

VALUTAZIONE DELLA CONTAMINAZIONE DA *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN SALMONE AFFUMICATO DEL COMMERCIO

EVALUATION OF LISTERIA MONOCYTOGENES CONTAMINATION IN RETAIL SMOKED SALMON

Serratore P.¹, Piano A.¹, Galletti J.², Trentini M.¹, Zavatta E.¹, Piraccini S.¹

(¹) Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale - Università di Bologna

(²) Corso di Laurea di Acquacoltura ed Igiene delle Produzioni Ittiche - Università di Bologna

SUMMARY

The aim of this study was to assess the contamination levels of *L. monocytogenes* in retail smoked salmon of different geographical origin, comparing the performance of two isolation methods, ISO 11290-1 (qualitative) and ISO 11290-2 (quantitative), and also by molecular methods (16S rDNA sequencing, PCR with specific primers). Among 35 samples (7 batches, 5 samples per batch), only 1 sample from Denmark resulted positive for *L. monocytogenes*. The strains isolated on ALOA and Palcam Agar by the qualitative methods, were confirmed to the specie level (*iap+*, *InlA+*, *InlB+*), belonging to the serotype 1/2c - 3c (*D2+*), and positive for the virulence genes (*InlC+* e *InlJ+*).

Key words

Smoked salmon, *L. monocytogenes*, ISO 11290-1, ISO 11290-2, 16S rDNA, PCR.

Il salmone affumicato commercializzato in buste può essere considerato un prodotto che offre terreno favorevole alla crescita di *L. monocytogenes*, pertanto, in fase di commercializzazione, deve possedere un contenuto non superiore a 100 UFC/g (Reg. CE 2073/2005). Nel presente studio sono state comparate le performance di isolamento di *L. monocytogenes*, dei metodi ISO 11290-2 e ISO 11290-1, in 35 campioni di diversa provenienza (7 lotti, 5 campioni ciascuno). Tali metodi differiscono sostanzialmente nella durata della fase di arricchimento, pari ad 1 ora per il primo, quantitativo (UFC/g), e 24 ore per il secondo, qualitativo (presenza/assenza in 25g), da noi effettuato in Frazer broth (Biolife). Le fasi successive, come da protocolli, hanno riguardato il trapianto su agar selettivo ALOA (Biolife) e per il metodo qualitativo anche un secondo agar selettivo, il Palcam (Oxoid). Un campione proveniente dalla Danimarca è risultato contaminato da *L. monocyto-*

genes. Gli isolati, ottenuti con il solo metodo qualitativo, sono risultati bacilli GRAM+, citocromoossidasi- e catalasi+, e sono stati confermati con il micrometodo API Listeria (bioMérieux). Successivamente sono stati sottoposti a sequenziamento del tratto iniziale di 500 paia basi del gene 16S utilizzando il kit MicroSeq (Applied Biosystems), ed il confronto con le sequenze depositate in GenBank, tramite il software BLASTn, ha confermato l'appartenenza a *L. monocytogenes*. Infine, mediante PCR per geni specifici, i ceppi sono risultati confermati a livello di specie (*iap+*, *InlA+* e *InlB+*), appartenenti al sierotipo 1/2c - 3c (*D2+*) e potenzialmente patogeni (*InlC+* e *InlJ+*). Poiché il livello di sensibilità del metodo quantitativo (1 colonia/100ml di semina), in caso di negatività fornisce un risultato < 100 UFC/g, la prossimità con il limite imposto dal Reg. CE 2073/2005 potrebbe portare a dubitare della sua affidabilità rispetto al metodo qualitativo.

BIBLIOGRAFIA

Borucki, M. K., Call, D. R. (2003). *Listeria monocytogenes* serotype identification by PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 41: 5537-5540. ·De Santis, E. P. L., Pilo, A. L., Cosseddu, A. M., Canu, N. A., Scarano, C., Marongiu, P. (2007). Multiplex PCR for the identification and serotyping of *L. monocytogenes* isolated from sheep cheese-processing plants. *Vet. Res. Commun.*, 31: 359–363. ·Liu, D., Lawrence, M. L., Austin, F. W., Ainsworth, A. J. (2007). A multiplex PCR for species- and virulence-specific determination of *Listeria monocytogenes*. *J. Microbiol. Methods.*, 71: 133-140.