

# CLOSTRIDIUM BOTULINUM

## QUARANTA

SC Igiene della produzione, trasformazione, commercializzazione, conservazione e trasporto alimenti di origine animale

Scheda di descrizione di pericolo fisico/chimico/biologico trasmissibile con gli alimenti

Nome pericolo

**Clostridium botulinum**

Famiglia

*Clostridiaceae*

Genere

*Clostridium*

Regno

Batterio

Tipologia di pericolo

Agente zoonotico (nota1) agente responsabile di severe forme di malattie alimentari nell'uomo e negli animali, sia sotto forma di intossicazioni (causate dall'ingestione di tossina preformata nell'alimento), sia come tossinfezioni (colonizzazione intestinale e formazione di tossine in situ). Sono bacilli Gram positivi, anaerobi stretti e sporigeni. I ceppi di *C. botulinum* sono molto eterogenei relativamente alle loro caratteristiche colturali, biochimiche e genetiche e sono divisi in quattro gruppi. Inoltre, determinati ceppi atipici, più raramente isolati in Europa, appartenenti ad altre specie di *Clostridium*, sono anch'essi neurotossinogeni: *C. butyricum* (neurotossina botulina E) e *C. baratii* (neurotossina botulinica F). Tranne qualche eccezione, ogni ceppo produce un solo tipo di tossina botulinica.

Le tossine botuliniche si dividono in sette tipi (da A a G) in base alle loro proprietà immunologiche, ciascuna viene neutralizzata tramite un siero specifico.

Inoltre, in base alle proprie sequenze amminoacidiche, per ogni tipo di tossina botulinica, sono stati identificati dei sottotipi di tossina (si veda la tabella 1).

Tabella 1 Caratteristiche di sopravvivenza, di crescita e di tossinogenesi dei vari gruppi di *Clostridium botulinum* in condizioni di laboratorio (Ultimo aggiornamento agosto 2019).

	C. botulinum Gruppo I proteolitico			C. botulinum Gruppo II non proteolitico			C. botulinum Gruppo III non proteolitico			C. botulinum Gruppo IV proteolitico		
Tossine	A,B,F			B,E,F			C,D			G		
Condizioni di Crescita	Minime	Ottimali	Massime	Minime	Ottimali	Massime	Minime	Ottimali	Massime	Minime	Ottimali	Massime
Temperature (°C)	10	35-40	48	2,5	18-25	45	15	37-40	/	/	37	/
pH	4,6	/	9	5	7	9	5,1	6,1-6,3	9	4,6	7	/
aW	0,94	/	/	0,97	/	/	0,97	/	/	0,94	/	/
%NaCl che inibisce la crescita	10			5			5			10		
<b>Produzione di tossine</b>												
Temperatura minima (°C)	10			3			15			/		
AW minima	0,94			0,97			0,97			0,94		

Nota 1: Agente responsabile di una malattia o di una infezione che può trasmettersi dall'animale all'uomo o dall'uomo all'animale.

## Fonti del pericolo

Il serbatoio di *Cl. botulinum*, come per gli altri clostridi, è l'ambiente: terreno, polvere, sedimenti di acqua di mare o di acqua dolce, acque contaminate, liquami, e occasionalmente, il contenuto dell'apparato digerente dell'uomo e degli animali asintomatici.

Esistono zone di distribuzione geografica differenti, a seconda dei tipi di *Clostridium botulinum*. Così, infatti, *C. botulinum* A è frequentemente riscontrato nei terreni dell'Ovest degli Stati Uniti e in America del Sud. Il tipo B, in Europa e nella parte Est dell'America del Nord, il tipo E, nei paesi del Nord dell'emisfero Nord. Tuttavia, *C. botulinum* A e B sono meno associati ad una zona geografica, per via della molteplicità degli scambi economici. I tipi C e D si riscontrano particolarmente nei paesi a clima caldo e in quelli a clima temperato durante le stagioni calde.

Il botulismo è una malattia umana ed animale, ma non è documentato alcun caso di trasmissione diretta tra un animale con infezione da botulismo e l'uomo. D'altro canto, non esiste un nesso epidemiologico dimostrato tra i focolai di botulismo umano ed i focolai di botulismo animale.

Il botulismo animale è più spesso causato dai tipi C (uccelli, visoni) o D (bovini, palmipedi). D'altro canto, *C. botulinum* si ritrova ugualmente nel tubo digerente di animali asintomatici: di maiale (tipo B), pesci del Mar Baltico (tipo E). Le fonti di contaminazione dell'animale sono alimentari e le misure di prevenzione consistono nella corretta gestione dalla contaminazione degli alimenti per animali nel rapido smaltimento degli animali morti.

