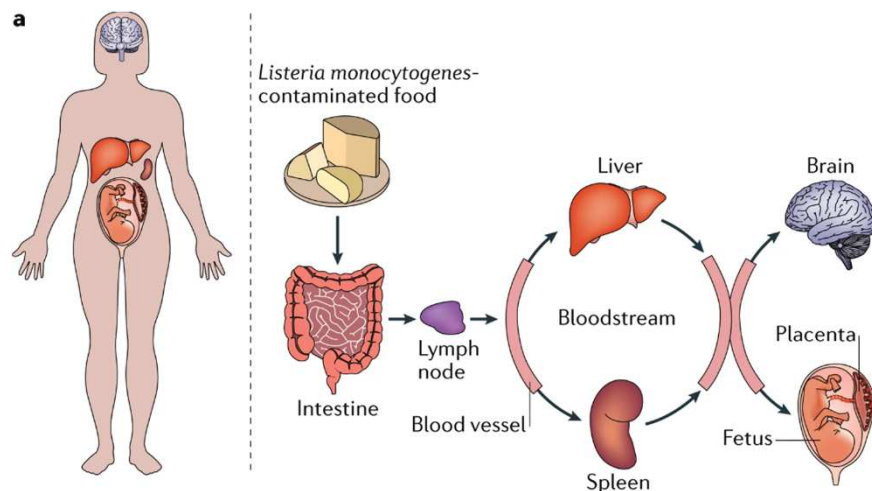


Immagine tratta da: McMullen & Freitag. Molecular Medical Biology  
Vol. 2 2015, 1345-1361. Chapter 74: *Listeria monocytogenes*





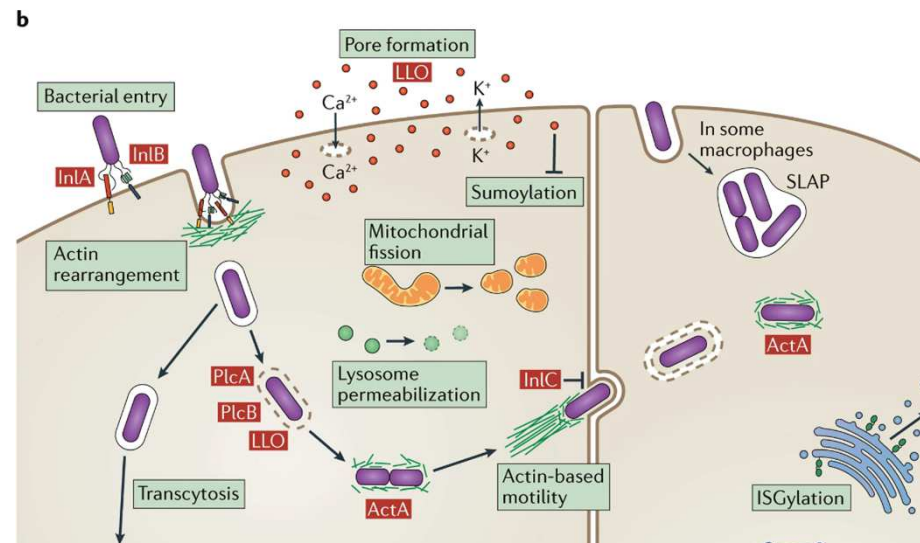
Penetrazione del patogeno per via alimentare

Capacità di superare tre barriere:

- Intestinale
- Emato-cerebrale
- Materno-fetale

Immagine tratta da: Radoshevich L, Cossart P. *Listeria monocytogenes*: towards a complete picture of its physiology and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol.* 2018 Jan;16(1):32-46.

## Fattori di patogenicità



- Capacità di sopravvivere alla fagocitosi dei macrofagi
- Capacità di invadere le cellule grazie all'attività di specifiche proteine: le internaline (Inl A e Inl B)
- Capacità di uscire dal vacuolo tramite la produzione di Listeriolisina O





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

## La malattia nell'uomo

### **Forme non invasive (in soggetti non immunocompromessi):**

- Febbre
- Diarrea
- Dolori addominali
- Mialgia
- Mal di testa

Incubazione di 6-40 h

Sindrome autolimitante

I sintomi scompaiono dopo 24-28 ore senza trattamenti antimicrobici

### **Forme invasive non perinatali (in soggetti immunocompromessi e anziani):**

- Meningite (26-54% dei casi)
- Meningoencefalite
- Romboencefalite
- Ascessi cerebrali

Periodo di incubazione variabile (3-70 giorni)

Batteriemia (coinvolgimento del SNC)

