



Dati relativi agli isolamenti di batteri enteropatogeni effettuati da casi clinici umani, da campioni di origine animale, alimentare e ambientale nell'anno 2020 nella Regione Marche.

Data on isolates of enteric bacteria from human clinical cases, animals, food and environment samples in the year 2020 in Marche Region (Italy)

*Maira Napoleoni, Valentina Silenzi, Monica Staffolani, Fabrizia Guidi, Giuliana Blasi,
Stefano Fisichella, Elena Rocchegiani*

* Corresponding Author: Dott.ssa Maira Napoleoni, Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati" via G. Salvemini 1, 06126 Perugia, Italy. Tel.: +39 075 585 269; Fax: +39 075 343 3060.
E-mail address: m.napoleoni@izsum.it, maira.napoleoni@libero.it

Abstract. This report shows data on strains of enteropathogenic bacteria isolated from human, animals, food and environment cases in the year 2020 in Marche Region.

A total of 247 *Salmonella*, 62 *Campylobacter*, 10 *Listeria* and 1 *Cronobacter sakazakii* isolated from cases of human infection have been sent to CRRPE of Tolentino in relation to the Enter-Net surveillance network. At the same time, a total of 431 *Salmonella*, 62 *Listeria* and 13 *Campylobacter* isolated from non-human cases have been analyzed at CRRPE of Tolentino. Regarding isolates of human origin, the frequency, the distribution in different age groups, the rate of hospitalization, the source of isolation, the probable association with food are detailed. The non-human isolates are categorized by origin and source of isolation. This report also shows results of antimicrobial susceptibility testing performed on all strains of *Salmonella* of human and non-human origin.

Riassunto. Questo report illustra i dati relativi agli stipiti di batteri enteropatogeni isolati da casi clinici umani, da animali, da alimenti e da ambiente nell'anno 2020 nella Regione Marche.

Un totale di 247 ceppi di *Salmonella*, 62 ceppi di *Campylobacter*, 10 di *Listeria* e 1 di *Cronobacter sakazakii* isolati da casi di infezione umana, sono pervenuti al CRRPE di Tolentino nell'ambito della rete di sorveglianza Enter-Net. Contemporaneamente, in ambito non umano sono stati analizzati presso il CRRPE di Tolentino un totale di 431 ceppi di *Salmonella*, 62 di *Listeria* e 13 di *Campylobacter*. Relativamente agli isolamenti di origine umana vengono descritti la frequenza, la distribuzione nelle varie fasce di età, il tasso di ospedalizzazione, la matrice di isolamento e la probabile associazione con alimenti. Gli isolati di origine non umana sono suddivisi per origine e per matrice di isolamento. Vengono inoltre riportati i risultati degli antibiogrammi effettuati su tutti i ceppi di *Salmonella* di origine umana e non.

INDICE

INTRODUZIONE

3

1. ZOONOSI A TRASMISSIONE ALIMENTARE: ISOLATI DI ORIGINE UMANA

4

1.1 *SALMONELLE* DI ORIGINE UMANA

5

1.2 ANTIBIOTICO-RESISTENZA NEI CEPPI DI *SALMONELLA* DI ORIGINE UMANA

10

1.3 *CAMPYLOBACTER* DI ORIGINE UMANA

14

1.4 ANTIBIOTICO-RESISTENZA NEI CEPPI DI *CAMPYLOBACTER* DI ORIGINE UMANA

16

1.5 ALTRI ENTEROPATOGENI DI ORIGINE UMANA: *CRONOBACTER SAKAZAKII*

17

2. ZOONOSI A TRASMISSIONE ALIMENTARE: ISOLATI DI ORIGINE NON UMANA

19

2.1 *SALMONELLE* DI ORIGINE NON UMANA

21

2.1.1 *SALMONELLE* ISOLATE DA MATRICE ANIMALE

25

2.1.2 *SALMONELLE* ISOLATE DA MATRICE ALIMENTARE

28

2.1.3 *SALMONELLE* ISOLATE DA MATRICE AMBIENTALE

30

2.2 ANTIBIOTICO-RESISTENZA NEI CEPPI DI *SALMONELLA* DI ORIGINE VETERINARIA (ALIMENTARE, AMBIENTE VETERINARIO, ANIMALE)

32

2.3 ANTIBIOTICO-RESISTENZA NEI CEPPI DI *SALMONELLA* DI ORIGINE AMBIENTALE (ACQUA SUPERFICIALE FIUME, ACQUA SUPERFICIALE LAGO, ACQUA SORGENTE)

36

2.4 *CAMPYLOBACTER* DI ORIGINE NON UMANA

39

Introduzione

Nel corso del **2020** i Laboratori periferici che collaborano con il Centro di Riferimento Regionale per gli Enterobatteri Patogeni (CRRPE) di Tolentino e le sezioni marchigiane dell'IZSUM hanno notificato **827** stipti batterici di cui **678** appartenenti al genere *Salmonella*, **75** al genere *Campylobacter*, **72** al genere *Listeria* e **1** al genere *Cronobacter* (Tab.1).

Rispetto al 2019 (totale ceppi 587), il numero totale di ceppi batterici pervenuti presso il CRRPE nel corso del 2020 è notevolmente aumentato in virtù dell'aumento delle Strutture Ospedaliere e Private che partecipano alla rete di sorveglianza Enter-Net, al verificarsi di un episodio tossinfettivo di notevole portata sostenuto da *Salmonella* e all'elevato numero di ceppi di *Salmonella* provenienti da campionamenti eseguiti in autocontrollo presso una delle maggiori realtà avicole della regione Marche (Tab.2).

Tabella 1 Stipti isolati nel 2020 suddivisi per origine

Stipti	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Campylobacter</i> spp.	<i>Listeria</i> spp.	<i>Cronobacter</i> spp.	TOTALE
Origine umana	247	62	10	1	320
Origine veterinaria	237	13	1	-	251
Origine alimentare	184	-	61	-	245
Origine ambientale (acqua)	10	-	-	-	10
Totale	678	75	72	1	826

Tabella 2. Stipti di <i>Salmonella</i> spp. e <i>Campylobacter</i> spp. isolati nel 2019 e nel 2020				
Stipti	N. 2020	%2020	N. 2019	%2019
<i>Salmonella</i> spp.	678	90	470	85
<i>Campylobacter</i> spp.	75	10	83	15
Totale	753	100	553	100

1. Zoonosi a trasmissione alimentare: isolati di origine umana

Dalla Tab.3 si evince come tutte le Strutture Ospedaliere della Regione partecipino alla rete di sorveglianza Enter-net inviando i ceppi di *Salmonella* e *Campylobacter*.

Nel corso del 2020 è aumentato il numero delle Strutture private che sono entrate a far parte della rete Enter-Net per un totale di 4 nuovi laboratori di analisi cliniche: Laboratorio analisi Selemar di Urbino, Laboratorio analisi BIOS di Castelfidardo, Laboratorio analisi CLINICALab e Laboratorio analisi Associati Fisiomed Ricerche Cliniche entrambi di Civitanova Marche. Per quanto riguarda i laboratori privati, risulta ancora poco ricercato il *Campylobacter* a differenza della *Salmonella*.

Malgrado la richiesta di coprocultura preveda la ricerca obbligatoria e contemporanea di *Salmonella*, *Shigella* e *Campylobacter* che rappresentano gli agenti causali più frequenti di gastroenterite, alcuni laboratori non ricercano di routine il *Campylobacter*. Al contrario, per altri patogeni enterici (es. *E. coli* enteroemorragico, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica*), la richiesta deve essere specificata in relazione al quadro clinico o al contesto epidemiologico. Nel corso del 2020 è stato identificato anche 1 ceppo di *Cronobacter sakazakii*. Per quanto riguarda gli isolati di *Listeria monocytogenes*, questi sono trattati nel report dedicato.

Tabella 3 Numero di isolamenti distinti per struttura per l'anno 2020

Laboratorio	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Campylobacter</i> spp.	<i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>	<i>Cronobacter</i> <i>sakazakii</i>	TOT
AO Ospedali Riuniti Marche Nord sedi di Pesaro e Fano	15	4	-	-	19
AV 1 sede di Urbino	31	2	-	-	33
AV 2 sede di Senigallia	20	18	-	-	38
AV 2 sede di Jesi	68	14	-	-	82
AV 2 sede di Fabriano	-	5	-	-	5
AOU Ospedali Riuniti Ancona	30	1	6	-	37
INRCA Ancona	-	-	-	-	-
INRCA Osimo	2	1	-	-	3
AV 3 sedi di Civitanova Marche e Macerata	13	5	-	-	18
AV 3 sedi di Camerino e San Severino Marche	4	-	-	-	4
AV 4 sede di Fermo	12	7	4	-	23
AV 5 sedi di Ascoli Piceno e San Benedetto del Tronto	29	5	-	-	34

Laboratorio analisi Scorcelletti (Senigallia)	-	-	-	-	-
Laboratorio analisi cliniche Salus-Villalba (Macerata)*	4	-	-	1	5
Laboratorio analisi cliniche Biemme (Castelraimondo)*	2	-	-	-	2
Laboratorio analisi cliniche Delta (Porto Recanati)*	1	-	-	-	1
Laboratorio analisi cliniche Selemar (Urbino)*	2	-	-	-	2
Laboratorio analisi cliniche BIOS (Castelfidardo)	1	-	-	-	1
Laboratorio analisi cliniche CLINICALab (Civitanova Marche)	6	-	-	-	6
Laboratorio analisi cliniche Associati Fisiomed Ricerche Cliniche (Civitanova Marche)	3	-	-	-	3
Qualis Lab - Serroni (Fermo)	1	-	-	-	1
Qualis Lab - Ormodiagnostica (Grottammare)	1	-	-	-	1
Qualis Lab - Bios (Pagliare del Tronto)	2	-	-	-	2
Totale	247	62	10	1	320

* L'isolamento e l'identificazione batterica vengono eseguiti presso il laboratorio analisi di Clinica Villa dei Pini di Civitanova Marche

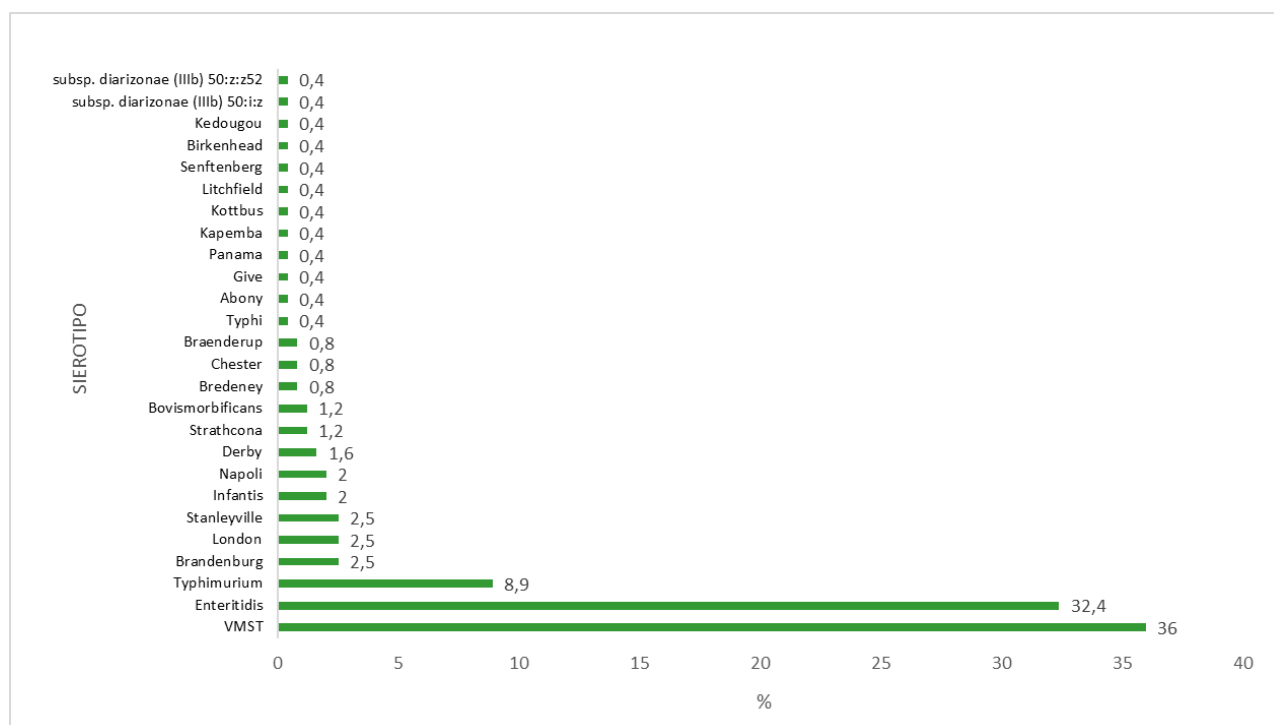
1.1 *Salmonelle* di origine umana

Nella tabella 4 e nel grafico 1 sono riportati l'elenco e la distribuzione dei sierotipi di *Salmonella* isolati da casi clinici umani.