## Vie di trasmissione

*Clostridium botulinum* è un agente zoonotico. La malattia non è trasmissibile tra individui. Essa risulta più frequentemente causata dall'ingestione di alimenti.

Possono essere distinte tre forme di botulismo, a seconda delle modalità di contaminazione:

L'intossicazione botulinica: è causata dall'ingestione della tossina botulinica preformata negli alimenti. Rappresenta la forma più frequente negli adulti.

La tossinfezione botulinica: è causata dall'ingestione di batteri e/o spore di *Cl. Botulinum*. Questa forma è stata osservata nella prima infanzia (bambini di 0-12 mesi di età), causata dall'ingestione di miele o per inalazione di polveri contaminate dalle spore di *Cl. Botulinum*. La tossinfezione da botulismo può essere osservata anche negli adulti.

La trasmissione attraverso ferite: è causata dall'inoculazione di spore di *Cl. Botulinum* in una ferita, per esempio nei tossicodipendenti che utilizzano per iniezione droghe con materiali contaminati, o, eccezionalmente, inseguito all'iniezione di tossine botuliniche a fini terapeutici o cosmetici.

La principale via di trasmissione è indiretta attraverso il consumo di alimenti di origine animale o vegetale o il consumo di acqua. La trasmissione diretta è possibile attraverso il contatto con animali infetti o le loro deiezioni, situazione verificatasi in fattorie didattiche, per il contatto fra animali e utenti.

**Trattamento dei casi:** Il principale trattamento di sostegno è rappresentato dalla ventilazione meccanica. I casi di intossicazione da *C. botulinum* vanno trattati con terapia specifica, mediante somministrazione, per via intramuscolare o endovenosa, di antitossina botulinica, che deve essere intrapresa quanto più velocemente possibile, e, comunque, non oltre una settimana dall'insorgenza dei sintomi caratteristici. Tale terapia, infatti, è inefficace una volta che la tossina si sia fissata completamente sugli specifici recettori all'interno dell'organismo.

## **Malattia umana di origine alimentare**

### **Natura della malattia (Tabella 2)**

Il botulismo si caratterizza per paralisi flaccida e simmetrica, senza colpire il sensorio. I tipi di botulismo A, B, E e F sono i più frequenti nell'uomo. La gravità dei sintomi dipende dalla quantità di tossina botulinica assorbita e dal tipo di tossina, il botulismo di tipo A è il più grave, con insufficienza respiratoria di più rapida e severa insorgenza, rispetto agli altri tipi di botulismo.

Tabella 2 Caratteristiche della malattia

Incubazione media	Sintomi principali	Durata dei sintomi	Complicazioni
5 – 8 giorni, più spesso 12 – 48 ore.	Sintomi digestivi(vomito, diarrea), osservate in forma non costante all'inizio dell'evoluzione (nel 30 -50 % circa dei casi) Frequente costipazione alla fine del decorso (20-70% dei casi). Paralisi dei muscoli dell'accomodazione: vista sfocata, diplopia, midriasi (70 -100%) dei casi). Paralisi a livello boccale: secchezza in bocca, difficoltà di deglutizione e nel parlare (80 -100% dei casi). Possibilità di forme miste (difficoltà nella vista e/o nella deglutizione).	Da qualche giorno a 8 mesi.	Decesso per insufficienza respiratoria.  Letalità: 0 -5% in Francia, ma può arrivare al 25% se il caso viene trattato tardivamente (presa in carico medica).

### **Popolazione sensibile:**

Tutti gli individui sono suscettibili di sviluppare una intossicazione botulinica causata dall'ingestione di tossina preformata nell'alimento.

I lattanti (<12 mesi) in ragione della loro flora intestinale non completamente formata o non ancora completamente efficiente, sono suscettibili di sviluppare tossinfezioni botuliniche per germinazione, moltiplicazione di *Cl. botulinum* nell'intestino e produzione di tossina in situ.



Focolai	6	6	10	7	9	8	11	4	14	13	4
Casi	11	9	25	24	17	10	19	11	22	21	5
Di cui casi di botulismo infantile	1	1	2		1	1	4		1	1	1
Decessi	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0

## **Ruolo degli alimenti**

### **Principali alimenti da considerare**

Gli alimenti, intesi come materie prime, sono contaminati dalle forme batteriche o dalle spore di *Clostridium* produttori di neurotossine, che si trovano nell'ambiente. Determinate derrate possono essere contaminate attraverso le spezie o i condimenti (es. aglio, pepe).

