

RISCHI MICROBIOLOGICI DEL CONSUMO DEI MOLLUSCHI

BATTERI PATOGENI

Salmonella spp.

Il genere *Salmonella*, appartenente alla famiglia delle *Enterobacteriaceae*, è costituito da microrganismi di forma bastoncellare, Gram-negativi, tipici della flora microbica intestinale dei vertebrati a sangue caldo e, di conseguenza, rientra nella cosiddetta microflora secondaria o alloctona del pescato. Poiché il principale serbatoio di diffusione nell'ambiente è sempre costituito dalle feci d'animali da allevamento e uomo, è verosimile che i prodotti della pesca possano inquinarsi con *Salmonella* spp. in due modi essenziali: per contatto con acque costiere, dolci o salmastre, in prossimità di foci di fiume o scarichi fognari; per inquinamento da manipolazione secondaria in fase di lavorazione (decapitazione, sfilettatura, ecc.), per inquinamento d'attrezzi di lavoro, superfici, ecc. non va dimenticato che a volte anche l'uomo può fungere da portatore asintomatico del microrganismo. *Salmonella* è un patogeno noto come causa di tossinfezione a partire da alimenti quali: carni (di pollo, suino e bovino) e uova, nei prodotti ittici la presenza è aumentata da quando si è sviluppata l'importazione da paesi terzi, dove l'igiene di lavorazione è abbastanza scarsa.

I molluschi bivalvi vivi sono i prodotti della pesca più a rischio, seguiti da filetti di pesce e crostacei cotti sgusciati.

La prevenzione delle Salmonellosi da consumo di prodotti ittici si basa sul controllo della lavorazione nei paesi terzi e dei prodotti importati. A rischio i bivalvi allevati in prossimità di foci di fiumi di provenienza da zone altamente urbanizzate ed a vocazione zootecnica: controllo delle acque di produzione.

Sebbene la legislazione nazionale sia molto restrittiva riguardo la contaminazione da *Salmonella*, in quanto ne esige l'assenza in 25 g di prodotto, va considerato che non sempre la sua presenza è associata a malattia. Dei circa 2500 sierotipi o sierovarietà di *Salmonella* oggi identificati, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. newport* e *S. heidelberg* sono tra quelli maggiormente implicati nelle tossinfezioni alimentari.

Shigella spp

La *Shigella* è un germe Gram-negativo il cui serbatoio di diffusione permanente è rappresentato dall'uomo che funge da eliminatore attraverso le feci, per cui i prodotti della pesca possono risultare già inquinati all'origine (se provengono o sono messi a contatto con acque costiere) oppure possono essere contaminati in fase di lavorazione, nel caso di prodotti trasformati. Le shigelle sono gli agenti eziologici della dissenteria bacillare e, tra queste, la *S. dysenteriae* occupa uno spazio particolare nella sanità pubblica perché causa infezioni molto gravi che possono determinare epidemie esplosive e pandemie. Questi microrganismi hanno la capacità di sviluppare una forte resistenza a numerosi antibiotici e producono una esotossina citotossica. La Shigellosi viene contratta tramite ingestione di acqua od alimenti contaminati per via fecale. Questi microrganismi sono in grado di tollerare l'acidità gastrica e possono essere rinvenuti nello stomaco 20 ore dopo l'ingestione. In generale tutti gli alimenti possono essere a rischio di causare shigellosi nel consumatore anche se i prodotti della pesca sembrano tra quelli più probabili. Fra le principali cause di infezione si ricordano: scarse condizioni igieniche, utilizzo di acque contaminate, consumo di prodotti ittici contaminati crudi o poco cotti. La Shigellosi può essere efficacemente controllata con un adeguato smaltimento delle feci e assicurando una idonea distribuzione di acqua potabile. Acquistano quindi grande valore l'educazione volta ad una corretta igiene personale e nella preparazione dei cibi: il frequente ed accurato lavaggio delle mani assume una significativa importanza persino nelle aree ad elevata endemia.

