

***Vibrio parahaemolyticus* nei molluschi bivalvi: quali rischi per i consumatori?**

Rubini S.^{1*}, Pavoni E.¹, Bertasi B.¹, Suffredini E.², Cozzi L.², Bardasi L.¹, Melloni R.¹, Bolognesi E.¹, Lilliu E.¹, Cova M.³, Guidi E.⁴, Lupi S.⁴, Bergamini M.⁴

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna; ²Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare; ³U.O. Igiene degli Alimenti e Nutrizione M.O. Dipartimentale Prevenzione e Controllo delle Malattie Trasmissibili di Ferrara; ⁴Sezione di Medicina di Sanità Pubblica, Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Ferrara * *corresponding author*: silva.rubini@izsler.it

Keywords: *Vibrio parahaemolyticus*, molluschi bivalvi, TDH, TRH

Introduzione

Vibrio parahaemolyticus è un microrganismo alofilo naturalmente presente nelle acque costiere di tutto il mondo. *V. parahaemolyticus* è un patogeno enterico responsabile di gastroenteriti associate a consumo di alimenti di origine ittica e, in particolare, molluschi crudi o insufficientemente cotti. La sintomatologia nell'uomo compare di solito entro 24 ore ed è caratterizzata da diarrea, vomito, emicrania, nausea, crampi addominali e, a volte, febbre (Su e Liu, 2007). In genere la sintomatologia regredisce entro 3 giorni ma, in individui immuno-compromessi, l'esito di questa tossinfezione può essere letale. In alcuni casi il germe è stato isolato da lesioni cutanee (localizzazione extra-intestinale). Il meccanismo attraverso il quale *V. parahaemolyticus* infetta l'uomo non è stato ancora completamente chiarito ma è ormai assodato che la patogenicità dei ceppi è associata alla loro capacità di produrre tossine TDH (thermostable direct hemolysin) e/o TRH (TDH-related hemolysin) (Di Pinto A. et al., 2008). La maggior parte dei focolai di tossinfezione sono stati segnalati in Asia, Sud America, USA e in alcuni Paesi africani. In Europa le segnalazioni sono state, finora, piuttosto scarse (Suffredini et al., 2014).

Obiettivo di questa indagine è stato quello di verificare la prevalenza di *V. parahaemolyticus* nei molluschi allevati e raccolti nelle acque costiere della regione Emilia Romagna, valutare il potenziale patogeno dei ceppi isolati e infine analizzare l'eventuale correlazione con le segnalazioni di tossinfezioni associate al consumo di molluschi e/o potenzialmente sostenute da *V. parahaemolyticus*.

Summary

The aims of this work were a) evaluation of the prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* in molluscs harvested in Emilia Romagna; b) evaluation of the presence of pathogenic strains and c) assessment of a possible effect on the public health. We examined 755 samples of molluscs (519 Manila clams and 236 mussels). Thirty-three percent of the samples were positive for *V. parahaemolyticus* and the percentage of potentially pathogenic strains was 14.5% of total *V. parahaemolyticus* isolates.

Materiali e metodi

I dati presentati si riferiscono ai risultati ottenuti analizzando campioni prelevati da AUSL di Ferrara nell'ambito del Piano di Monitoraggio Molluschi, nel periodo compreso fra gennaio 2011 e settembre 2014 (Tabella 1). Sono stati esaminati complessivamente 755 campioni di molluschi così suddivisi: 519 campioni di vongole veraci (*Tapes philippinarum*) e 236 campioni di mitili (*Mytilus galloprovincialis*). La ricerca di *V. parahaemolyticus* è stata effettuata applicando il metodo di prova normato ISO/TS 21872-1:2007 (Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of potentially enteropathogenic *Vibrio* spp. – Part 1: Detection of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio cholerae*). Per la ricerca del DNA è stato utilizzato un metodo molecolare interno all'IZSLER che prevedeva l'identificazione tramite il gene specie-specifico *toxR*. Successivamente, solo i campioni risultati positivi sono stati sottoposti a PCR specifica per la ricerca dei geni produttori di tossine *tdh* e *trh*.