Tabella 4 e Grafico 1

Sierotipo	N.	% 2020	% 2019
Variante monofasica di <i>S. Typhimurium</i> (VMST)	89	36	56
Enteritidis	80	32,4	4,3
Typhimurium	22	8,9	5,5
Brandenburg	6	2,5	-

London	6	2,5	1,2
Stanleyville	6	2,5	0,6
Infantis	5	2	4,3
Napoli	5	2	1,8
Derby	4	1,6	7,6
Strathcona	3	1,2	1,8
Bovismorbificans	3	1,2	0,6
Bredeney	2	0,8	0,6
Chester	2	0,8	1,2
Braenderup	2	0,8	-
Typhi	1	0,4	1,2
Abony	1	0,4	-
Give	1	0,4	2,5
Panama	1	0,4	1,8
Kapemba	1	0,4	0,6
Kottbus	1	0,4	-
Litchfield	1	0,4	-
Senftenberg	1	0,4	-
Birkenhead	1	0,4	-
Kedougou	1	0,4	-
subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb) 50:i:z	1	0,4	-
subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb) 50:z:z52	1	0,4	-
Rissen	-	-	1,8
Coeln	-	-	1,2
Veneziana	-	-	1,2
Goldcoast	-	-	0,6
Mbandaka	-	-	0,6
Newport	-	-	0,6
Paratyphi A	-	-	0,6
Portland	-	-	0,6
Thompson	-	-	0,6
subsp. <i>arizonae</i> (IIIa) 38:z ₄ ,z ₂₃ :-	-	-	0,6
Totale	247	100	100



Anche per il 2020 così come era stato per il 2019, il trend relativo al numero di isolamenti di *Salmonella* spp. nella regione Marche è aumentato. Si è passati infatti da 100 ceppi tipizzati nel 2016, 135 nel 2017, 142 nel 2018, 163 nel 2019 fino a un totale di 246 nel 2020.

E' possibile osservare come anche quest'anno, il sierotipo maggiormente isolato sia rappresentato dalla Variante monofasica di *Salmonella* Typhimurium (VMST).

Il secondo sierotipo maggiormente isolato è rappresentato da *S. Enteritidis*. L'elevato numero di isolati riconducibili a tale sierotipo è dovuto ad un evento tossinfettivo di notevole portata verificatosi in AV2 e causato dal consumo di formaggio fresco a latte crudo ovino durante il periodo pasquale. Tramite le indagini epidemiologiche si è risaliti alla comune fonte alimentare e di conseguenza all'allevamento fornitore del latte utilizzato per la produzione di tale prodotto denominato "primo sale". I campionamenti condotti di concerto tra l'IZSUM e il Servizio Veterinario presso l'allevamento hanno permesso di identificare la positività per *S. Enteritidis* nelle feci di due pecore e nella secrezione mammaria di una delle due, condizione quest'ultima che ha determinato la contaminazione del latte e di conseguenza del formaggio dal momento che la modalità di produzione di tale prodotto tradizionale non prevede la pastorizzazione del latte prima della sua trasformazione. Anche quest'anno così come era accaduto già nel 2019, sono stati tipizzati ceppi di *S. Strathcona*; per questo sierotipo il CRRPE ha ricevuto intorno al mese di ottobre del 2020 una comunicazione da parte del coordinamento Enter-Net dell'ISS che informava dell'allerta lanciata dall'ECDC relativa ad un focolaio in un Paese della comunità europea e di un aumento di circolazione di tale sierotipo anche in Italia con 43 isolati a livello nazionale per il 2019 (negli anni precedenti il numero variava da 1 a 9 isolati massimo) e con già 13 isolati per il 2020. Per questo sierotipo l'andamento nella regione Marche si allinea al trend nazionale considerando che dal 2008 al 2018 non è stato mai registrato alcun caso. Le aree geografiche

interessate sono state l'AV 5 nello specifico il territorio dell'ascolano per quanto riguarda i tre casi del 2019 e l'AV 4 con il territorio del fermano per quanto riguarda i tre casi del 2020. Anche nel 2020 così come nel 2019 si sono registrati isolati di *S. Bovismorbificans* e anche in questo caso le aree geografiche interessate sono state l'AV 4 per il caso del 2019 e l'AV5 per i tre casi del 2020. Nel 2019 l'isolamento è avvenuto a partire da coprocultura di un soggetto straniero di 52 anni, quest'anno da tre soggetti di nazionalità italiana, due bambini e un uomo.

In generale nella regione Marche dal 2002 (anno di istituzione del CRRPE) sono stati registrati isolamenti di *S. Bovismorbificans* nel 2004 (4 casi), nel 2013 (1 caso) e nel 2015 (1 caso).

A livello mondiale tale sierotipo si è reso responsabile nel corso degli anni di numerosi focolai di tossinfezione, ultimo in ordine di tempo quello verificatosi ad agosto 2019 in Francia con 25 casi totali riguardanti persone di età compresa tra i 2 e i 90 anni e riconducibile al consumo di carne di cavallo proveniente dalla Romania. Tutti i ceppi riconducibili a *S. Strathcona* e a *S. Bovismorbificans* degli anni 2019 e 2020 sono stati inviati al Dipartimento di Malattie Infettive dell'ISS per essere sottoposti a Whole Genome Sequencing (WGS) per valutare se appartenenti al medesimo clone per varietà di sierotipo.

Dato sicuramente da considerare è rappresentato dal ceppo di *Salmonella* Typhi isolato da coprocultura di un bambino di due anni di nazionalità straniera. *S. Typhi* e *S. Paratyphi* sono responsabili delle forme tifoidee di infezione che determinano infezione sistemica e febbre tifoide; la loro trasmissione è interumana dal momento che l'uomo rappresenta l'unico serbatoio di tali microrganismi.

La tabella 5 riporta la distribuzione degli isolamenti umani di *Salmonella* per classe di età.

Tabella 5 Distribuzione degli isolamenti umani per classe di età.

Età (in anni)	N. 2020	% 2020	N. 2019	% 2019
< 1	2	0,8	1	0,7
1 - 5	39	15,8	48	29,4
6 - 14	53	21,5	38	23,3
15 - 64	93	37,7	39	23,9
> 64	60	24,3	37	22,7
Non noto	-	-	-	-
Totale	247	100	163	100

Anche quest'anno l'incidenza di casi nella classe di età inferiore a un anno è molto bassa mentre per quanto riguarda la classe di età 1-5 anni si osserva una discreta diminuzione di casi. Si registra al contrario un considerevole aumento di incidenza nelle classi di età 6-14, 15-64 e > 64. Questa evidenza è riconducibile all'evento tossinfettivo di aprile che ha riguardato soggetti appartenenti a tali fasce d'età.

La Tabella 6 riporta la matrice di isolamento.

Tabella 6 Matrici di isolamento

Matrice	N. 2020	% 2020	N. 2019	% 2019
Feci	232	94	149	91,4
Sangue	8	3,2	8	4,9
Urine	3	1,2	4	2,5
Feci e sangue	2	0,8	-	-
Tampone rettale	1	0,4	-	-
Liquido intra addominale	1	0,4	-	-
Tampone ferita	-	-	1	0,6
Liquido sinoviale	-	-	1	0,6
Feci ed espettorato	-	-	-	-
Totale	247	100	163	100

La quasi totalità dei ceppi di *Salmonella* è stata isolata da feci, ad eccezione di 15 campioni isolati da diversa matrice.

Per quanto riguarda gli 8 ceppi isolati da sangue, 2 sono riconducibili a Variante monofasica di *Salmonella* Typhimurium, 2 a *S. Enteritidis*, 1 a *S. Brandenburg*, 1 a *S. London*, 1 a *S. Give* e 1 a *S. Birkenhead*.

I 3 ceppi isolati da urinocoltura sono riconducibili 1 a Variante monofasica di *Salmonella* Typhimurium, 1 a *S. Typhimurium* e 1 a *S. Brandenburg*. Il ceppo isolato contemporaneamente da feci e da sangue è riconducibile a *S. Strathcona* mentre quello isolato da tampone rettale a *S. Napoli*.

Nel 2020 è registrato anche 1 isolamento a partire da una matrice insolita, ossia *S. Typhimurium* da un tampone intra addominale.

Per quanto riguarda le percentuali di ospedalizzazione e non (Tabella 7), nonostante in 15 casi l'informazione relativa al ricovero o meno non sia stata riportata sulla scheda di notifica, è possibile comunque affermare che anche qualora questi 15 casi fossero relativi a pazienti non ricoverati, il numero degli ospedalizzati sarebbe in ogni caso il doppio di quello dei non ricoverati.

Tabella 7 Ospedalizzazione

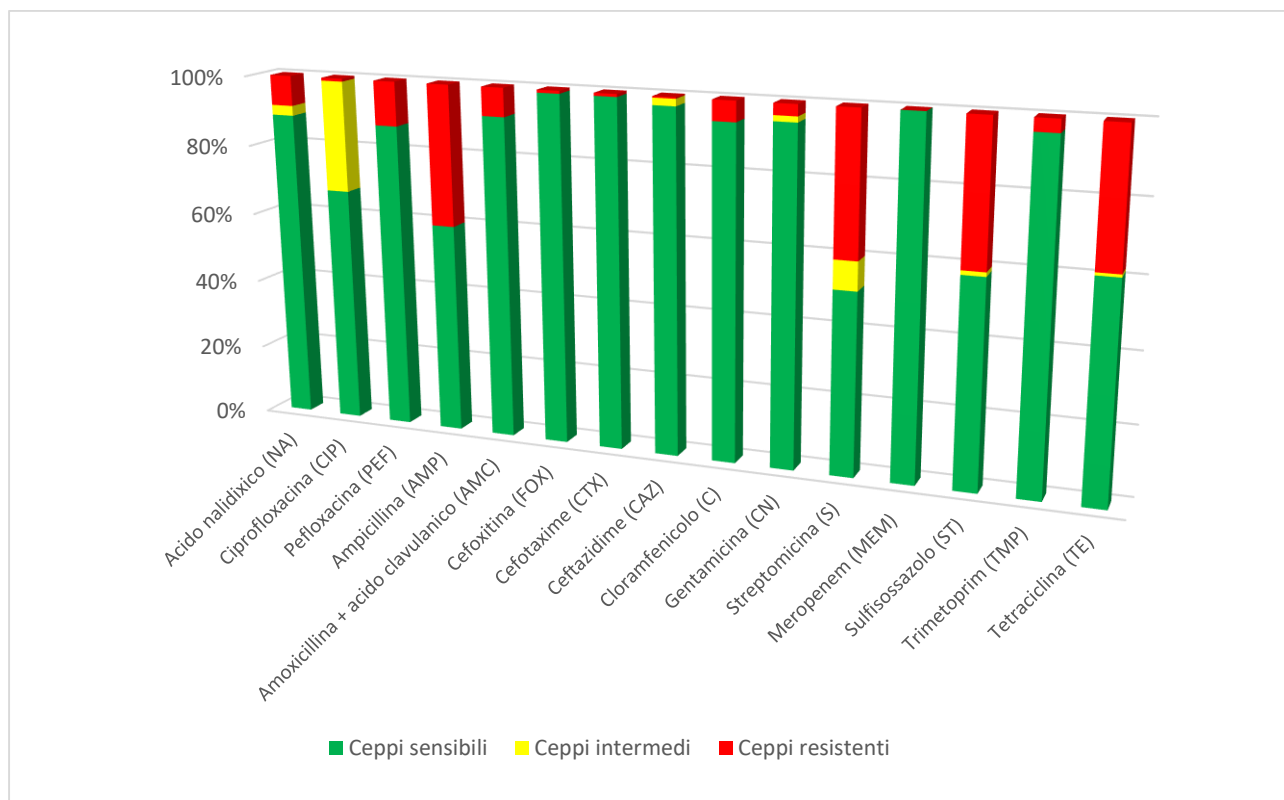
Ospedalizzazione	N.2020	% 2020	N.2019	% 2019
Sì	66	26,7	69	42,3
No	166	67,2	74	45,4
Non noto	15	6,1	20	12,3
Totale	247	100	163	100

1.2 Antibiotico-resistenza nei ceppi di *Salmonella* di origine umana

Tutti i ceppi di *Salmonella* di origine umana pervenuti al CRRPE (Tabella 8) sono stati saggiati per valutare la sensibilità agli antibiotici secondo le linee guida del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (*Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th ed.; CLSI Supplement M100; CLSI: Wayne, PA, USA, 2020*).

Tabella 8 e Grafico 2: Percentuali di sensibilità, di resistenza e di esito intermedio agli antibiotici testati su 247 ceppi totali

CLASSI DI ANTIBIOTICI	% CEPPI SENSIBILI	% CEPPI INTERMEDI	% CEPPI RESISTENTI
CHINOLONI E FLUOROCHINOLONI			
Acido nalidixico (NA)	87,8	2,8	8,5
Ciprofloxacina (CIP)	67,6	31,6	0,8
Pefloxacina (PEF)	87,4	-	12,6
PENICILLINE			
Ampicillina (AMP)	59,9	-	40,1
PENICILLINE+ INIBITORI β LATTAMASI			
Amoxicillina + acido clavulanico (AMC)	91,9	-	8,1
CEFAMICINE			
Cefoxitina (FOX)	99,2	-	0,8
CEFALOSPORINE			
Cefotaxime (CTX)	99,2	-	0,8
Ceftazidime (CAZ)	97,6	2	0,4
FENICOLI			
Cloramfenicolo (C)	94,3	-	5,7
AMMINOGLICOSIDI			
Gentamicina (CN)	95,2	1,6	3,2
Streptomycin (S)	51,8	8,1	40,1
CARBAPENEMI			
Meropenem (MEM)	100	-	-
INIBITORI PATHWAY FOLATO			
Sulfisossazolo (ST)	58,7	1,2	40,1
Trimetoprim (TMP)	96,4	-	3,6
TETRACICLINE			
Tetraciclina (TE)	61,5	0,8	37,7



Dalla tabella e dal grafico è possibile osservare come il maggior numero di resistenze siano relative alle molecole (AMP, S, ST, TE) coinvolte nel tipico profilo di resistenza presentato dalla Variante monofasica di *S. Typhimurium* che come descritto rappresenta, anche nel 2020, il primo sierotipo isolato da fonte umana.