Vibrio spp

I vibriani sono germi Gram-negativi molto comuni in ambienti acquatici. Molti di questi microrganismi sono del tutto saprofiti e presenti negli strati superficiali del terreno ed acque. Altri sono invece potenzialmente patogeni per l'uomo sia per consumo di alimenti inquinati che per contagio diretto tramite piccole ferite. Tutti i prodotti della pesca ed in particolare molluschi e crostacei sono tra gli alimenti più a rischio di infezione e la loro presenza è collegata a fenomeni di inquinamento. Si tratta di microrganismi tendenzialmente poco resistenti alle condizioni ambientali avverse e che sono facilmente inattivati dai vari trattamenti di conservazione cui possono essere sottoposti gli alimenti (cottura, disidratazione, essiccamento, aggiunta di sostanze acide, etc.). Mentre la maggior parte degli appartenenti al genere *Vibrio* non determinano malattia, le specie patogene che suscitano maggiormente preoccupazione per i consumatori di frutti di mare sono: *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* e *Vibrio alginolyticus*. Il primo una volta ingerito attraverso il consumo di molluschi e crostacei crudi o poco cotti, può causare gastroenterite entro 24 ore e la malattia può durare fino a tre giorni. L'effetto patogeno avviene per la produzione di due tossine. Nelle tossinfezioni da *V. cholerae* e *parahaemolyticus* non vi è evidenza di una produzione di tossine preformate nell'alimento ed è necessaria una elevata carica microbica per scatenare l'evento tossinfettivo. La dose infettante può essere però notevolmente ridotta se, per esempio, vi è contemporanea assunzione di sostanze antiacido. *Vibrio vulnificus* di solito non determina sintomi clinici in persone in buona salute, ma può causare gastroenteriti e setticemie in soggetti ad alto rischio come quelli con malattia epatica o con un sistema immunitario indebolito. *Vibrio alginolyticus* è uno dei germi responsabili della produzione di tetratossina.

Vibrio cholerae

Agente eziologico di epidemie e pandemie gastroenteriche soprattutto nei paesi che sono per tradizione forti consumatori di pesce crudo (Giappone, India, America latina ecc.). Ma tale patologia, che si caratterizza con una diarrea profusa incolore e biancastra – si parla infatti di “feci ad acqua di riso”-, è stata negli anni passati descritta anche nel nostro paese, in conseguenza del lavaggio dei prodotti della pesca con acque non idonee o per consumo di MEL raccolti da acque non autorizzate. La patogenicità di *V. cholerae* sierogruppo O1 è legata alla produzione della tossina colerica (CT).

Mutanti di *V. cholerae* privi di tale tossina sono ancora in grado di causare diarrea ma in questi casi la patologia è indotta da una seconda tossina simile a quella di *Shigella*. Nell'ambito di *V. cholerae* esistono ceppi non appartenenti al sierogruppo O1 causanti fenomeni gastroenterici per lo più isolati e mai fino ad ora coinvolti in epidemie; tali ceppi sono stati definiti *V. cholerae* non O1. Studi sperimentali hanno dimostrato la produzione di una tossina simile a quella colerica. Nell'ambito di *V. cholerae* esistono ceppi non appartenenti al sierogruppo O1 bensì al sierogruppo O139, con caratteristiche di patogenicità *in vivo* ed *in vitro* e coinvolti in episodi epidemici. Tali ceppi sono stati definiti *V. cholerae* O139 ed in essi è stata isolata una tossina analoga a quella colerica classica.

Aeromonas spp.