Risultati e discussione

Vibrio parahaemolyticus è stato isolato in 249 campioni (33.0%). La maggiore prevalenza è stata riscontrata nelle vongole veraci con 214 campioni positivi (41.2%), mentre i mitili positivi sono stati 35 (14,8%).

Duecentoquaranta ceppi (96.4%) sono risultati caratterizzati dalla presenza del gene *toxR*, mentre 9 ceppi sono risultati negativi. Fra i ceppi positivi per la presenza del gene *toxR*, quelli potenzialmente in grado di produrre tossine TDH e TRH sono stati, rispettivamente, 21 e 15, con un ceppo caratterizzato dalla compresenza dei geni *tdh* e *trh*. Significativamente, la quasi totalità dei ceppi patogeni (36 su 37) è stata isolata da vongole veraci, mentre un solo campione di mitili è risultato *tdh* positivo. I risultati ottenuti sono illustrati in Tabella 2.

Nell'ambito delle attività di sorveglianza svolte dall'U.O. Igiene degli Alimenti e Nutrizione, M.O. Dipartimentale Prevenzione e Controllo delle Malattie Trasmissibili di Ferrara non si sono evidenziati né focolai né casi singoli di infezioni da *V. parahaemolyticus*.

La sostanziale assenza di focolai nella popolazione, pur a fronte della considerevole prevalenza di *V. parahaemolyticus* nei molluschi bivalvi analizzati, può essere posta in relazione a diverse variabili dell'esposizione fra cui in particolare:

- La proporzionalità del rischio in funzione della concentrazione di *V. parahaemolyticus* potenzialmente patogeno (WHO, 2011); in tale contesto la sola rilevazione della presenza di *V. parahaemolyticus* non permette una reale valutazione del rischio associato al consumo del prodotto ittico, per la quale sarebbe più opportuno l'adozione di determinazioni di tipo quantitativo (Suffredini et al., 2014);
- La sensibile riduzione del rischio microbiologico associata al processo di cottura, particolarmente rilevante in una regione come l'Emilia Romagna dove non è presente una tradizione diffusa di consumo dei molluschi crudi.

In conclusione, il presente studio ha fornito dati significativi sulla prevalenza di *V. parahaemolyticus* (totale e potenzialmente patogeno) in molluschi prelevati nella provincia di Ferrara. L'acquisizione di ulteriori dati, anche di tipo quantitativo, sulla presenza di *V. parahaemolyticus* nelle aree di produzione dei molluschi e nei prodotti al commercio e sull'efficacia dei processi depurativi, consentirà la definizione di linee guida per la gestione del rischio connesso a questo microorganismo.

Bibliografia

Di Pinto A., Ciccarese G., De Corato R., Novello L., Terio V. 2008. Detection of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in southern Italian shellfish. Food Control 19: 1037-1041

Su Y.-C., Liu C. 2007. *Vibrio parahaemolyticus*: A concern of seafood safety. Food Microbiology 24: 549-558

Suffredini E., Mioni R., Mazzette R., Bordin P., Serratore P., Fois F., Piano A., Cozzi L., Croci L. 2014. Detection and quantification of *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish from Italian production areas. International Journal of Food Microbiology 184: 14-20.

WHO, 2011. Risk assessment of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. In: WHO MRA Series n°16, Joint FAO/WHO expert meetings on microbiological risk assessment.

Tabella 1 Campioni di molluschi esaminati per *V. parahaemolyticus* dal gennaio 2011 a settembre 2014

Specie	Campioni negativi	Campioni positivi	TOTALE
Mitilo (<i>M. galloprovincialis</i>)	201	35	236
Vongola verace (<i>T. philippinarum</i>)	305	214	519
TOTALE	506	249	755

Tabella 2 Presenza dei geni associati alle tossine TDH e/o TRH in ceppi di *V. parahaemolyticus* isolati da diverse matrici

Specie	tdh +	trh +	tdh+ e trh+	TOTALE
Mitilo (<i>M. galloprovincialis</i>)	1	0	0	1
Vongola verace (<i>T. philippinarum</i>)	20	15	1	36
TOTALE	21	15	1	37