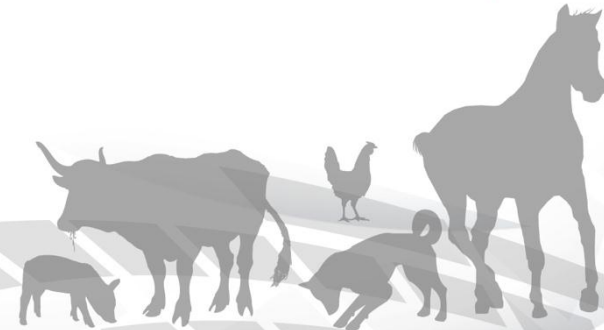




IZSAM G. CAPORALE  
TERAMO

**LNR per *Listeria monocytogenes***  
***Resoconto 2013 e programma 2014*** 

Vincenza Prencipe  
Teramo, 12-13 dicembre 2013



## PT eseguiti

Ricerca e numerazione Lm - QM

Ricerca e numerazione Lm – EURL Lm

PT trial on challenge test to assess the growth of *Listeria monocytogenes* in tuna rillettes” – EURL Lm

## PT organizzati

Ricerca - Metodo FSIS


Ricerca – Metodo ISO

## Validazione metodi

- ✓ kit in Real time PCR e del protocollo di esecuzione della prova a partire da campioni di formaggio fresco. Organizzato da Thermofisher in collaborazione con Adria (Francia)
- ✓ Protocollo di ricerca Lm in Real Time PCR. Organizzato dall'ISS nell'ambito del progetto Baseline finanziato dal 7° Programma quadro.



## Partecipazione a gruppi tecnici

- 
- Working Group on Microbiological Criteria, istituito dalla Commissione Europea.
  - Potsdam working group per EU/US Equivalence exercise in the meat sector, istituito dalla Commissione Europea per la valutazione dell'equivalenza dei criteri microbiologici nelle carni e prodotti a base di carne tra l'Unione Europea e gli Stati Uniti d'America.
  - ELite - Study group per *Listeria* organizzato dall'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC).
  - Working group on EU-RL Lm DB European Union – Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes* Data Base
  - Working group on EU-RL Lm Guidance Document on shelf-life studies for *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods – EU Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes* (ANSES)

## Gestione sistemi informativi

- ✓ SEAP (Sistema Informativo Agenti Patogeni Alimentari) per la raccolta delle informazioni e dei profili molecolari dei ceppi di *Listeria monocytogenes* isolati in ambito nazionale da ambiente, animali, alimenti e uomo.
- ✓ SINVSA export USA e altri Paesi Terzi





## Collaborazione con Ministero della salute

- elaborazione del piano di sorveglianza per *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* e la gestione del sistema SINVSA export USA per gli stabilimenti che esportano prodotti a base di carne verso gli USA;
- elaborazione del piano di sorveglianza e dei verbali di prelievo per la gestione dei controlli ufficiali previsti per gli stabilimenti che esportano prodotti di origine animale verso la Federazione russa e gestione del sistema SINVSA export altri Paesi Terzi;
- stesura delle note relative alla gestione dell'esportazione dei prodotti a base di carne con meno di 400 giorni di stagionatura (Nota DGISAN/33976 del 05.08.2013);
- revisione della nota generale per la gestione del controllo ufficiale e autocontrollo per gli stabilimenti che esportano verso gli USA (nota DGISAN 33977/P del 5 Agosto 2013);
- focolaio di infezione da *Listeria monocytogenes* registrato negli USA e collegato al consumo di ricotta salata per il quale ha fornito supporto per sopralluogo, il prelievo di campioni ambientali negli stabilimenti coinvolti nella produzione del prodotto contaminato, analisi microbiologiche e caratterizzazione dei ceppi isolati.





## Progetti nazionali ed esteri

- IZSAM 02 2010 - Studio e caratterizzazione dei rischi chimici e microbiologici dei formaggi e degli insaccati stagionati tipici, abruzzesi e molisani.
- IZSAM RF 2010 - Campylobacter, L. monocytogenes and Verocytotoxin-producing E. coli (VTEC) in Italy: a molecular epidemiology approach to identify sources of infection and risk factors for human exposure.
- IZSAM RC 2011 - Valutazione delle dinamiche di contaminazione da agenti patogeni, dell'efficacia dei controlli e del rischio finale per il consumatore per alcune categorie di prodotti alimentari
- IZSAM RC 2012 - Analisi filogenetica ed epidemiologia molecolare di ceppi di Brucella spp. e di Listeria monocytogenes in Italia
  
- CAPS2 "Strengthening of Centres for Aquaculture production and Safety surveillance in Adriatic Cross-border Countries".
- OIE Twinning Tunisia Sicurezza Alimentare in collaborazione con l'Institut de la Recherche Vétérinaire de Tunisie (Tunisi e Sfax, Tunisia).
- OIE Twinning Namibia Sicurezza alimentare, in collaborazione con il Central Veterinary Laboratory (Windhoek, Namibia).