### **Forme invasive perinatali (in donne gravide e loro feti/neonati):**

- Nella madre febbre, tremori, emicrania e leucocitosi
- Nel neonato infezioni, polmonite, batteriemia e meningite
- Aborti (20% dei casi) e parti precoci





## L. monocytogenes negli alimenti

### ALIMENTI A RISCHIO:

→ READY TO EAT (pronti al consumo)

- Latte crudo/non pastorizzato
- Formaggi
- Gelati
- Verdure
- Carni rosse crude
- Insaccati e altri prodotti a base di carne (salsicce e wurstel)
- Pesce marinato/affumicato/insalate di mare
- Carni fresche di pollame

RTE food category <sup>(a)</sup>	Processing stage <sup>(b)</sup>		Retail <sup>(c)</sup>	
	Analytical method <sup>(d)</sup>			
	Detection	Enumeration	Detection	Enumeration
<b>Foods intended for infants and for medical purposes<sup>(e)</sup></b> : data reported from BE, CY, EE, ES, RO, SK and SI			0.00 (N = 716; 7 MS) <sup>(f)</sup>	
<b>Fish<sup>(g)</sup></b> : data reported from BE, BG, CY, DK, EE, ES, LV and SI	5.8 (N = 469; 5 MS)			1.9 (N = 571; 8 MS)
<b>Fishery products<sup>(h)</sup></b> : data reported from AT, BE, BG, CY, DK, EE, ES, HR, LV, RO, SK and SI	2.5 (N = 325; 9 MS)			1.5 (N = 651; 11 MS)
<b>Cheeses, soft and semi-soft<sup>(i)</sup></b> : data reported from AT, BE, BG, CY, DK, EE, ES, HR, LU, RO and SK	0.70 (N = 2,005; 9 MS)			0.06 (N = 1,551; 9 MS)
<b>Cheeses, hard<sup>(j)</sup></b> : data reported from AT, BG, CY, DK, EE, ES, HR, RO and SK		8.9 (N = 79; 6 MS)		0.00 (N = 90; 7 MS)
<b>Cheeses, unspecified<sup>(k)</sup></b> : data reported from AT, BE, EE, ES, HR, GR and SI	1.2 (N = 84; 5 MS)			0.40 <sup>(q)</sup> (N = 250; 3 MS)
<b>Other dairy products (excluding cheeses) – entire category<sup>(l)</sup></b> : data reported from AT, BE, BG, CY, DK, HR, EE, ES, GR, RO, SK, SI	0.30 (N = 671; 9 MS)			0.00 <sup>(q)</sup> (N = 829; 9 MS)
<b>Milk<sup>(m)</sup></b> : data reported from AT, BG, EE, ES, HR, RO and SK	1.2 (N = 84; 6 MS)			0.00 <sup>(q)</sup> (N = 31; 5 MS)
<b>Products of meat origin, fermented sausages<sup>(n)</sup></b> : data reported from BE, BG, DK, EE, ES, HR and SK		2.9 <sup>(q)</sup> (N = 240; 6 MS)		2.1 <sup>(q)</sup> (N = 242; 6 MS)
<b>Products of meat origin, other than fermented sausages<sup>(o)</sup></b> : Data reported from AT, BE, BG, CY, DK, EE, ES, HR, LU, LV, RO, SK and SI	2.5 (N = 4,886; 10 MS)			0.65 <sup>(q)</sup> (N = 2,295; 12 MS)
<b>Other products<sup>(p)</sup></b> : data reported from BE, BG, CY, DK, EE, ES, LV, RO, SK and SI	0.20 (N = 2,036; 7 MS)			0.23 (N = 5,585; 10 MS)

### The European Union One Health 2019 Zoonoses Report

European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control,  
27 February 2021





## REGOLAMENTO (CE) n. 2073/2005 DELLA COMMISSIONE

del 15 novembre 2005

### sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari

Categoria alimentare	Microrganismi/loro tossine, metaboliti	Piano di campionamento <sup>(1)</sup>		Limiti <sup>(2)</sup>		Metodo d'analisi di riferimento <sup>(3)</sup>	Fase a cui si applica il criterio
		n	c	m	M		
1.1 Alimenti pronti per lattanti e alimenti pronti a fini medici speciali <sup>(4)</sup>	<i>Listeria monocytogenes</i>	10	0	Assente in 25 g		EN/ISO 11290-1	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità
1.2 Alimenti pronti che costituiscono terreno favorevole alla crescita di <i>L. monocytogenes</i> , diversi da quelli destinati ai lattanti e a fini medici speciali	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g <sup>(5)</sup>		EN/ISO 11290-2 <sup>(6)</sup>	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità
		5	0	Assente in 25 g <sup>(7)</sup>		EN/ISO 11290-1	Prima che gli alimenti non siano più sotto il controllo diretto dell'operatore del settore alimentare che li produce
1.3 Alimenti pronti che non costituiscono terreno favorevole alla crescita di <i>L. monocytogenes</i> , diversi da quelli destinati ai lattanti e a fini medici speciali <sup>(4)</sup> <sup>(8)</sup>	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g		EN/ISO 11290-2 <sup>(6)</sup>	Prodotti immessi sul mercato durante il loro periodo di conservabilità