Microrganismo Gram-negativo appartenente alla famiglia *Vibrionaceae*. *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. veronii* *biot. veronii* sono state identificate quali agenti eziologici di patologie umane. Risulta cosmopolita dei sistemi acquatici grazie alla capacità di sopravvivenza a diverse condizioni ambientali: è presente nei fiumi, laghi, acque marine (soprattutto costiere) e nelle acque di scarico. Possiede diversi fattori di virulenza ma non è ancora chiarito come tali fattori contribuiscano alla patogenicità del microrganismo. Le patologie associate ad *Aeromonas* possono avere localizzazione intestinale ed extraintestinale: in questo caso si possono avere setticemie, meningiti, infezioni da ferite che possono esitare anche nella morte del paziente quando esso risulti immunocompromesso. Finora sono stati segnalati solo casi isolati e mai episodi epidemici da attribuire con certezza a questo microrganismo. Generalmente provoca diarrea con feci acquose o diarrea con contemporanea emissione di sangue e muco nelle feci. Entrambe le patologie sono comunque autolimitanti e si risolvono nel giro di 24-48 h. Non vi è produzione di tossina preformata negli alimenti. Per scatenare l'evento tossinfettivo è necessaria una elevata carica del microrganismo sull'alimento. I fattori che contribuiscono a rendere questo microrganismo particolarmente insidioso negli alimenti sono la capacità di crescita a basse temperature e la resistenza ad alcuni disinfettanti comunemente utilizzati come il cloro. Una ricerca routinaria di tale microrganismo nelle feci, alimenti ed acque non viene attualmente condotta in Italia. Strategie di controllo sono il consumo esclusivamente dopo cottura adeguata, l'assenza di ricontaminazioni crociate post-cottura, la conservazione a 4°C fino al momento del consumo in quanto, nonostante la psicrofilia del germe, le basse temperature rallentano comunque la moltiplicazione ed allungano quindi il tempo necessario al raggiungimento delle concentrazioni a rischio per la tossinogenesi.

Virus epatici ed enteropatogeni

Epatite A

Poiché i frutti di mare sono organismi filtratori in grado di concentrare gli agenti patogeni al loro interno, tra i possibili rischi bisogna annoverare anche il virus dell'epatite A (HAV). La sua identificazione nei molluschi è difficile per diversi motivi: la concentrazione del virus nei tessuti dei frutti di mare è generalmente molto bassa, i metodi di rilevazione basati sulla propagazione *in vitro* non sono attendibili, il recupero di virioni da tessuti di molluschi è inefficiente e gli inibitori della PCR nei tessuti di molluschi limitano il successo di tecniche biomolecolari. Questi fattori sono alla base delle difficoltà nella determinazione di causa ed effetto fra l'epatite A e l'individuazione di focolai di contaminazione da HAV in campioni di molluschi. La malattia che ha un corso acuto e iperacuto ha un periodo di incubazione di 4 settimane ed è caratterizzata da febbre improvvisa, nausea, sintomi intestinali e dalla comparsa di ittero dopo circa una settimana. Esiste tuttavia un vaccino efficace contro la malattia.

Norovirus

I *Norovirus* della famiglia dei *Caliciviridae* fanno parte di un gruppo di virus che provocano gastroenteriti (insieme ai *Rotavirus*, *Adenovirus* e *Sapovirus*). Arrivano sulle nostre tavole attraverso alimenti contaminati come frutta, verdura, bevande e soprattutto frutti di mare come ostriche e cozze consumati crudi o poco cotti.

Anche in questo caso i frutti di mare che si nutrono attraverso la filtrazione dell'acqua, in presenza di *Norovirus* o di altri microorganismi, sono in grado di concentrarli a livello di epatopancreas. L'elevata stabilità ambientale di *Norovirus*, la contaminazione fecale delle acque e la bassa dose infettante sono alla base dell'elevata diffusione di questo virus. L'uomo presenta un tempo d'incubazione della malattia che non supera le 48 ore. Il sintomo principale che caratterizza l'infezione è il vomito compulsivo accompagnato da crampi addominali, cefalea, diarrea e a volte febbre. La malattia dura circa 48 ore e durante il decorso il rischio di diffusione del virus è elevato fino a 48 ore dopo la fine della sintomatologia. La breve durata dei sintomi e le varie difficoltà di diagnosi in molti casi non permettono l'identificazione della malattia; ne deriva una sottostima sull'effettiva diffusione di *Norovirus* nella popolazione. L'approccio diagnostico usato in virologia è basato generalmente sull'isolamento del virus in colture cellulari, ma i virus appartenenti alla famiglia dei *Caliciviridae* non sono in grado di replicare su colture cellulari da qui la difficoltà diagnostica.

Le tecniche usate per la rilevazione di *Norovirus* nelle feci sono la Microscopia Elettronica Diretta ma per visualizzare le particelle virali mediante tali tecniche, la concentrazione del virus nelle feci deve essere molto alta. In questo momento le tecniche di biologia molecolare rappresentano gli strumenti più utilizzati per la rilevazione di *Norovirus* nelle feci, campioni alimentari e ambientali.