Si precisa che pochi giorni prima l'invio del presente lavoro per la pubblicazione sulla rivista SPVet, è stato reso disponibile il report EFSA-ECDC relativo al 2019. Le considerazioni che seguono sono state fatte perciò, al momento della stesura, utilizzando come fonte la versione precedente relativa agli anni 2017-2018.

Secondo i dati del report congiunto EFSA-ECDC sull'antibiotico-resistenza dei batteri zoonotici e indicatori nell'uomo, animali e alimenti, relativo al periodo 2017-2018 nei 28 Stati Membri e pubblicato nel 2020 [2], i batteri del genere *Salmonella* sono sempre più resistenti ad Ampicillina, Tetraciclina e Sulfametossazolo, risultati inefficaci in media in circa un caso su tre di infezione. In Italia, sempre secondo i dati illustrati nel report EFSA-ECDC [2], ceppi di *Salmonella* hanno mostrato profili di resistenze nei confronti di tali antibiotici superiori alla media europea, con il Sulfametossazolo inefficace nel 44,9% dei casi, seguito da Tetraciclina (40,4%) e Ampicillina (37,4%). Il trend della regione Marche, come è possibile osservare, si allinea perfettamente ai dati nazionali.

Anche quest'anno così come accaduto nel 2019 [1], sono state registrate resistenze alle cefalosporine di seconda (FOX) e terza generazione (CTX e CAZ) nello specifico 1 isolato di Variante Monofasica di *Salmonella* Typhimurium resistente a FOX, 1 isolato di *S. Infantis* resistente a FOX, CTX e CAZ e 1 isolato di *S. Infantis* resistente a CTX confermando la circolazione, nella regione Marche, di ceppi di *Salmonella* produttori di β -lattamasi a spettro esteso (ESBL).

Dato degno di rilievo è rappresentato dai 78 ceppi intermedi alla Ciprofloxacina e dai 2 ceppi totalmente resistenti.

Sempre secondo i dati del report congiunto EFSA-ECDC [2], già nel 2017, in *Salmonella* spp. la resistenza ai fluorochinoloni risultava in aumento ed era pari al 13% dei ceppi totali isolati dall'uomo in Europa.

La Ciprofloxacina è un farmaco appartenente alla famiglia dei fluorochinoloni di seconda generazione, pertanto dotato di un più ampio spettro d'azione e di ottime proprietà farmacocinetiche. Il suo meccanismo d'azione si esplica inibendo due enzimi batterici: la DNA girasi (o topoisomerasi II batterica) e la topoisomerasi IV che sono coinvolti nei processi di superavvolgimento, disavvolgimento, taglio e saldatura dei due filamenti che costituiscono il DNA batterico.

Con l'inibizione di questi due enzimi tutti i processi cellulari, compresa la replicazione, vengono interrotti causando quindi morte cellulare batterica.

La comparsa di resistenza batterica alla Ciprofloxacina sembra essere un processo graduale che procede per stadi successivi. Non è noto, inoltre, lo sviluppo di una resistenza mediata da plasmidi.

I meccanismi che portano a sviluppare resistenza batterica ai fluorochinoloni sono essenzialmente due:

1. Mutazione spontanea dei geni che codificano per la DNA girasi con conseguente sintesi di DNA girasi resistente all'azione dei fluorochinoloni;
2. Diminuzione della concentrazione intracellulare del farmaco per variazioni della permeabilità della membrana cellulare batterica a causa della diminuzione delle porine della membrana esterna o per presenza di un sistema di trasporto energia-dipendente che espelle il composto.

La Ciprofloxacina rappresenta un farmaco d'elezione in terapia umana, di conseguenza la sua graduale perdita di efficacia a causa dell'aumento dell'insorgenza di resistenza nei suoi confronti, sta avendo e avrà un sempre maggiore impatto sulla salute umana.

L'unica classe di antibiotici per cui non è stata rilevata alcuna resistenza o condizione di suscettibilità intermedia è quella dei Carbapenemi (Meropenem) dato che si conferma in linea con i dati del report EFSA-ECDC [2] relativi a casi sporadici di infezioni da *Salmonella* nell'uomo resistenti ai Carbapenemi, classe di antibiotici di ultima istanza.

Nella tabella che segue viene riportato il numero dei ceppi umani risultati intermedi e resistenti alla Ciprofloxacina nel corso del 2020, suddivisi per sierotipo.

Tabella 9: Ceppi di origine umana con esito intermedio e resistente alla Ciprofloxacina

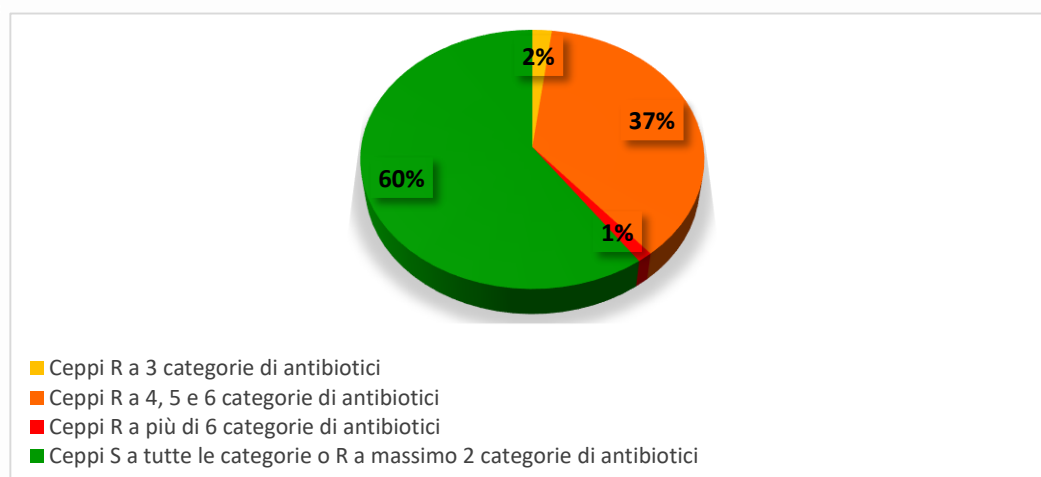
Sierotipo	N. Intermedi CIP	N. Resistenti CIP
Infantis	4	1
Birkenhead	-	1
Enteritidis	47	-
Variante monofasica di <i>S. Typhimurium</i> (VMST)	12	-
Typhimurium	3	-
Chester	2	-

Derby	2	-
Abony	1	
Bredeney	1	-
Give	1	-
Litchfield	1	-
London	1	-
Stanleyville	1	-
Strathcona	1	-
Typhi	1	-
Totale	78	2

Secondo il report EFSA-ECDC in *Salmonella* [2], resta ancora bassa ma osservata speciale, la resistenza congiunta (resistenza simultanea a due antibiotici di fondamentale importanza) ai fluorochinoloni associati alle cefalosporine di terza generazione tuttavia non bisogna dimenticare che percentuali anche basse di resistenza congiunta implicano, per molte migliaia di pazienti in tutta l'Ue, opzioni di cura limitate in caso di infezioni gravi. Il ceppo di *S. Infantis* resistente alla Ciprofloxacina, riportato in tabella, rientra in questa categoria dal momento che presenta contemporaneamente resistenza anche alla Cefoxitina (cefalosporina di seconda generazione), al Cefotaxime e al Ceftazidime (cefalosporine di terza generazione) oltre che ad Ampicillina, Amoxicillina+Acido clavulanico, Pefloxacina, Acido nalidixico, Sulfisossazolo, Trimethoprim, Tetraciclina e risulta intermedio alla Streptomina.

Per quanto riguarda le Enterobatteriacee, si considera multi-resistente (MDR multidrug-resistant) sulla base della definizione pubblicata dall'ECDC nel 2011 [3], un batterio resistente a tre o più categorie di antibiotici tra le 17 previste per la terapia dei patogeni appartenenti a tale famiglia batterica. Il grafico che segue è rappresentativo del totale dei ceppi di *Salmonella* spp. tipizzati nel 2020 suddivisi per il numero di classi antibiotiche a cui sono risultati resistenti su un totale di 10 categorie antibiotiche testate. Come si può osservare, la percentuale dei ceppi che rientrano nella definizione di multi-resistenti è pari al 40% del totale.

Grafico 3: Percentuali di ceppi MDR su un totale di 10 classi antibiotiche testate



1.3 *Campylobacter* di origine umana

Per quanto riguarda gli isolamenti di *Campylobacter* di origine umana, nel 2020 sono pervenuti al CRRPE un totale di 62 ceppi (Tabella 10).

Riguardo la loro distribuzione per classi di età, è possibile notare come per il 2020 a differenza del 2019 si sia verificata una equa ripartizione dei casi tra le classi 6-14 e 15-64 (Tabella 11).

La matrice di isolamento ha riguardato per tutti e 62 i casi il campione feci mentre l'ospedalizzazione si è resa necessaria nel 40,3 % dei casi (Tabelle 12 e 13).

Tabella 10: Distribuzione degli isolati di *Campylobacter* per laboratorio di origine e per specie

Laboratorio	<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Campylobacter coli</i>	<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	TOT
AO Ospedali Riuniti Marche Nord sedi di Pesaro e Fano	4	-	-	4
AOU Ospedali Riuniti Ancona	1	-	-	1
INRCA Osimo	1	-	-	1
AV 1 sede di Urbino	-	2	-	2
AV 2 sede di Senigallia	16	1	1	18
AV 2 sedi di Jesi e Fabriano	18	1	-	19
AV 3 sede di Macerata	5	-	-	5
AV 4 sede di Fermo	7	-	-	7
AV 5 sedi di Ascoli Piceno e San Benedetto del Tronto	4	-	1	5
Totale	56	4	2	62

Tabella 11: Distribuzione degli isolamenti umani per classe d'età.

Età (in anni)	N. 2020	% 2020	N. 2019	% 2019
≤ 1	3	4,8	4	6
2 - 5	6	9,7	8	11,9
6 -14	18	29	8	11,9
15 - 64	18	29	35	52,2
> 64	17	27,5	12	18
Non noto	-	-	-	-
Totale	62	100	67	100

Tabella 12: Matrici di isolamento

Matrice	N.	% 2020
Feci	62	100
Totale	62	100

Tabella 13: Ospedalizzazione

Ospedalizzazione	N.	% 2020
Sì	25	40,3
No	27	43,5
Non noto	10	16,2
Totale	62	100

1.4 Antibiotico-resistenza nei ceppi di *Campylobacter* di origine umana

Per quanto riguarda l'antibiotico-resistenza in *Campylobacter*, i dati del report EFSA-ECDC indicano una elevata/estremamente elevata resistenza alla Ciprofloxacina e alla Tetraciclina, in aumento nel tempo, in particolare negli isolati di *Campylobacter* dall'uomo, da pollame e carne derivata. La resistenza all'Eritromicina è stata individuata a livelli molto più bassi e in diminuzione in *Campylobacter jejuni* ma a livelli moderati negli isolati di *Campylobacter coli* da suini e umani.

Resta quindi bassa la resistenza congiunta ai fluorochinoloni associati ai macrolidi in *Campylobacter*.

Di seguito (Tabella 14) sono riportati gli esiti dei test di sensibilità condotti dall'Istituto Superiore di Sanità su una selezione di campioni inviati dal Centro Enteropatogeni nell'ambito della rete di sorveglianza Enter-Net ed è possibile osservare come i dati regionali siano sovrapponibili a quelli europei precedentemente descritti.

Tabella 14: Esiti dei test di sensibilità su una selezione di ceppi di *Campylobacter*

ANTIBIOTICO	N. CEPPI SENSIBILI	N. CEPPI INTERMEDI	N. CEPPI RESISTENTI
Ciprofloxacina (CIP)	-	-	4
Tetraciclina (TE)	1	-	3
Gentamicina (CN)	4	-	-
Eritromicina C. jejuni (ERI)	4	-	-
TOTALE CEPPI TESTATI	4		

1.5 Altri Enteropatogeni di origine umana: *Cronobacter sakazakii*

Rappresenta sicuramente un dato di rilievo l'isolamento del ceppo di *Cronobacter sakazakii* presso il laboratorio analisi di Clinica Villa dei Pini di Civitanova Marche e inviato al CRRPE.

