

***LISTERIA MONOCYTOGENES* IN SALSICCIA OVINA: CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE E VALUTAZIONE DELL'ANTIBIOTICO RESISTENZA.**

***LISTERIA MONOCYTOGENES* IN OVINE SAUSAGE: MOLECULAR CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF ISOLATES.**

Rosa M.N.¹, Mele P.¹, Soro P.², Coppa G.³, Mula G.¹, Cogoni P.¹, Tola S.¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, ²Azienda Sanitaria Locale di Sassari, Servizio Veterinario di Igiene degli Alimenti di origine animale; ³Veterinario aziendale

SUMMARY

In this study, we monitored the different stages of ovine sausage production for detecting the presence of *Listeria monocytogenes* in food matrices, the equipment and the environment. A total of 32 isolates were characterized using serotyping and PFGE. Five virulence genes (*actA*, *hlyA*, *plcB*, *prfA*, *iap*) were detected by PCR. In this study, furthermore, we determined the susceptibility of *L. monocytogenes* isolates to 20 antimicrobial agents using Sensititre plates. All isolates were resistant to oxacillin and tigecycline, but susceptible to the other antibiotics. All isolates resulted PCR-positive for the investigated virulence genes. PFGE identified two different pulsotypes. Five isolates, marked as type A and belonging to the serotype 1/2a, were isolated just from one batch samples whereas the type B (n=28), belonging to the serotype 1/2b, was isolated from five different food batches and from the floor drain.

KEYWORDS

ovine sausage, serotyping, PFGE, virulence genes, antimicrobial susceptibility.

Nella regione Sardegna l'allevamento ovino è finalizzato prevalentemente alla produzione di latte destinato alla trasformazione in pecorino romano, pecorino sardo, fiore sardo, ricotta, formaggi freschi mentre il settore della carne è ridotto quasi esclusivamente alla produzione dell'agnello.

In questi ultimi anni, tuttavia, alcuni produttori isolani hanno intrapreso iniziative finalizzate alla valorizzazione delle carni di pecora mediante la produzione di prodotti trasformati ottenuti dall'essiccazione naturale delle carni quali il prosciutto, la salsiccia e il filetto.

Allo scopo di acquisire informazioni sulla qualità sanitaria di prodotti trasformati a base di carne di pecora, negli anni 2008 - 2010 è stata condotta un'indagine presso un'azienda di trasformazione del Nord Sardegna. In questo periodo sono stati esaminati 7 lotti di

lavorazione di salsiccia ovina. Nell'ambito di ciascun lotto sono stati analizzati i campioni provenienti da 4 fasi di lavorazione: trito di carne cruda, impasto dopo la concia, fine asciugatura e fine stagionatura. Per ciascuna fase sono stati prelevati 3 campioni. L'indagine è stata estesa, oltre che al processo produttivo, anche agli ambienti di lavorazione mediante tamponi ambientali su superfici di lavoro, attrezzature e pozzetti di scarico.

In accordo con le norme ISO, ciascun campione è stato sottoposto ad analisi colturale per la ricerca di *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. ed *Escherichia coli* O:157 H:7. La sola positività riscontrata ha riguardato la *L. monocytogenes* con 32 ceppi isolati, di cui 28 nei lotti di lavorazione e 4 nei tamponi ambientali. Gli isolati sono stati sierotipizzati e genotipizzati mediante PFGE (Graves e Swaminathan, 2001), mentre in PCR sono stati

amplificati 5 geni per la virulenza (*actA*, *hlyA*, *plcB*, *prfA*, *iap*). Degli isolati è stata inoltre valutata l'antibiotico resistenza mediante l'utilizzo di piastre Sensititre (Trek diagnostics, Cleveland, OH): gli isolati sono risultati resistenti all'oxacillina e alla tigeciclina ma sensibili a tutti gli altri antibiotici testati. L'analisi dei profili PFGE ha permesso di raggruppare gli isolati in due pulsotipi: al pulsotipo A appartengono 5 ceppi con sierotipo 1/2a, isolati da un solo lotto di lavorazione, mentre al pulsotipo B

appartengono 28 ceppi con sierotipo 1/2b, isolati dai restanti lotti e da alcune attrezzature e pozze di drenaggio.

BIBLIOGRAFIA

Graves, L., and Swaminathan, B. (2001). PulseNet standardized protocol for subtyping *Listeria monocytogenes* by macrorestriction and PFGE. *Int. J. Food Microbiol.* 65, 55-62.