<sup>(5)</sup> Questo criterio si applica se il produttore è in grado di dimostrare, con soddisfazione dell'autorità competente, che il prodotto non supererà il limite di 100 ufc/g durante il periodo di conservabilità. L'operatore può fissare durante il processo limiti intermedi sufficientemente bassi da garantire che il limite di 100 ufc/g non sia superato al termine del periodo di conservabilità.

<sup>(6)</sup> 1 ml di inoculo viene posto su una piastra di Petri di 140 mm di diametro o su tre piastre di Petri di 90 mm di diametro.

<sup>(7)</sup> Questo criterio si applica ai prodotti prima che non siano più sotto il controllo diretto dell'operatore del settore alimentare che li produce, se questi non è in grado di dimostrare, con soddisfazione dell'autorità competente, che il prodotto non supererà il limite di 100 ufc/g durante il periodo di conservabilità.

<sup>(8)</sup> I prodotti con  $\text{pH} \leq 4,4$  o  $a_w \leq 0,92$ , i prodotti con  $\text{pH} \leq 5,0$  e  $a_w \leq 0,94$ , i prodotti con un periodo di conservabilità inferiore a 5 giorni sono automaticamente considerati appartenenti a questa categoria. Anche altri tipi di prodotti possono appartenere a questa categoria, purché vi sia una giustificazione scientifica.





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

ISO 11290-1:2017

ISO 11290-1:2017

Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. — Part 1: Detection method

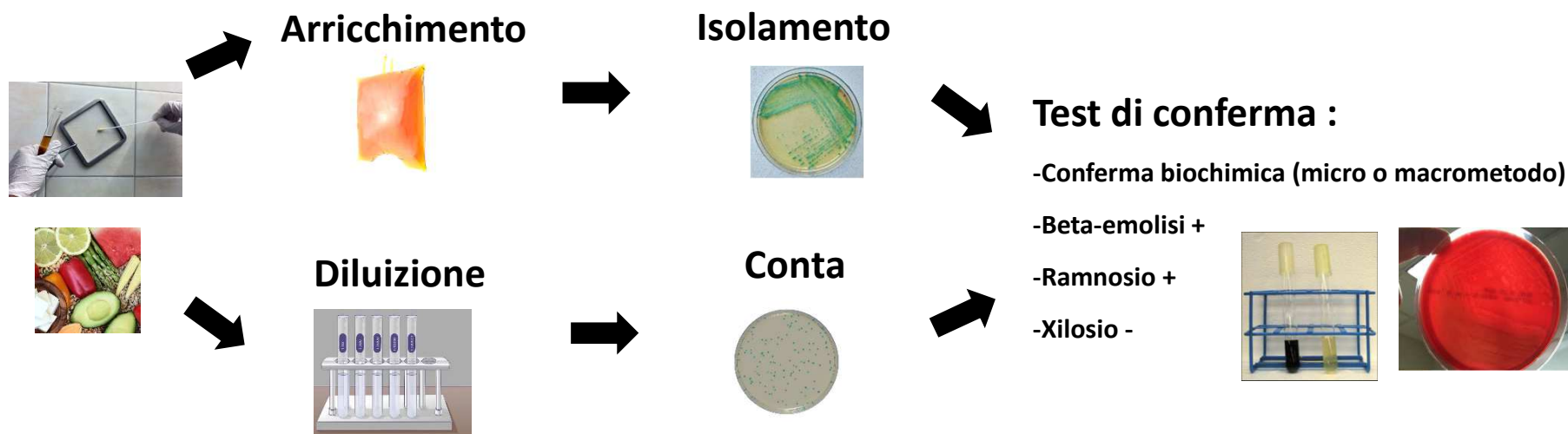
ISO 11290-2:2017

ISO 11290-2:2017

Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. — Part 2: Enumeration method

## Ricerca di *L.monocytogenes* negli alimenti e nell'ambiente

### • Metodi colturali qualitativi e quantitativi



### • Metodi rapidi certificati e validati di detection basati su protocolli di Real Time PCR e saggi immunologici (ELFA) per lo screening rapido dei negativi