Cronobacter sakazakii è un batterio patogeno opportunisto responsabile di forme di infezione neonatale (soprattutto meningite ed enterocolite necrotizzante) in molti casi mortali. In base a recenti studi il germe ha dimostrato un'ampia diffusione, essendo stato isolato da svariate categorie di alimenti oltre che da campioni ambientali provenienti da industrie alimentari di vario tipo, da ambiente domestico ed ospedaliero e da insetti, anche se un'associazione diretta tra l'infezione ed il consumo di un alimento è stata più volte dimostrata soltanto nel caso di utilizzo di formulazioni a base di latte in polvere per la prima infanzia. A questo riguardo la presenza di una carica anche modesta del germe in tale tipologia di alimenti è sufficiente a determinare il rischio di infezione in bambini nei primi mesi di vita, soprattutto se nati sottopeso o immunodepressi. L'alta resistenza di tale microrganismo all'essiccamento è dovuta alla sua capacità di sopravvivere a bassi valori di attività dell'acqua (aw) di alimenti quali appunto il latte in polvere a causa dell'effetto protettivo determinato dal trealosio che funge da stabilizzante di membrana

Particolarmente interessante è inoltre la capacità di *C. sakazakii* di produrre una sostanza capsulare viscosa che determina la formazione di una pellicola sulle superfici di attrezzature e recipienti con cui il microrganismo viene a contatto e dove può quindi permanere.

Il numero di casi documentati a livello mondiale è davvero esiguo tuttavia è molto probabile che la cifra sia notevolmente sottostimata in quanto molti laboratori clinici non effettuano test per questo microrganismo e sistemi ufficiali di controllo non sono applicati in molti Paesi, in particolare in quelli in via di sviluppo, dove l'uso di latte in polvere come sostituto del latte materno è andato crescendo negli ultimi anni. Dalla casistica delle infezioni da *C. sakazakii*, la popolazione maggiormente a rischio per queste infezioni è costituita da: bambini nati dopo meno di 36 settimane di gestazione, che rimangono ad altissimo rischio fino ad un'età di 4-6 settimane dopo il termine di gravidanza; bambini immunodepressi di qualsiasi età (in particolare sieropositivi per il virus HIV); bambini nati a termine di gravidanza ospedalizzati in unità neonatali intensive. Riguardo alle forme cliniche, *C. sakazakii* è responsabile di forme gravi di setticemia, meningite neonatale ed enterocolite necrotizzante in neonati prematuri, oltre a sostenere in rari casi forme di batteriemia ed osteomielite in adulti. La casistica di infezioni è decisamente maggiore in neonati e bambini rispetto agli adulti, nei quali non si segnalano casi mortali e interessamento del sistema nervoso centrale, che invece avviene nei neonati, nei quali *C. sakazakii* dimostra uno spiccato tropismo per il sistema nervoso centrale le cui basi non sono state ancora spiegate. Si ipotizza che una volta superata la barriera gastrica il plesso carotideo sia il più probabile sito di ingresso e che le modalità di invasione coinvolgano meccanismi para- e trans-cellulari. I metaboliti batterici come i glicopeptidi, le endotossine, le proteasi, le collagenasi e l'elastasi, sembrano indurre la permeabilità delle barriere ematica e cerebrale facilitando, di conseguenza, l'ingresso del patogeno.

Il superamento della barriera gastrica è una condizione molto più probabile nei neonati e soprattutto nei soggetti prematuri causa un pH gastrico meno acido rispetto a quello degli adulti condizione quest'ultima che garantisce maggiori possibilità di inattivazione delle enterotossine del microrganismo nonché il suo confinamento a livello gastrico intestinale. Questo spiegherebbe la maggior incidenza di casi neonatali nonché la maggiore severità delle manifestazioni cliniche nei neonati piuttosto che negli adulti [].

Il ceppo isolato e identificato presso il laboratorio analisi di Clinica Villa Pini è stato isolato da coprocultura di un soggetto adulto di 39 anni di sesso femminile e inviato al CRREP per ulteriore conferma.

Nell'impossibilità di confermare il ceppo tramite metodo biochimico o MALDITOF poiché non più vitale, il CRRPE si è avvalso del supporto dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) che ha eseguito un 16S rRNA gene sequencing, tecnica che viene comunemente utilizzata per l'identificazione e la differenziazione delle specie batteriche e consiste nell'analisi di piccole regioni (<500 bp) ipervariabili di geni conservati o regioni intergeniche, come il gene 16S batterico (componente altamente conservato del meccanismo trascrizionale di tutte le forme di vita basate sul DNA), che vengono amplificate mediante PCR e sequenziate mediante tecnologia Next Generation Sequencing (NGS). Le sequenze risultanti vengono confrontate con quelle presenti in database contenenti sequenze microbiche note.

L'analisi in 16S rRNA gene sequencing ha confermato l'identificazione di *Cronobacter sakazakii* eseguita dal laboratorio analisi presso cui il ceppo è stato isolato. Purtroppo non è stato possibile reperire ulteriori informazioni epidemiologiche oltre a quelle riportate nella scheda di notifica Enter-Net, come ad esempio il consumo di cibo sospetto, dal momento che il SISP di competenza per AV non ha ricevuto alcuna segnalazione di infezione accertata impedendo di fatto l'esecuzione dell'indagine epidemiologica da parte delle Autorità competenti.

2. Zoonosi a trasmissione alimentare: isolati di origine non umana

La quasi totalità di isolati di origine non umana è rappresentata da ceppi di *Salmonella* spp. (Tabella15).

Tabella 15: Numero di isolati di origine non umana distinti per struttura

Strutture	<i>Salmonella</i>	<i>Campylobacter</i>	<i>Listeria</i>	Totale
IZSUM	205	13	58	277
ARPAM				10
➤ Dipartimento Pesaro	9	-	-	
➤ Dipartimento Macerata	1	-	-	
LABORATORI PRIVATI				220
➤ Eco Control (Fermo)	159	-	-	
➤ Centro Assistenza Ecologica (Ancona)	23	-	-	
➤ Intertek (Fermo)	21	-	-	
➤ Analisi Control (Corridonia, MC)	13	-	4	
Totale	431	13	62	507

Salmonella:

Nel corso dell'anno 2020, il numero totale dei ceppi di *Salmonella* di origine non umana è considerevolmente aumentato rispetto all'anno precedente (307 isolamenti nel 2019). Tale aumento ha riguardato i ceppi batterici isolati da campioni effettuati sia in ambito ufficiale che di autocontrollo (113 nel 2019), i ceppi ottenuti dai campionamenti eseguiti in autocontrollo nell'ambito del piano nazionale delle salmonellosi negli avicoli da parte del laboratorio Eco Control (105 nel 2019) e quelli inviati dal laboratorio Analisi Control (0 nel 2019). Al contrario è notevolmente diminuito il numero dei ceppi di *Salmonella* inviati dall'ARPAM (34 nel 2019).

Campylobacter.

Gli isolamenti di *Campylobacter* relativi alle **analisi condotte in ambito di autocontrollo** derivano da campioni di pelle del collo, carni fresche e frattaglie di pollo analizzati presso il laboratorio di Sicurezza Alimentare della sezione di Tolentino e della sezione di Fermo nell'ambito della valutazione della presenza di *Campylobacter* come indicatore di igiene di processo sulle carcasse di pollo.

Nello specifico, nel corso del 2020, sono state identificate 13 positività per *Campylobacter* su un totale di 50 campioni analizzati. I dettagli sono riportati nel paragrafo 2.7 *Campylobacter* di origine non umana.

Listeria.

I ceppi di *Listeria monocytogenes* ottenuti nell'ambito delle **attività istituzionali dell'IZSUM** sono relativi agli esami di ricerca (analisi qualitativa) e di conta (analisi quantitativa) che hanno permesso nel corso del 2020 l'isolamento di 58 ceppi di *Listeria monocytogenes* a fronte di 6 campioni positivi prelevati dai Servizi dei Dipartimenti di Prevenzione ASUR nell'ambito del Controllo Ufficiale. Tali campioni hanno riguardato:

- Prodotti a base di carne cotti: coppa
- Preparazioni di carne ready to eat: tartare di bovino
- Prodotti della pesca trasformati: salmone affumicato
- Prodotti a base di carne crudi: salume di fegato (soppressata)
- Prodotti a base di carne crudi: salame magro
- Prodotti a base di carne crudi: salame

Per quanto riguarda invece le **analisi condotte in autocontrollo** sono stati inviati nel corso del 2020, 4 ceppi di *Listeria* che sono stati sottoposti a identificazione biochimica e molecolare (PCR per l'identificazione di *Listeria monocytogenes*). Di seguito i risultati:

- 3 ceppi di *Listeria monocytogenes* isolati da campioni prelevati presso un laboratorio lavorazione carni suine
- 1 ceppo di *Listeria innocua* isolata da un campione prelevato presso un laboratorio lavorazione carni suine

2.1 *Salmonelle* di origine non umana

I ceppi di *Salmonella* di origine non umana sono generalmente suddivisi per origine alimentare, animale (feci, organo), ambientale veterinaria (polvere, soprascarpe, tampone da superficie) e ambientale fluviale e lacustre (acque superficiali). Per il 2020 si sono aggiunte due ulteriori categorie: acqua di abbeverata prelevata in allevamento e acqua di acquario prelevata presso un'abitazione privata (Tabella 16). Rispetto al 2019, nel 2020 si registra un aumento degli isolati di *Salmonella* da matrice alimentare dovuto al maggior numero di campioni risultati non conformi nell'ambito delle analisi relative ai controlli ufficiali del Piano Nazionale Alimenti e a quelli condotti in autocontrollo.

Per quanto riguarda le matrici animale, ambientale veterinaria e ambientale fluviale, i dati del 2020 indicano una diminuzione dei ceppi di origine ambientale fluviale e lacustre e un notevole aumento dei ceppi di origine ambientale veterinaria, aumento riconducibile all'incremento del numero di campionamenti eseguiti in autocontrollo da parte di una delle realtà avicole presenti nel territorio marchigiano.

Tabella 16: Isolati di *Salmonella* origine non umana distinti per origine

Origine	N. 2020	% 2020	N. 2019	% 2019
Alimentare	184	42,7	141	45,9
Animale	18	4,2	11	3,6
Ambientale veterinario	202	46,9	121	39,4
Ambientale fluviale e lacustre	10	2,3	34	11,1
Acqua abbeverata (allevamento)	12	2,8	-	-
Acqua acquario tartarughe (abitazione privata)	5	1,2	-	-
Totale	431	100	307	100

Grafico 4: Distribuzione degli isolati di *Salmonella* di origine non umana per sierotipo