Le condizioni di preparazione e di conservazione delle derrate determinano, successivamente, una eventuale germinazione delle spore, la crescita dei batteri e la tossinogenesi. La presenza di *Cl. Botulinum* nei prodotti alimentari caratterizzati da scarsa acidità è dovuta ad errori di gestione delle procedure di appertizzazione (notoriamente temperatura di cottura/sterilizzazione, pH, aW, ricontaminazione dopo il trattamento termico).

La tossina botulinica è stabile negli alimenti per periodo di tempo lunghi. Gli alimenti maggiormente a rischio per il consumatore sono le conserve con basso tenore di acidità.

Gli alimenti più spesso coinvolti nei focolai di botulismo sono le conserve e i prodotti di fabbricazione familiare e artigianale, quali, ad esempio:

- mortadelle, prosciutti crudi salati ed essiccati, prodotti di gastronomia (salsicce, pâté) (tossine di tipo B)

-Conserve di vegetali (asparagi, carote e succhi di carote, fagiolini, peperoni, olive alla greca, zucche, etc.), carni bovine sotto sale. (tossina di tipo A)

- Prodotti ittici salati ed essiccati, marinati e imballati sotto vuoto (tossina di tipo E).

Il miele contaminato dalle spore di *C. botulinum* è il solo alimento conosciuto nella trasmissione del botulismo infantile.

Eccezionalmente sono coinvolti prodotti industriali (In Francia, due focolai nel 2011-2012, 4 focolai nel 2011-2012, 3 nel periodo 2013-2015).

### **Trattamenti di inattivazione a livello industriale:**

Tabella 4 Impatto dei trattamenti di inattivazione a livello industriale

Trattamento	Condizioni	Impatto	Matrice
Temperatura	La termoresistenza di <i>C. botulinum</i> varia tra i gruppi e all'interno dei gruppi. Per quanto concerne i gruppi I e II, è stato stabilito un accordo a livello internazionale definente dei parametri che conferiscono un livello di sicurezza accettabile. I ceppi proteolitici del gruppo I possiedono le spore più		

	<p>termoresistenti, le tossine dei ceppi non proteolitici del gruppo II sono le più termosensibili.</p> <p>Valori di D<sup>4</sup> e z<sup>5</sup> per le spore di <i>C. botulinum</i>*:</p> <p>C.botulinum Gruppo I: D<sub>121,1°C</sub> = 0,21 min</p> <p>C.botulinum Gruppo II: D<sub>80°C</sub> = 0,6 – 1,25 min</p> <p>C.botulinum Gruppo III: D<sub>104°C</sub>: 0,1 -0,9 min</p> <p>C.botulinum Gruppo IV: D<sub>104°C</sub>: 0,8 -1,12 min*</p> <p>z = 10°C.</p> <p>Le spore sono resistenti al congelamento. * Variabile a seconda dei ceppi.</p>
Disinfettanti	<p>Le spore sono sensibili alla maggioranza dei disinfettanti autorizzati in IAA, con la riserva di seguire le modalità di utilizzo raccomandate.</p> <p>Cloro libero 4,5ppm (m/v) (pH 6,5), 5-10 min.</p> <p>Inattiva le spore di <i>C.botulinum</i> A,B ed E.</p>
Alte pressioni	<p>Le spore di <i>C.botulinum</i> sono molto resistenti alla pressione. Le spore possono essere inattivate mediante la combinazione di un trattamento termico e di un trattamento ad alta pressione.</p>

(4) D è il tempo necessario per ridurre a 1/10 la popolazione di *Clostridium botulinum* iniziale

(5) Z è la variazione di temperatura (°C) che corrisponde ad una variazione di fattore 10 del tempo di riduzione decimale D

## Sorveglianza negli alimenti

Non esiste un criterio microbiologico nella normativa europea, per *Clostridium botulinum* negli alimenti. Non esiste un metodo standardizzato per l'isolamento di *C. botulinum*. L'isolamento di *C. botulinum* è basato sulla ricerca della tossina (test in vivo, ELISA, test di attività enzimatica) e sull'evidenziazione della forma batterica mediante terreni di coltura di arricchimento seguita da ricerca della tossina e/o dei geni codificanti per la produzione di neurotossine (essenzialmente PCR). La ricerca di *Clostridium botulinum* negli alimenti non è una pratica di routine, poiché la ricerca delle tossine può essere effettuata solamente in condizioni di sicurezza particolari.