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

## METODICHE TRADIZIONALI

### • Identificazione sierologica:

- Basata sulla caratterizzazione degli antigeni somatici (O) e flagellari (H)

- 13 sierotipi noti

### • Elettroforesi su gel in campo pulsato (PFGE)

### • MLVA



## METODICHE ATTUALI

### • Sierogruppo molecolare (multiplex PCR)

• Sequenziamento dell'intero genoma (WGS) tramite Next Generation Sequencing (NGS) per:

✓ SNP analysis

✓ MLST (Clonal complex e Lineage)

✓ cgMLST (individuazione dei cluster epidemici)

✓ wgMLST

## Tipizzazione di *L.monocytogenes*

### APPLICAZIONI delle analisi di genomica:

• Attività di sorveglianza (individuazione di focolai)

• Indagini epidemiologiche correlate a MTA (attribuzione delle fonti)

• Valutazione dei geni della virulenza/persistenza/tolleranza ai biocidi

• Analisi filogenetiche



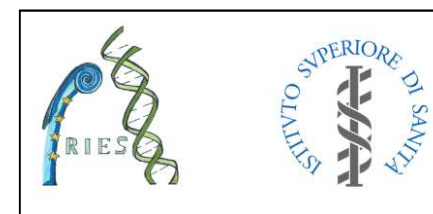


## *Listeria monocytogenes:* attività presso l'IZSLT

- **DGPRES - 00008252 - Ministero della Salute (13 marzo 2017)**  
**Nota circolare “Sorveglianza e prevenzione delle Listeriosi”**

• In caso sia accertata, a seguito dell'indagine epidemiologica, l'origine alimentare dell'infezione, i campioni alimentari ed eventuali campioni ambientali ed animali devono essere inviati anche al Laboratorio Nazionale di Riferimento (LNR), presso l'Istituto Zooprofilattico Abruzzo e Molise → Alimentazione del sistema applicativo SEAP con i metadati ed i dati di tipizzazione sierologica. Invio degli isolati e dei dati di sequenziamento al LNR.

• Gli isolati clinici devono essere inviati al laboratorio di riferimento dell'Istituto Superiore di Sanità (Operational Contact Point dell'ECDC per la listeriosi), per la caratterizzazione del ceppo → Alimentazione della piattaforma IRIDA Aries con i metadati, i dati di tipizzazione sierologica e di sequenziamento in NGS ed invio degli isolati all'ISS.



### **Regione Lazio**

DIREZIONE SALUTE ED INTEGRAZIONE SOCIO SANITARIA

Atti dirigenziali di Gestione

Determinazione 28 maggio 2021, n. G06447

Definizione della composizione del Gruppo Regionale per la gestione delle Malattie trasmesse da alimenti (MTA) e individuazione del laboratorio regionale di riferimento per le malattie trasmesse da alimenti e per i patogeni a trasmissione alimentare isolati dall'uomo.





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

## *Listeria monocytogenes:* attività di ricerca

- **PROGETTO DI RICERCA CORRENTE IZS LT 02 /19 RC**

Modello per la caratterizzazione di agenti patogeni a trasmissione alimentare e interscambio dati di tipizzazione molecolare in ottica One-Health

### **UNITA' OPERATIVE (IZSLT, ISS, IZSAM)**

#### **OBIETTIVI:**

- studio pilota di interscambio di dati di caratterizzazione molecolare (Molecular Typing Data) di agenti batterici patogeni responsabili di malattia a trasmissione alimentare (*Listeria monocytogenes* ed *E. coli* STEC)
- Gestione metadati e dati analitici su piattaforme condivise
- Integrazione con dati epidemiologici
- Attività di supporto in corso di indagini epidemiologiche legate ad episodi di MTA



Article

#### **A Nosocomial Outbreak of Invasive Listeriosis in An Italian Hospital: Epidemiological and Genomic Features**

Valeria Russini <sup>1,\*</sup>, Martina Spaziantè <sup>2,3</sup>, Tiziana Zottola <sup>3</sup>, Anna Giovanna Fermani <sup>4</sup>, Gina Di Giampietro <sup>3</sup>, Giovanni Bianco <sup>5</sup>, Paolo Fabietti <sup>5</sup>, Riccardo Marrone <sup>5</sup>, Roberta Parisella <sup>5</sup>, Sergio Parrocchia <sup>5</sup>, Teresa Bossù <sup>1</sup>, Stefano Bilei <sup>4</sup> and Maria Laura De Marchis <sup>1,\*</sup>





Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

**Grazie per l'attenzione!**