## Formazione erogata

- OIE Twinning Tunisia Sicurezza Alimentare, stage formativi per esperti dell'Institut de la Recherche Vétérinaire de Tunisie (Tunisi e Sfax, Tunisia).
- OIE Twinning Namibia Sicurezza alimentare, stage per esperti dal Central Veterinary Laboratory (Windhoek, Namibia)

## Formazione ricevuta

- EURL Lm training on PFGE (ANSES, Parigi)
- Corso residenziale sulla microbiologia predittiva organizzato dal LNR Lm in collaborazione con il dr J. Baranyi esperto dell'Institute of Food Research (IFR, UK).
- Training workshop on "Clinical and molecular epidemiology of *Listeria monocytogenes* in humans and food - analytical study with the support of molecular typing" organizzato dall'ECDC, EFSA and EURL per *Listeria monocytogenes* (ANSES), 12-13 marzo, Parigi.





## Metodi analitici

- a) identificazione di *Listeria innocua*, *Listeria ivanovii*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria seeligeri* e *Listeria welshimeri* mediante Polymerase Chain Reaction (PCR) multiplex;
- b) Pulsed Filed Electrophoresis secondo il protocollo del network PulseNet coordinato dal Centers for Disease Control and Prevention (CDC);
- c) determinazione del sierotipo mediante agglutinazione rapida secondo il protocollo del US/FDA Bacteriological Manual of Microbiology;
- d) determinazione del sierotipo mediante PCR multiplex;
- e) rilevazione di alcuni fattori di patogenicità mediante PCR e Microarray;
- f) determinazione del profilo genetico mediante Multiple-Locus Variable number tandem repeat Analysis (MLVA);
- g) sequenziamento totale del genoma secondo tecniche di New Genome Sequencing mediante Ion Torrent (Life Technology, USA).





# Programmazione 2014



## PT da eseguire

Ricerca e numerazione Lm - QM

Ricerca e numerazione Lm – EURL Lm

## PT organizzati

Ricerca - Metodo FSIS

Ricerca/Numerazione – Metodo ISO

Sierotipizzazione (metodo sierologico e PCR)

Questionario per IZS





# Programmazione 2014



## Formazione da erogare


Seminario su Challenge test in collaborazione con EURL Lm

## Eventi

- EURL Workshop
- Workshop nazionale




# Programmazione 2014

- 
- Studio sul Gorgonzola richiesto dal Consorzio. Sarà concluso lo studio per valutare gli effetti del trascinamento durante le operazioni di porzionatura del prodotto.
  - Studio dei ceppi già in banca dati e dei ceppi che verranno conferiti da laboratori ufficiali e privati per la caratterizzazione della popolazione circolante sul territorio nazionale.
  - Identificazione e sequenziamento dei fattori di patogenicità presenti nei principali cloni di *Listeria monocytogenes* circolanti,
  - Valutazione del grado di espressione dei fattori di patogenicità studiati,
  - Sequenziamento e analisi del genoma dei ceppi di *Listeria monocytogenes* di maggior rilevanza epidemiologica



# Programmazione 2014

- 
- Caratterizzazione microbiologica dei prodotti alimentari di origine animale e vegetale e definizione sperimentale della shelf life su prodotti pronti per il consumo per valutare il comportamento della *Listeria monocytogenes* e altri patogeni in fase di trasformazione e nel periodo di conservabilità.
  - Isolamento e caratterizzazione di batteriofagi litici specifici per *Listeria monocytogenes* da utilizzare come metodo innovativo nel controllo della contaminazione da *Listeria monocytogenes* in ambienti di lavorazione e su prodotti alimentari: saranno completate le analisi per la caratterizzazione e il sequenziamento dei fagi isolati e avranno inizio le prove di attività litica su prodotti alimentari.



# Sintesi EURL workshop 2013




## COMPARISON OF INOCULATION TECHNIQUES

- ENUMERATION METHODS AT LOW LEVELS (filtration method)
- REDUCTION OF THE 2ND ENRICHMENT STEP OF THE DETECTION METHOD (CEN group had agreed to reduce the 2nd enrichment step to 24 h, based on the EURL *Lm* study, in the revision of EN ISO 11290-1 Standard)
- MEASUREMENT UNCERTAINTY (progress of the project on measurement uncertainty (MU) and the influence of sub-sampling of test portion)
- ALTERNATIVES TO CONFIRMATION STAGE (EURL would complete a bibliographic review on alternative molecular techniques for *Lm* confirmation step, in collaboration with NL and UK NRLs).
- EURL *LM* GUIDANCE DOCUMENT ON ENVIRONMENTAL SURFACE SAMPLING (preparation of the final version (version 3 of 20/08/2012) of the EURL *Lm* “Guidelines on sampling the food processing area and equipment for the detection of *Listeria monocytogenes*”).



# Sintesi EURL workshop 2013



ENQUIRY ON SUITABILITY OF THE EN ISO 11290-1 METHOD FOR ENVIRONMENTAL SURFACE SAMPLES

- UPDATE ON CEN MANDATE AND ON THE REVISION OF EN ISO 11290-1&2 STANDARDS (validation study for 4 out 5 matrices. Completed by the end of 2013)
- REVISION OF THE EURL LM TECHNICAL GUIDANCE DOCUMENT ON SHELF-LIFE STUDIES FOR LM IN RTE FOODS
- DEVELOPMENT OF A PROTOCOL FOR PT ON CHALLENGE-TESTS
- EURL PFGE PROTOCOL: VALIDATION WITH THE PULSENET USA PROTOCOL
- EURL LM DATABASE
- EVALUATION OF TYPING METHODS IN ALTERNATIVE TO PFGE (fAFLP, MLVA, MLST) and WGS