## Raccomandazioni agli operatori:

- Appertizzazione delle conserve non acide: ogni prodotto alimentare avente pH uguale o superiore a 4,5 deve essere sottoposto ad un trattamento che garantisca una efficace sterilizzazione (valore di sterilizzazione  $F_{10}^{121,1} < 0 = 3$  minuti) adeguata contro le spore di *C. botulinum*.

-Rispetto delle raccomandazioni dell'ACMSF (Advisory Committee on the Microbiological Safety of Food - Food Standard Agency UK) per evitare lo sviluppo di *C. botulinum* in particolare del Gruppo II (psicrotrofi) nei prodotti poco acidi che hanno subito o no un trattamento termico minimo e distribuiti refrigerati:

- Conservazione a  $T^{\circ}\text{C} < 3^{\circ}\text{C}$ ,  $\leq +5,5^{\circ}\text{C}$  se la data di scadenza è  $\leq 10$  giorni,  $+5/+10^{\circ}\text{C}$  se la data di scadenza è  $\leq 5$  giorni.

- Conservazione  $+8^{\circ}\text{C}$  in caso di trattamento termico a  $90^{\circ}\text{C}$  per 10 minuti, oppure a  $85^{\circ}\text{C}$  per 36 min, oppure a  $80^{\circ}\text{C}$  per 129 min, oppure a  $75^{\circ}\text{C}$  per 464 min, oppure a  $70^{\circ}\text{C}$  per 1675 min.

-Conservazione a  $+8^{\circ}\text{C}$  se il pH è  $\leq 5$ , oppure se la concentrazione di NaCl è  $\geq 3,5\%$  o se aW è  $\leq 0,97$ .

- Il salnitro (per un valore massimo di 150 mg di nitriti/ kg di prodotto) è l'inibitore di crescita di *Cl. Botulinum* più efficace.

- Buone pratiche di igiene in apicoltura per limitare la contaminazione del miele con *Cl. Botulinum*.

Nota<sup>7</sup>: F0 è la durata in minuti di un trattamento termico applicato al cuore del prodotto alla temperatura di riferimento di  $121,1^{\circ}\text{C}$ .

### **Igiene domestica:**

#### **Raccomandazioni ai consumatori:**

- Igiene nella preparazione delle conserve (pulizia accurata dei vegetali, igiene della macellazione a domicilio e nella preparazione delle carni, pulizia dei recipienti e degli imballaggi).

-Rispettare le istruzioni per una corretta sterilizzazione da parte del produttore (corretta combinazione tempi/temperature, numero di unità di conserve per sterilizzatore)  
Una cottura per ebollizione è insufficiente per sterilizzare le derrate alimentari.

- Le scatolette di conserva deformate/bombate o quelle che emanano un odore sospetto all'apertura non devono essere consumate. Al momento dell'apertura dei barattoli di vetro, è necessario sentire il rumore provocato dall'entrata dell'aria.

- Per la preparazione degli insaccati a livello familiare, l'imperativo è di rispettare le concentrazioni di sale nella salamoia, nonché i tempi corretti di salatura, in modo che adeguate concentrazioni in NaCl e in nitriti inibitori della crescita di *C. Botulinum*, raggiungano il cuore dei prosciutti ed insaccati.

- Il rispetto della catena del freddo è indispensabile per le preparazioni che non hanno subito un trattamento termico o che l'abbiano subito in maniera insufficiente.

- Non somministrare il miele ai bambini di età inferiore ai 12 mesi.

- Riguardo agli alimenti in commercio, è necessario rispettare le avvertenze di conservazione refrigerata e le date di scadenza.

## **Riferimenti**

### **Bibliografia e sitografia**

Anses - Fiche de description de danger microbiologique transmissible par les aliments -: "Escherichia coli entérohémmorragiques (EHEC)" - Mai 2019 <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2016SA0074Fi.pdf>

Circolare Min Sal 0021834 -P -12/10/2012 avente per oggetto: "Sorveglianza, prevenzione e misure di controllo del botulismo".

Linee Guida per la corretta preparazione delle conserve alimentari in ambito domestico - Istituto Superiore di Sanità - Centro Nazionale di riferimento per il Botulismo. Anno 2014.