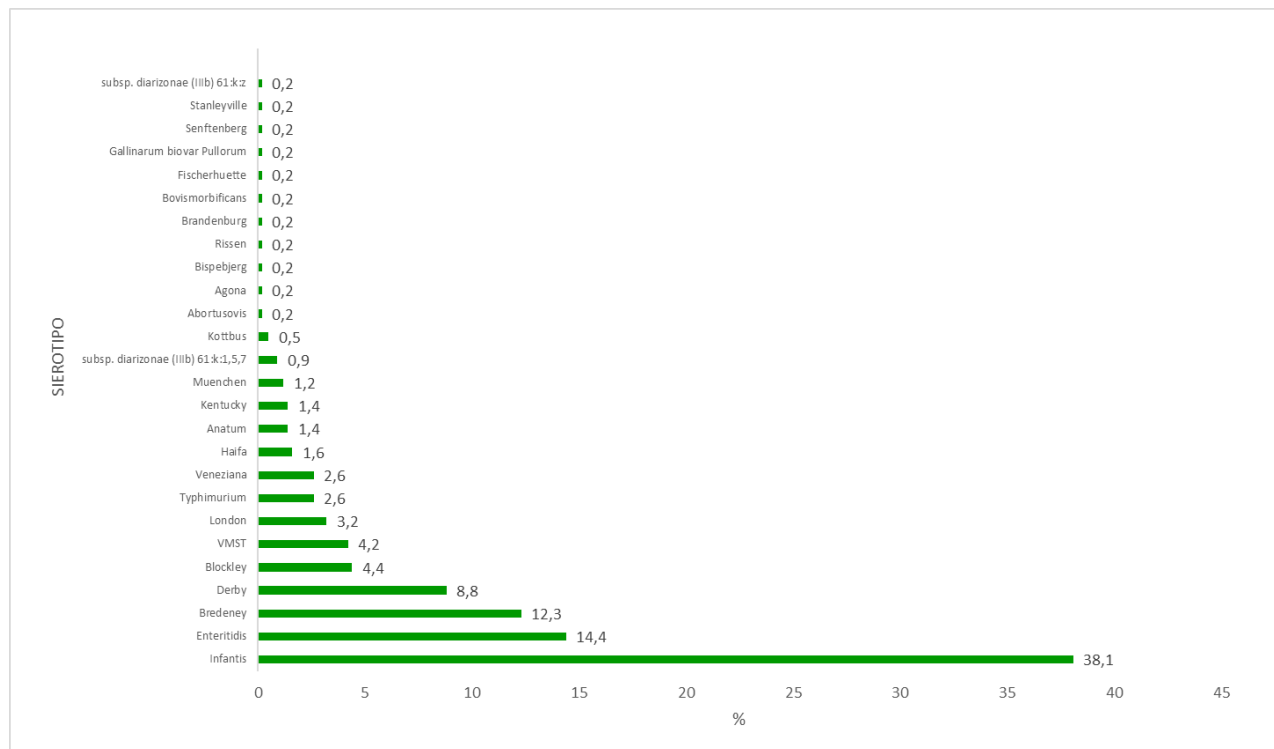
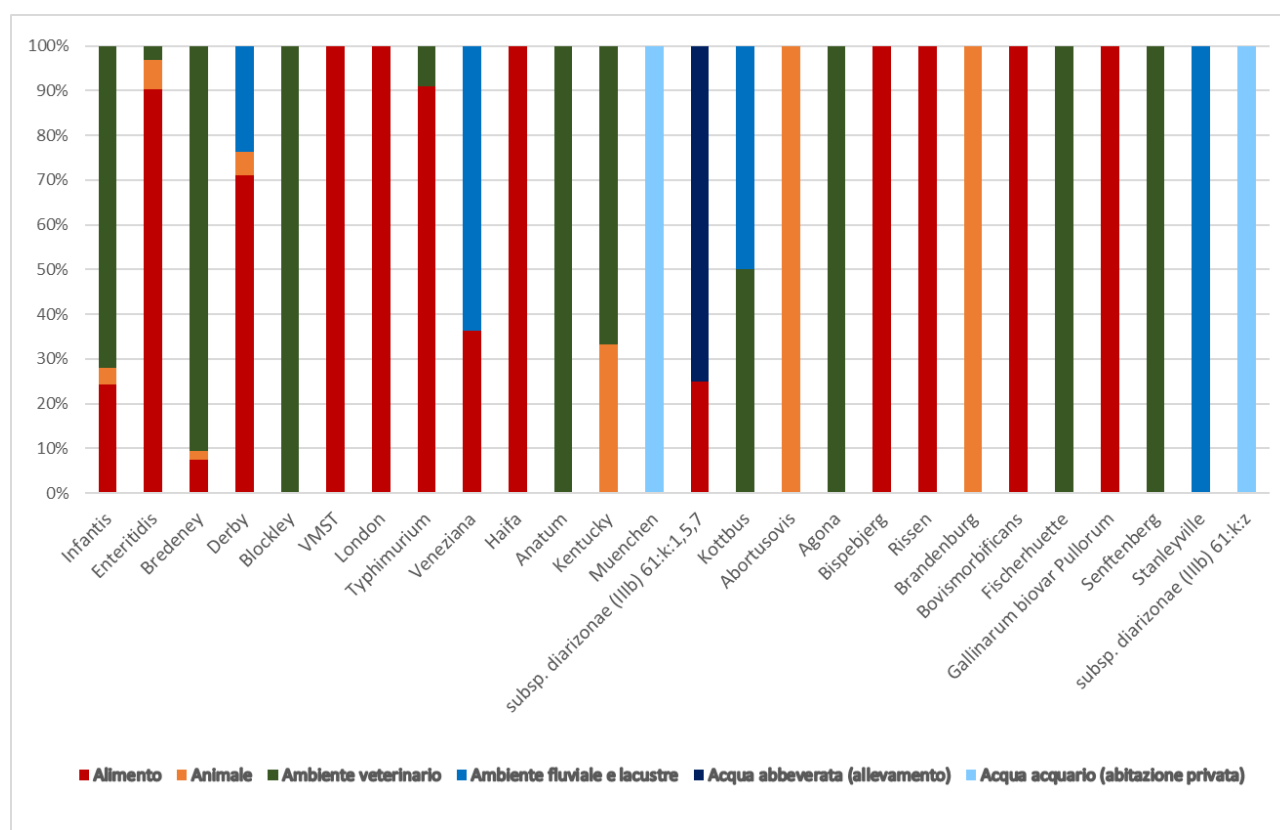


Tabella 17 e Grafico 5: Distribuzione dei sierotipi di *Salmonella* di origine non umana per origine

Sierotipo	Alimento	Animale	Ambiente veterinario	Ambiente fluviale e lacustre	Acqua abbeverata allevamento	Acqua acquario tartarughe	N°	%
Infantis	40	6	118	-	-	-	164	38,1
Enteritidis	56	4	2	-	-	-	62	14,4
Bredeney	4	1	48	-	-	-	53	12,3
Derby	27	2	-	9	-	-	38	8,8
Blockley	-	-	19	-	-	-	19	4,4
Variante monofasica di <i>S. Typhimurium</i> (VMST)	18	-	-	-	-	-	18	4,2
London	14	-	-	-	-	-	14	3,2
Typhimurium	10	-	1	-	-	-	11	2,6
Veneziana	4	-	-	7	-	-	11	2,6
Haifa	7	-	-	-	-	-	7	1,6
Anatum	-	-	6	-	-	-	6	1,4
Kentucky	-	2	4	-	-	-	6	1,4
Muenchen	-	-	-	-	-	5	5	1,2
subsp. <i>diarizonae</i> (IIb) 61:k:1,5,7	1	-	-	-	3	-	4	0,9

Kottbus	-	-	1	1	-	-	2	0,5
Abortusovis	-	1	-	-	-	-	1	0,2
Agona	-	-	1	-	-	-	1	0,2
Bispebjerg	1	-	-	-	-	-	1	0,2
Rissen	1	-	-	-	-	-	1	0,2
Brandenburg	-	1	-	-	-	-	1	0,2
Bovismorbificans	1	-	-	-	-	-	1	0,2
Fischerhuetten	-	-	1	-	-	-	1	0,2
Gallinarum biovar Pullorum	1	-	-	-	-	-	1	0,2
Senftenberg	-	-	1	-	-	-	1	0,2
Stanleyville	-	-	-	1	-	-	1	0,2
subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb) 61:k:z	-	-	-	-	-	1	1	0,2
Totale	185	17	202	18	3	6	431	100

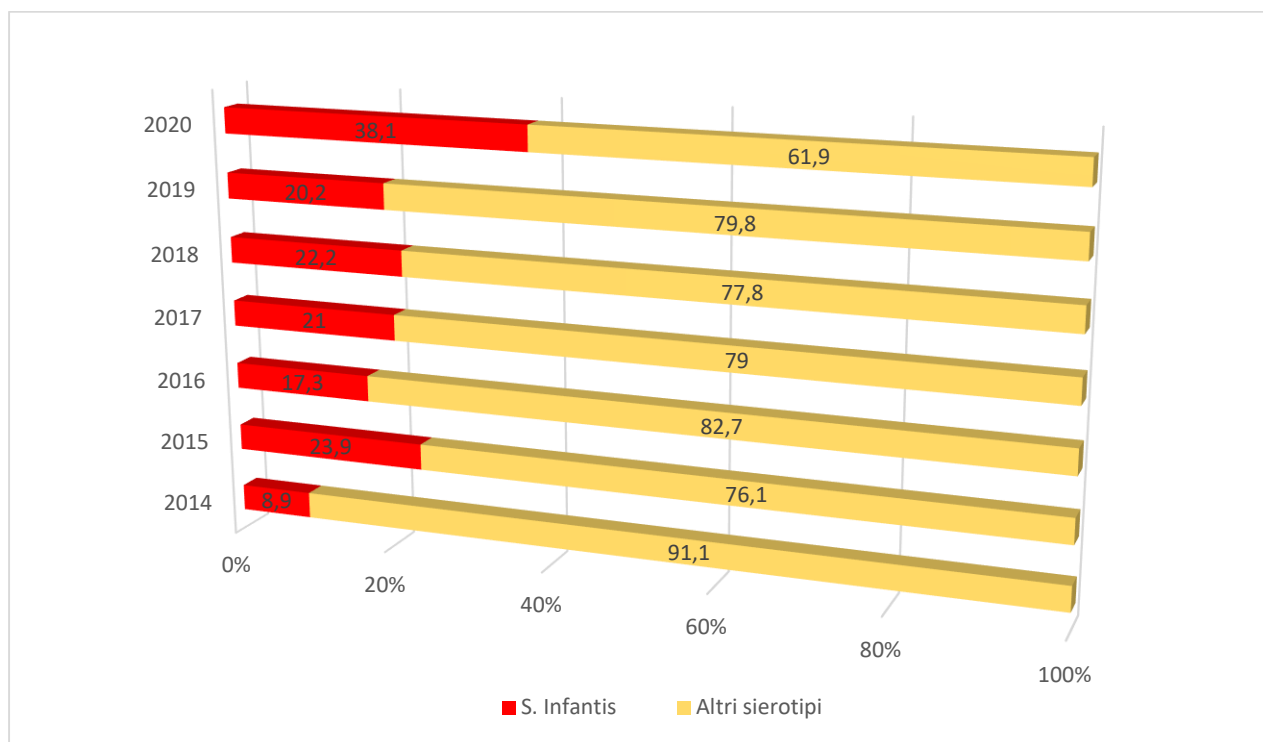


Nel 2020 così come era accaduto nel 2018, è tornato al primo posto tra i sierotipi di *Salmonella* maggiormente tipizzati, la *Salmonella* Infantis mentre è scesa al terzo posto la *S. Bredeney* (Tabella 17 e Grafici 3 e 4) che nel 2019 aveva rappresentato il primo sierotipo. Per quanto riguarda quest'ultimo, fino a qualche anno fa era generalmente associato alla specie suina mentre anche nel 2020 così come già era accaduto nel 2019 [1], è stato isolato in tutti e 53 i casi nell'ambito del Piano controllo alimenti (carne fresca e lavorata di pollo) e del

Piano Nazionale di controllo delle salmonellosi negli avicoli (feci, soprascarpe e tamponi ambientali presso allevamenti di polli da carne) indicando il suo definitivo ingresso nella filiera avicola (Tabella 17).

Per quanto riguarda *S. Infantis*, nel 2020 il numero di isolati è aumentato esponenzialmente con ben 164 ceppi contro i 62 del 2019 [1]. Le frequenze di tale sierotipo sono progressivamente aumentate a partire dal 2014 (Grafico 5). Più della metà del totale dei ceppi di *S. Infantis* (85 su 164) isolati a partire da matrice alimentare, animale e ambientale veterinaria presenta il fenotipo ESBL (produzione di β -lattamasi a spettro esteso) e le matrici di isolamento sono relative a carne fresca e lavorata di pollo, soprascarpe, feci e polvere campionati presso allevamenti di polli da ingrasso.

Grafico 6: Frequenza di *S. Infantis* rispetto al totale dei sierotipi per anno



2.1.1 *Salmonelle* isolate da matrice animale

Nelle tabelle 18 e 19 e nei grafici 6 e 7 è riportata la distribuzione dei sierotipi di *Salmonella* isolati da animali suddivisi per specie di origine.

Tabella 18 e Grafico 7: Distribuzione dei sierotipi per specie animale

Sierotipo	Pollo da carne	Gallina ovaioia	Tacchino	Ovino	Suino	Bovino	Mollusco bivalve	N.	%
Infantis	159	-	-	-	2	-	1	162	40,6
Enteritidis	-	-	-	59	-	-	3	62	15,5
Bredeney	51	-	-	-	-	-	-	51	12,7
Derby	1	-	-	-	27	1	-	29	7,2
Blockley	19	-	-	-	-	-	-	19	4,7
Var. mon. <i>S.</i> Typhimurium (VMST)	-	-	-	-	12	5	-	17	4,2
London	-	-	-	-	14	-	-	14	3,5
Typhimurium	2	-	-	-	3	1	5	11	2,8
Haifa	-	-	7	-	-	-	-	7	1,8
Kentucky	2	4	-	-	-	-	-	6	1,5
Anatum	6	-	-	-	-	-	-	6	1,5
Veneziana	-	-	-	-	1	-	3	4	1
Rissen	-	-	-	-	1	-	-	1	0,3
Brandenburg	-	1	-	-	-	-	-	1	0,3
Agona	1	-	-	-	-	-	-	1	0,3
Fischerhuetten	1	-	-	-	-	-	-	1	0,3
Kottbus	1	-	-	-	-	-	-	1	0,3
Senftenberg	1	-	-	-	-	-	-	1	0,3
Gallinarum biovar Pullorum	-	1	-	-	-	-	-	1	0,3
Bovismorbificans	-	-	-	-	1	-	-	1	0,3
Abortusovis	-	-	-	1	-	-	-	1	0,3
subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb) 61:k:1,5,7	-	-	-	1	-	-	-	1	0,3
Totale	244	6	7	61	61	7	12	398	100

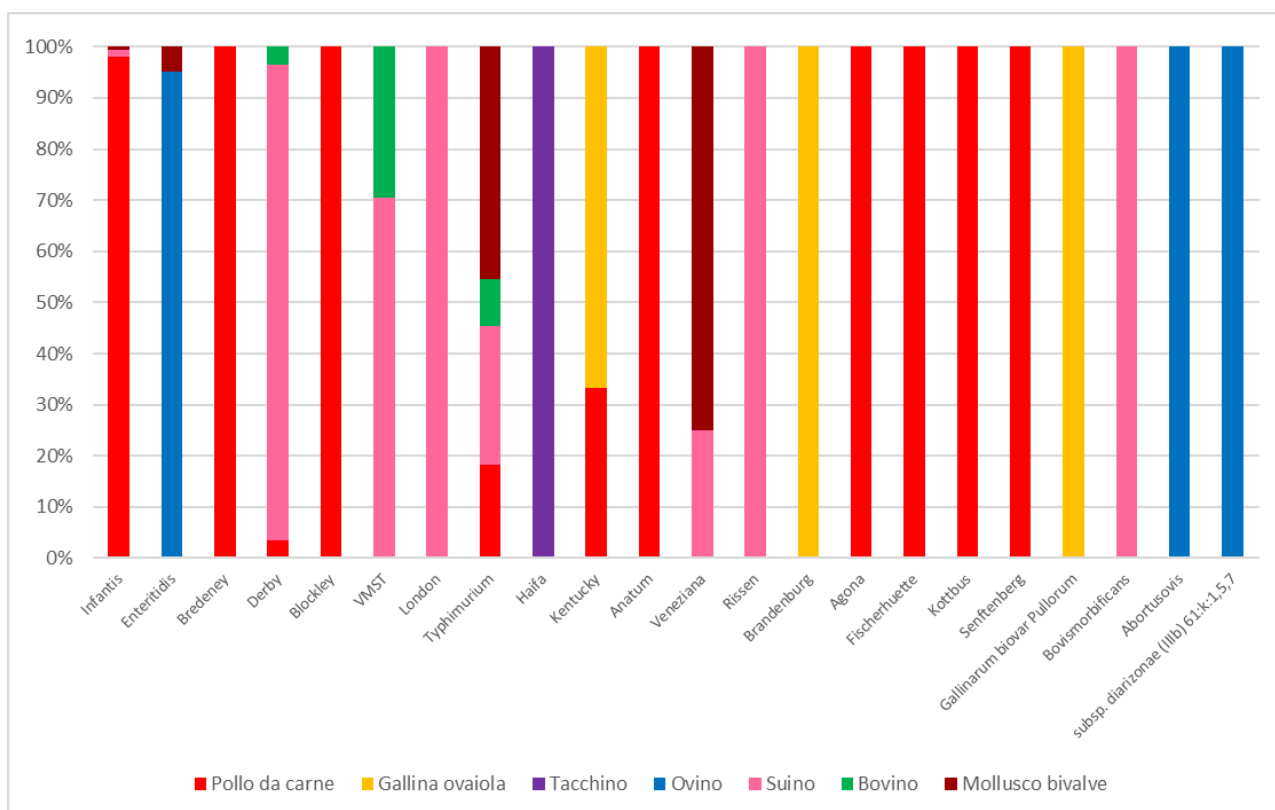
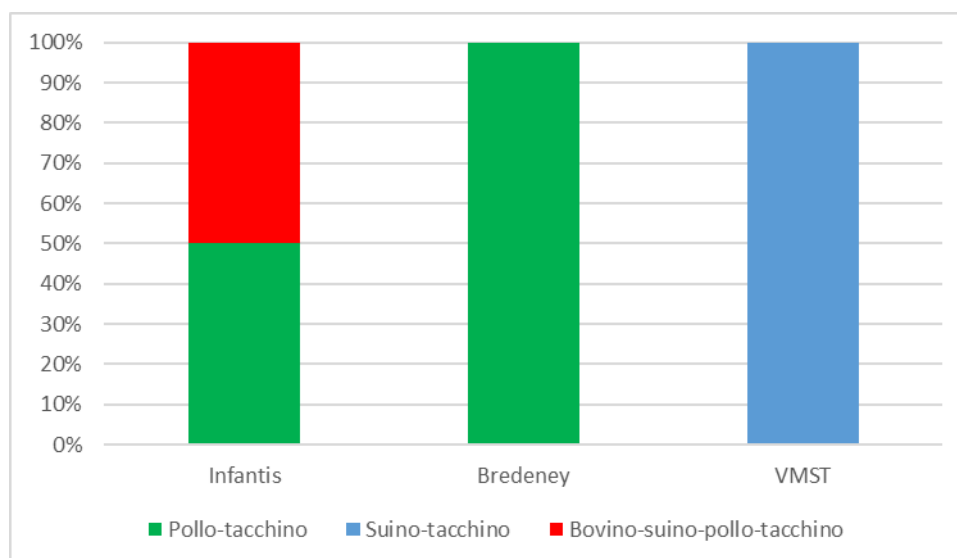


Tabella 19 e Grafico 8: Distribuzione dei sierotipi per specie animale mista

Sierotipo	Pollo-Tacchino	Suino-Tacchino	Bovino-Suino-Pollo-Tacchino	N.	%
Infantis	1	-	1	2	40
Bredeney	2	-	-	2	40
Var. mon. <i>S.</i> Typhimurium (VMST)	-	1	-	1	20
Totale	3	1	1	5	100



Dalla tabella 18 è possibile osservare come quest'anno così come per i precedenti, il principale serbatoio animale di *Salmonella* sia rappresentato dal pollo da ingrasso (broiler).

Per quanto riguarda il sierotipo più frequentemente tipizzato, ritorna in prima posizione la *S. Infantis* che nel 2019 [1] rappresentava il secondo sierotipo dopo la *S. Bredeney*.

Il saggio di resistenza agli antibiotici per i ceppi di *S. Infantis* ha confermato, come negli anni passati, che più della metà degli isolati presentano un fenotipo ESBL ossia che si tratta di ceppi produttori di β -lattamasi a spettro esteso in grado di idrolizzare le cefalosporine di seconda e terza generazione.

L'elevato numero di isolati di *S. Enteritidis* invece è totalmente riconducibile all'evento tossinfettivo della primavera scorsa legato al consumo di "primo sale" prodotto con latte ovino crudo. Dalle interviste alle persone coinvolte si è risaliti alla fonte alimentare comune e si è proceduto con il prelievo e l'analisi di reperti di formaggio prelevati presso le abitazioni private, di campioni prelevati presso i supermercati rivenditori e presso i due caseifici produttori del formaggio di cui uno fornitore del latte per l'altro. I prelievi condotti presso l'allevamento ovino hanno permesso di individuare la positività per *S. Enteritidis* nei campioni di feci di due pecore e nella secrezione mammaria di uno dei due animali lasciando formulare l'ipotesi che la contaminazione ambientale tramite le feci e la dispersione di *S. Enteritidis* direttamente con il latte abbiano portato ad un elevato livello di contaminazione del latte di massa e di conseguenza del prodotto finito.

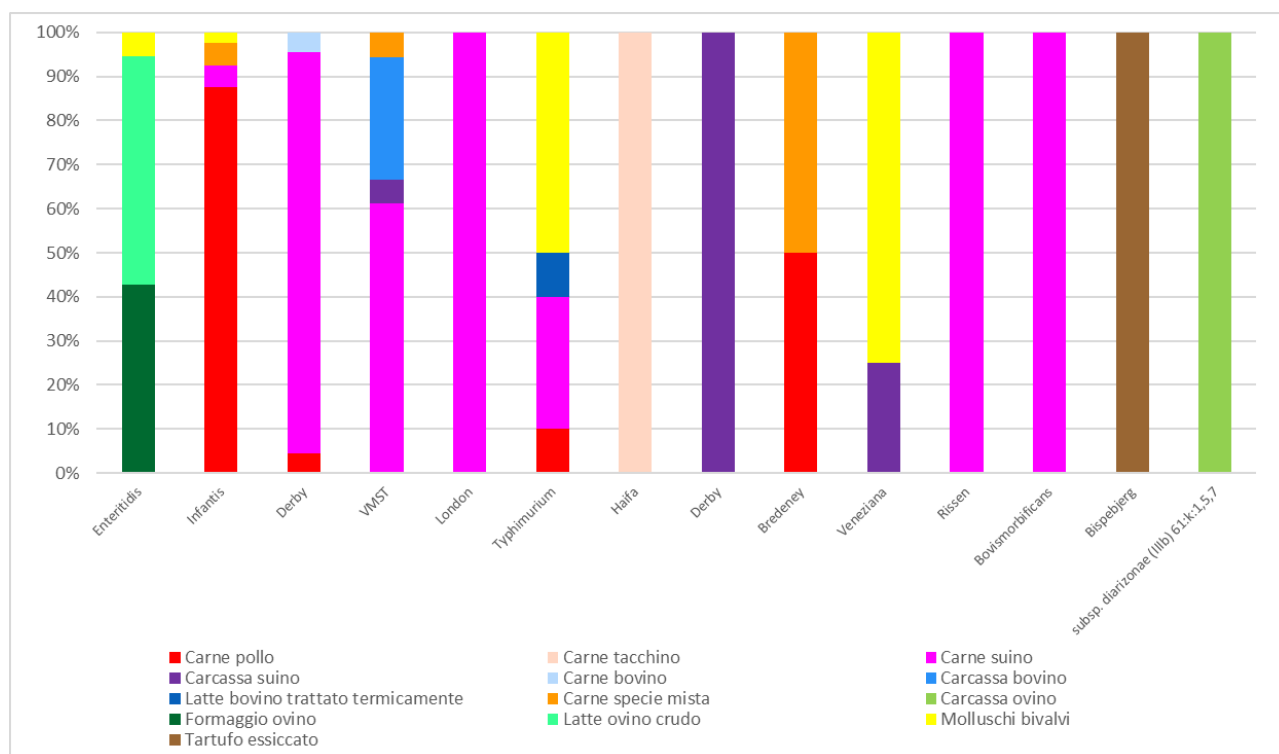
Per quanto riguarda il sierotipo Bredeney come detto precedentemente, si associa generalmente alla specie suina tuttavia anche quest'anno il suo isolamento nel pollo da carne conferma definitivamente il suo ingresso anche nella filiera avicola.

2.1.2 *Salmonelle* isolate da matrice alimentare

Nella tabella 20 e nel grafico 8 è mostrata la distribuzione dei sierotipi di *Salmonella* isolati da matrice alimentare; sono inclusi gli isolamenti da campioni di carcasse prelevati al mattatoio.

Tabella 20 e Grafico 9: Distribuzione dei sierotipi per matrice alimentare

Sierotipo	carne pollo	carne tacchino	carne suino	carcassa suino	carne bovino	carcassa bovino	latte bovino trattato termicamente	carne specie mista	carcassa ovino	formaggio ovino	latte ovino crudo	molluschi bivalvi	tartufo essiccato	N.	%
Enteritidis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24	29	3	-	56	30,4
Infantis	35	-	2	-	-	-	-	2	-	-	-	1	-	40	21,7
Derby	1	-	20	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	22	12
Var. mon. S. Typhimurium (VMST)	-	-	11	1	-	5	-	1	-	-	-	-	-	18	9,8
London	-	-	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14	7,6
Typhimurium	1	-	3	-	-	-	1	-	-	-	-	5	-	10	5,4
Haifa	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	3,8
Derby	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	2,7
Bredeney	2	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	4	2,2
Veneziana	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	3	-	4	2,2
Rissen	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,5
Bovismorbificans	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,5
Bispebjerg	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	0,5
subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb) 61:k:1,5,7	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	0,5
Totale	39	7	52	7	1	5	1	5	1	24	29	12	1	184	100



Rispetto al 2019 [1], nel 2020 il numero di stipiti isolati da matrici alimentari è notevolmente aumentato passando da 141 a 184. La carne di suino risulta essere la matrice alimentare da cui deriva il maggior numero di isolati; i sierotipi maggiormente diffusi sono la *S. Derby* e la *S. London* seguite dalla Variante monofasica di *Salmonella Typhimurium*.

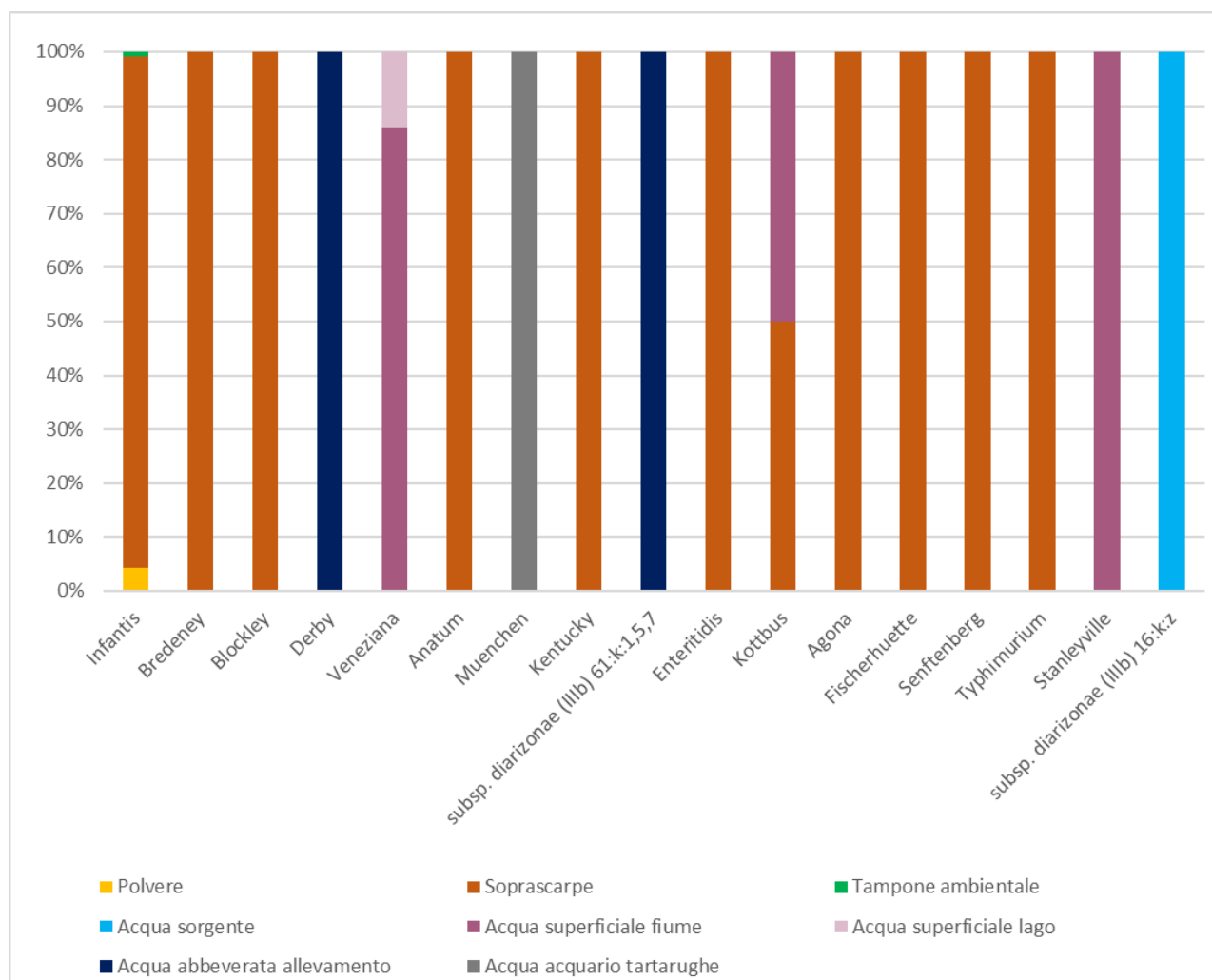
La seconda tipologia di matrice alimentare risultata positiva è rappresentata da carne di pollo ed è strettamente associata al sierotipo *Infantis*. Per quanto riguarda *S. Bredeney*, è da notare come dei 53 isolati totali per tale sierotipo relativi alla specie animale pollo, solamente 4 siano di origine alimentare mentre i restanti 49 derivino da campionamenti eseguiti in produzione primaria (Tabella 17 e Grafico 4). La terza e la quarta matrice maggiormente rappresentate sono il formaggio ovino e il latte crudo ovino campionati nell'ambito della tossinfezione da *S. Enteritidis*.

2.1.3 *Salmonelle* isolate da matrice ambientale

Le *Salmonelle* isolate da matrici ambientali sono rappresentate nella tabella 21 e nel grafico 9 suddivise per sierotipo e fonte di isolamento.

Tabella 21 e Grafico 10: Distribuzione dei sierotipi di origine ambientale

Sierotipo	polvere	soprascarpe	tampone ambientale	acqua sorgente	acqua superficiale fiume	acqua superficiale lago	acqua abbeverata allevamento	acqua acquario tartarughe	N.	%
Infantis	5	112	1	-	-	-	-	-	118	51,5
Bredeney	-	48	-	-	-	-	-	-	48	21
Blockley	-	19	-	-	-	-	-	-	19	8,3
Derby	-	-	-	-	-	-	9	-	9	3,9
Veneziana	-	-	-	-	6	1	-	-	7	3,2
Anatum	-	6	-	-	-	-	-	-	6	2,6
Muenchen	-	-	-	-	-	-	-	5	5	2,3
Kentucky	-	4	-	-	-	-	-	-	4	1,7
subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb) 61:k:1,5,7	-	-	-	-	-	-	3	-	3	1,3
Enteritidis	-	2	-	-	-	-	-	-	2	0,9
Kottbus	-	1	-	-	1	-	-	-	2	0,9
Agona	-	1	-	-	-	-	-	-	1	0,4
Fischerhuetten	-	1	-	-	-	-	-	-	1	0,4
Senftenberg	-	1	-	-	-	-	-	-	1	0,4
Typhimurium	-	1	-	-	-	-	-	-	1	0,4
Stanleyville	-	-	-	-	1	-	-	-	1	0,4
subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb) 16:k:z	-	-	-	1	-	-	-	-	1	0,4
Totale	5	196	1	1	7	1	12	5	229	100



Al primo posto in frequenza compare la *S. Infantis* con 118 ceppi seguita da *S. Bredeney* con 48 ceppi; in entrambi i casi tutti i ceppi di *S. Infantis* e *S. Bredeney* sono stati isolati in allevamenti avicoli a conferma dell'adattamento di tali sierotipi a questa tipologia di habitat. Rispetto allo scorso anno, i ceppi di *S. Infantis* isolati sono notevolmente aumentati (28 nel 2019) mentre quelli di *S. Bredeney* sono diminuiti (65 nel 2019). Seguono i 19 ceppi di *S. Blockley*, sierotipo notoriamente associato all'ambiente avicolo ed infatti isolato a partire da campioni di soprascarpe eseguiti in allevamento.

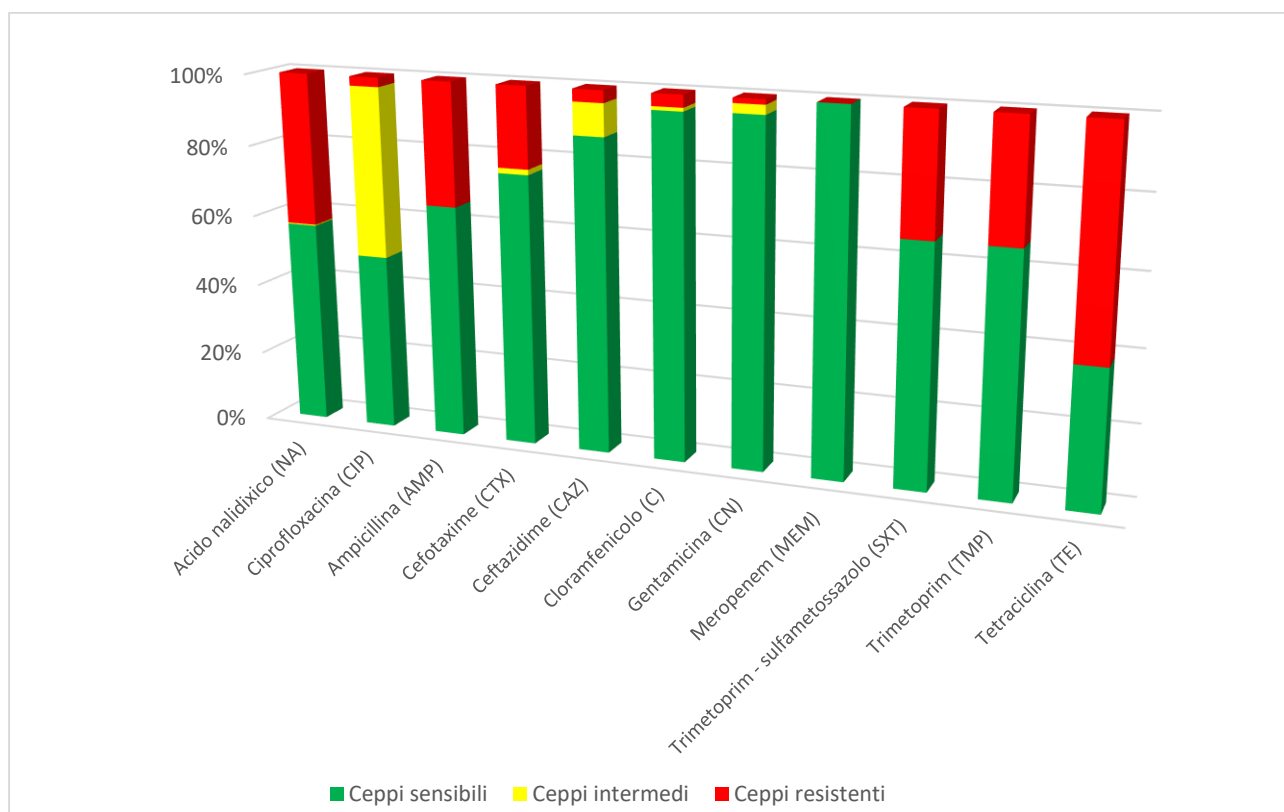
2.2 Antibiotico-resistenza nei ceppi di *Salmonella* di origine veterinaria (alimentare, ambiente veterinario, animale)

Visto il considerevole numero di *Salmonelle* isolate solo in ambiente veterinario nell'ambito della produzione primaria (feci, sovrascarpe, tamponi ambientali, totale 202) registrato nel 2020, si è deciso di sottoporre al saggio di sensibilità agli antibiotici secondo le linee guida del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (*Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, seventeenth informational supplement, January 2010, M100-S20*) solo un campione di tali ceppi utilizzando il seguente criterio di selezione: per ogni allevamento risultato positivo è stato sottoposto ad antibiogramma un ceppo di *Salmonella* per ciascun capannone campionato e per tipologia di sierotipo identificato in modo da garantire la rappresentatività circa la circolazione dei sierotipi e delle relative resistenze per ciascun allevamento considerato.

In totale sono stati testati per l'antibiotico-resistenza 388 ceppi dei quali 174 provenienti dalla produzione primaria e 214 isolati da matrice alimentare e animale.

Tabella 22 e Grafico 11: Percentuali di sensibilità, di resistenza e di esito intermedio agli antibiotici testati su 388 ceppi totali

CLASSI DI ANTIBIOTICI	% CEPPI SENSIBILI	% CEPPI INTERMEDI	% CEPPI RESISTENTI
CHINOLONI E FLUOROCHINOLONI			
Acido nalidixico (NA)	57	0,3	42,7
Ciprofloxacina (CIP)	49,5	47,9	2,6
PENICILLINE			
Ampicillina (AMP)	65,5	-	34,5
CEFALOSPORINE			
Cefotaxime (CTX)	76	1,5	22,5
Ceftazidime (CAZ)	87,6	9	3,4
FENICOLI			
Cloramfenicolo (C)	95,6	1	3,4
AMMINOGLICOSIDI			
Gentamicina (CN)	96	2,6	1,4
CARBAPENEMI			
Meropenem (MEM)	100	-	-
INIBITORI PATHWAY FOLATO			
Trimetoprim - sulfametossazolo (SXT)	66,8	-	33,2
Trimetoprim (TMP)	66,8	-	33,2
TETRACICLINE			
Tetraciclina (TE)	38,7	-	61,3



Per quanto riguarda i ceppi di origine veterinaria la rete Enter-Vet prevede un pattern di molecole ridotto rispetto a quello previsto dalla rete Enter-Net. Sono comunque presenti molecole strategiche per la valutazione dell'antibiotico resistenza dei ceppi provenienti dall'ambiente veterinario, come ad esempio le Cefalosporine e la Ciprofloxacina.

Secondo il report EFSA-ECDC in Italia [2], in ambito veterinario, per quanto riguarda l'ambiente avicolo e nello specifico il pollo da carne (broiler), i ceppi di *Salmonella* isolati presentano elevata resistenza per l'Ampicillina (42%), Sulfonamidi (62%), Tetracicline (59%), Cefalosporine di terza generazione (24%), Fluorochinoloni (56%) e all'associazione di queste ultime due classi (24%).

Altrettanto critica è la situazione negli allevamenti di tacchini a partire dai quali si isolano ceppi di *Salmonella* per il 61% resistenti all'Ampicillina, per il 49% ai Sulfonamidi e per il 69% alla Tetraciclina. Molto alte anche le percentuali di resistenza alle Cefalosporine (26%), ai Fluorochinoloni (69%) e alla loro azione combinata (26%). In riferimento ai dati della regione Marche, la maggior parte delle resistenze a queste classi di antibiotici è stata riscontrata nei ceppi isolati dall'ambiente avicolo e nello specifico dagli allevamenti di broiler.

Per quanto riguarda le Cefalosporine, il numero elevato di resistenze relative a Cefotaxime (CTX) riportato in tabella, è riconducibile al considerevole numero di ceppi di *Salmonella* Infantis ESBL isolati a partire da matrice animale e alimentare di origine avicola. Nel corso del 2020 è notevolmente aumentato il numero dei ceppi resistenti alla Ciprofloxacina (1 solo ceppo nel 2019), così come quello dei ceppi intermedi, dati che fanno intuire, come è stato osservato precedentemente nei ceppi isolati da fonte umana, un cambiamento nella risposta a tale antibiotico.

Nelle tabelle che seguono (Tabelle 23, 24 e 25), viene riportato il numero dei ceppi di origine alimentare, animale e ambientale veterinaria con esito intermedio e resistente alla Ciprofloxacina nel corso del 2020, ripartito per sierotipo e per matrice di isolamento. E' possibile osservare come, per quanto riguarda i dati di sensibilità intermedia, nei ceppi di origine alimentare, la carne di pollo rappresenta il serbatoio principale mentre sempre l'ambiente avicolo rappresenta il serbatoio esclusivo per quanto riguarda i ceppi intermedi e resistenti di origine animale e ambientale veterinaria.

Tabella 23: Ceppi di origine alimentare con esito intermedio alla Ciprofloxacina

Sierotipo	N. ceppi intermedi CIP di origine alimentare								
	carne pollo	carne tacchino	carne mista pollo-tacchino	carne suino	carne bovino	carne mista bovino-pollo-suino-tacchino	formaggio e latte crudo ovino	mollusco bivalve	TOT
Infantis	31		1	2		1		1	36
Enteritidis							6	1	7
Haifa		7							7
Derby				4	1				5
Typhimurium				2				2	4
Bredeney			2						2
Var. monofasica di <i>S. Typhimurium</i>				1					1
Rissen				1					1
Totale	31	7	3	10	1	1	6	4	63

Tabella 24: Ceppi di origine animale e ambientale veterinaria con esito intermedio alla Ciprofloxacina

Sierotipo	N. ceppi intermedi CIP di origine animale e ambientale veterinaria							
	feci gallina ovaiole	feci broiler	soprascarpe allevamento ovaiole	soprascarpe allevamento broiler	polvere allevamento broiler	tampone allevamento broiler	pool di organi broiler	TOT
Infantis		3		75	5	1	1	85
Blockley				15				15
Bredeney				13				13
Kentucky		2	3					5
Anatum				4				4
Brandenburg	1							1
Totale	1	5	3	107	5	1	1	123

Tabella 25: Ceppi di origine ambientale veterinaria resistenti alla Ciprofloxacina

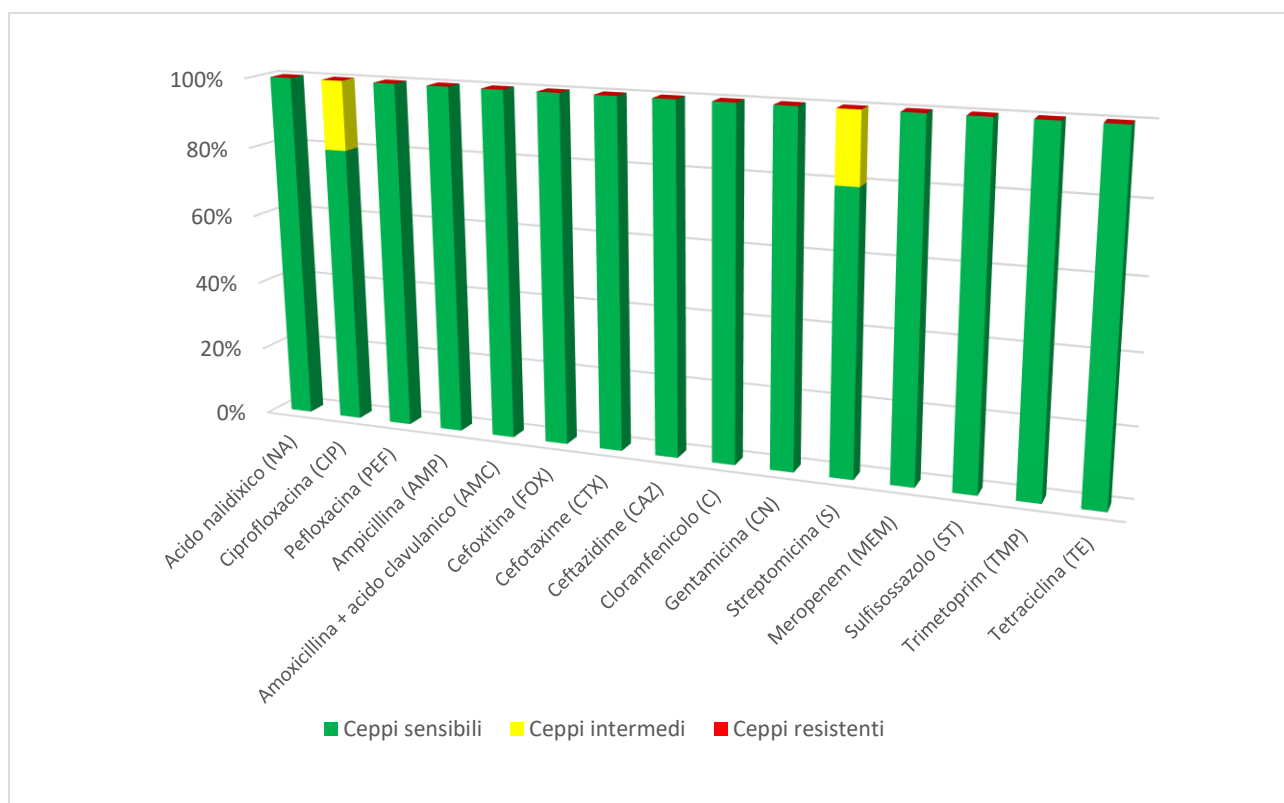
Sierotipo	N. ceppi resistenti CIP di origine ambientale veterinaria			
	feci broiler	soprascarpe allevamento broiler	soprascarpe allevamento ovaiole	TOT
Infantis	1	8		9
Kentucky			1	1
Totale	1	8	1	10

2.3 Antibiotico-resistenza nei ceppi di *Salmonella* di origine ambientale (acqua superficiale fiume, acqua superficiale lago, acqua sorgente)

Tutti i ceppi di *Salmonella* di origine acquatica pervenuti al Centro sono stati saggiati per valutare la sensibilità agli antibiotici secondo le linee guida del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (*Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, seventeenth informational supplement, January 2010, M100-S20*).

Tabella 26 e Grafico 12: Percentuali di sensibilità, di resistenza e di esito intermedio agli antibiotici testati su 10 ceppi totali

CLASSI DI ANTIBIOTICI	% CEPPI SENSIBILI	% CEPPI INTERMEDI	% CEPPI RESISTENTI
CHINOLONI E FLUOROCHINOLONI			
Acido nalidixico (NA)	100	-	-
Ciprofloxacina (CIP)	80	20	-
Pefloxacina (PEF)	100	-	-
PENICILLINE			
Ampicillina (AMP)	100	-	-
PENICILLINE+INIBITORI β LATTAMASI			
Amoxicillina + acido clavulanico (AMC)	100	-	-
CEFAMICINE			
Cefoxitina (FOX)	100	-	-
CEFALOSPORINE			
Cefotaxime (CTX)	100	-	-
Ceftazidime (CAZ)	100	-	-
FENICOLI			
Cloramfenicolo (C)	100	-	-
AMMINOGLICOSIDI			
Gentamicina (CN)	100	-	-
Streptomicina (S)	80	20	-
CARBAPENEMI			
Meropenem (MEM)	100	-	-
INIBITORI PATHWAY FOLATO			
Sulfisossazolo (ST)	100	-	-
Trimetoprim (TMP)	100	-	-
TETRACICLINE			
Tetraciclina (TE)	100	-	-



Come si può osservare dalla tabella e dal grafico precedenti (Tabella 26 e Grafico 10), non risultano ceppi resistenti ad alcun antibiotico poiché in campo ambientale la pressione selettiva esercitata dall'utilizzo delle molecole antibiotiche è minore rispetto alla tendenza che si ha in campo zootecnico e sanitario tuttavia la persistenza di ceppi batterici resistenti all'interno delle realtà produttive di carattere intensivo come illustrato precedentemente, rappresenta un concreto rischio di diffusione e dispersione dei geni di resistenza nell'ambiente attraverso l'immissione di acque reflue da produzione zootecnica, non adeguatamente sanificate, nei corsi d'acqua. La diffusione di geni di resistenza agli antibiotici in ambiente può causare lo sviluppo di comunità batteriche resistenti in natura e quindi la permanenza della resistenza per tempi lunghissimi, con il rischio, in aree antropizzate, di trasmissione della stessa a patogeni di tipo umano.

Seppur in numero minore, tenuto comunque conto del numero totale di ridotto rispetto a quello dei ceppi di origine umana e veterinaria, anche per i ceppi di origine ambientale si registrano ceppi intermedi alla Ciprofloxacina. Da sottolineare che anche quest'anno come per il 2019, il sierotipo Stanleyville isolato da acque superficiali risulta intermedio alla Ciprofloxacina così come una *Salmonella* di subspecie III da acqua di sorgente (anche se con formula antigenica diversa rispetto a quella del 2019). Il sierotipo Stanleyville compare come intermedio alla Ciprofloxacina anche tra i ceppi di origine umana.

Nella Tabella 26 viene riportato il numero dei ceppi di origine ambientale risultati intermedi alla Ciprofloxacina nel corso del 2020, suddivisi per sierotipo e per tipologia di prelievo.

Tabella 26: Ceppi di origine ambientale con esito intermedio alla Ciprofloxacina

Sierotipo	N. Intermedi CIP di origine ambientale		
	acqua sorgente	acqua superficiale (fiume)	TOT
Stanleyville		1	1
subsp. <i>diarizonae</i> (IIIb) 16:k:z	1		1
Totale	1	1	2

2.4 *Campylobacter* di origine non umana

Tredici i ceppi di *Campylobacter* spp. isolati nel corso del 2020 nell'ambito delle analisi condotte per la valutazione del criterio di igiene di processo nelle carcasse di pollo stabilito dal Regolamento (UE) 2005/2073 e s.m.i.

La relazione di sintesi dell'Unione europea su tendenze e fonti di zoonosi, agenti zoonotici e focolai di tossinfezione alimentare [5] pubblicata nel 2015 dall'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA) dal Centro europeo per la prevenzione e il controllo delle malattie (CEPCM) ha stabilito che la campilobatteriosi umana rappresenta la zoonosi di origine alimentare più diffusa nell'Unione, con 230000 casi circa segnalati annualmente.

Nel 2010 l'EFSA aveva pubblicato l'analisi dell'indagine di riferimento sulla prevalenza di *Campylobacter* nelle partite e nelle carcasse di polli da carne [6] condotta nel 2008 a livello dei macelli al fine di ottenere cifre comparabili sulla prevalenza e sul livello di contaminazione dei polli da carne nell'Unione concludendo che il 75,8% in media delle carcasse di polli da carne erano contaminate, con variazioni significative tra gli Stati membri e i macelli.

Secondo il parere scientifico pubblicato dall'EFSA nel 2010 sul rischio di campilobatteriosi umana dovuta alla carne di polli da carne [7], si stabiliva che la manipolazione, la preparazione e il consumo di carne di polli da carne fossero all'origine del 20-30 % dei casi di campilobatteriosi nell'uomo.

La principale conclusione dell'analisi è stata appunto la predisposizione di un criterio di igiene del processo per il *Campylobacter* nelle carcasse di polli da carne con l'obiettivo di tenere sotto controllo la contaminazione delle carcasse durante il processo di macellazione. Contemporaneamente sono state previste misure di controllo anche a livello di aziendale. L'EFSA ritiene che sarebbe possibile ridurre di oltre il 50 % il rischio per la salute pubblica derivante dal consumo di carne di polli da carne se le carcasse rispettassero un limite di 1000 cfu/g.

Nella Tabella 27 vengono riportati gli isolati di *Campylobacter* nell'ambito delle analisi condotte per la valutazione del criterio di igiene di processo nelle carcasse di pollo su campioni di pelle del collo di pollo analizzati presso il laboratorio di Sicurezza Alimentare della sezione di Tolentino.

Tabella 27 Distribuzione degli isolati di *Campylobacter* di origine veterinaria

Pelle del collo	TOT. Campioni di pelle analizzati nel 2020	Positività	Percentuale positività
Lab. Controllo alimenti Tolentino	50	13	26%

Ringraziamenti:

Si ringraziano i Laboratori Ospedalieri e Privati (di analisi cliniche umane e di analisi alimentari) nonché tutte le sezioni territoriali marchigiane dell'IZSUM per aver contribuito alle reti di sorveglianza Enter-Net ed Enter-Vet tramite l'invio dei ceppi batterici.

CRRPE Tolentino

Bibliografia

1. Dati relativi agli isolamenti di batteri enteropatogeni effettuati da casi clinici umani, da animali, da alimenti e da ambiente nell'anno 2019 nella Regione Marche. Napoleoni M., Pazzaglia I., Staffolani M., Fisichella S.. Sanità Pubblica Veterinaria: Numero 118, Febbraio 2020 [http://www.spvet.it/] ISSN 1592-1581.
2. EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2019. The European Union One Health 2018 Zoonoses Report. EFSA Journal 2019;17(12):5926, 276 pp.
3. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect. 2012;18(3):268–281.
4. Enterobacter Sakazakii: un patogeno emergente associato al consumo di latte formulato in polvere per la prima infanzia (review). Francesca Pedonese, Linda Sartini, Roberta Nuvoloni, Carlo D'Ascenzi, Salvo Rindi.
5. EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control), 2016. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. EFSA Journal 2016; 14(12):4634,231 pp.
6. Analysis of the baseline survey on the prevalence of Campylobacter in broiler batches and of Campylobacter and Salmonella on broiler carcasses in the EU, 2008, Part A: Campylobacter and Salmonella prevalence estimates. EFSA Journal 2010; 8(03):1503. [100 pp.].
7. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); Scientific Opinion on Quantification of the risk posed by broiler meat to human campylobacteriosis in the EU. EFSA Journal 2010; 8(1):1437. [89 pp.].



Download documento - PDF [2568 KB]



Dati relativi agli isolamenti di batteri enteropatogeni, effettuati da casi clinici umani, da animali, da alimenti e da ambiente nella Regione Marche - anno 2020 by Napoleoni et al., 2021 is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. Permissions beyond the scope of this license may be available at <http://indice.spvet.it/adv.html>.