

Centro di Riferimento Regionale Enterobatteri Patogeni (CRREP) - Regione Marche Sezione di Tolentino

Dati relativi agli isolamenti di batteri enteropatogeni effettuati da casi clinici umani, da animali, da alimenti e da ambiente nell'anno 2018 nella Regione Marche

Data on isolates of enteric bacteria from human clinical cases, animals, food and environment samples in the year 2018 in Marche Region (Italy)

Maira Napoleoni, Laura Medici, Monica Staffolani, Stefano Fisichella

Abstract. In this report we show data on strains of enteropathogenic bacteria isolated from human, animals, food and environment cases in the year 2018 in Marche Region. A total of 142 Salmonella, 51 Campylobacter, 5 Listeria monocytogenes, 2 Escherichia coli EAEC, 1 Escherichia coli VTEC and 1 Yersinia enterocolitica isolated from cases of human infection have been sent to CRREP of Tolentino. A total of 294 Salmonella, 119 Listeria and 31 Campylobacter isolated from non-human cases have been analyzed at CRREP of Tolentino. With regard to 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 divided by origin and source of isolation. This report also shows results of antimicrobial susceptibility testing performed on all strains of Salmonella and Campylobacter. Finally, some results regarding further molecular tests such as pulsetyping using pulsed field gel electrophoresis (PFGE) are shown

clinici umani, da animali, da alimenti e da ambiente nell'anno 2018 nella Regione Marche. Un totale di 142 ceppi di *Salmonella*, 51 ceppi di *Campylobacter*, 2 ceppi di *Escherichia coli* EAEC, 1 ceppo di *Escherichia coli* VTEC e 1 ceppo di *Yersinia enterocolitica* isolati da casi di infezione umana, sono pervenuti al CRREP di Tolentino. In ambito non umano un totale di 294 ceppi di *Salmonella*, 31 di *Campylobacter* e 112 di *Listeria* sono stati analizzati presso il CRREP di Tolentino. Relativamente agli isolamenta di origine umana vengono descritti la frequenza, la distribuzione nelle varie fasce di età, il tasso di canadalizzati presso il canadalizzati presso.

Riassunto. In questo report vengono illustrati i dati relativi agli stipiti di batteri enteropatogeni isolati da casi

Campylobacter e 112 di Listeria sono stati analizzati presso il CRREP di Tolentino. 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 e su alcuni ceppi di Campylobacter. Infine vengono mostrati alcuni risultati ottenuti sulla base di ulteriori analisi di tipo molecolare relative alla definizione del pulsotipo tramite elettroforesi su gel in campo pulsato (PFGE)

Notifiche ricevute dal 01/01/2018 al 31/12/2018

Indice

Int	roduzione	3
1.	Enteropatogeni 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. Elettroforesi su gel in campo pulsato (PFGE)	10

	1.4. Campylobacter di origine umana	11
	1.5. Antibiotico resistenza, PFGE e MLST nei Campylobacter di origine umana	12
	1.6. Escherichia coli patogeni e Yersinia di origine umana	14
2.	Enteropatogeni di origine non umana	15
	2.1. Salmonelle di origine non umana	16
	2.2. Salmonelle isolate da matrice animale	19
	2.3. Salmonelle isolate da matrice alimentare	21
	2.4. Salmonelle isolate da matrice ambientale	22
	2.5. Antibiotico resistenza nei ceppi di Salmonella di origine veterinaria	23
	2.6. Antibiotico resistenza nei ceppi di Salmonella di origine ambientale	24
	2.7. Campylobacter di origine non umana	25

Introduzione

Nel corso del **2018** i Laboratori periferici che collaborano con il Centro di Riferimento Regionale per gli Enterobatteri Patogeni (CRREP) di Tolentino e le sezioni marchigiane dell'IZSUM hanno notificato **646** stipiti batterici, di cui **436** appartenenti al genere *Salmonella*, **124** al genere Listeria, **82** appartenenti al genere *Campylobacter*, **3** appartenenti al genere *Escherichia coli*, **1** appartenente al genere *Yersinia* (Tab.1).

Rispetto al 2017, il numero totale di *Salmonelle* e *Campylobacter* pervenuti presso il CRREP nel corso del 2018 è notevolmente aumentato in virtù dell'aumento delle Strutture Ospedaliere che partecipano all'invio dei ceppi (Tab.2).

Tab.1 Stipiti isolati nel 2018 suddivisi per origine

Stipiti	Salmonella spp.	Listeria spp.	Campylobacter spp.	E. coli EAEC	E. coli VTEC	Yersinia enterocolitica	TOTALE
Origine umana	142	5	51	2	1	1	202
Origine veterinaria	294	119	31	-	-	-	444
Totale	436	124	82	2	1	1	646

Tab.2 Stipiti di *Salmonella* spp. e *Campylobcter* spp. isolati nel 2017 nel 2018 e differenze percentuali

Stipiti	N.2018	%2018	N. 2017	%2017
Salmonella spp.	436	84,2	308	89,9
Campylobacter spp.	82	15,8	36	10,1
Totale	518	100,0	344	100,0

1. Enteropatogeni di origine umana

Dalla Tab.3 si evince come quasi tutte le Strutture Ospedaliere della Regione partecipino all'invio dei ceppi di *Salmonella*, mentre per quanto riguarda i ceppi di *Campylobacter*, nel corso del 2018 rispetto al 2017, è rimasto invariato il numero delle Strutture Ospedaliere che inviano i ceppi al CRREP; è perciò evidente come il totale degli stipiti di *Campylobacter* analizzati sia ancora nettamente inferiore rispetto a quello dei ceppi di *Salmonella*.

Tale problematica è in parte riconducibile alla scorretta pratica di non ricercare di routine il Campylobacter nonostante la richiesta di "coprocoltura" preveda la ricerca obbligatoria di Salmonella, Shigella e Campylobacter che rappresentano gli agenti causali più frequenti di gastroenterite mentre 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 2018 sono stati identificati anche tre ceppi patogeni appartenenti al genere Escherichia coli, uno appartenente al genere Yersinia e cinque a Listeria monocytogenes.

Tab.3 Numero di isolamenti distinti per struttura

Laboratorio	Salmonella spp.	Campylobacter spp.	E. coli VTEC	E. coli EAEC	Yersinia enterocolitica	Listeria monocytogenes
AO Ospedali Riuniti Marche Nord sedi di Pesaro e Fano	8	5	-	-	-	1
AV 1 sede di Urbino	14	-	-	-	-	-
AV 2 sede di Senigallia	15	12	-	-	-	1
AV 2 sede di Jesi	6	18	-	-	-	-
AV 2 sede di Fabriano	-	-	-	-	-	-
AOU Ospedali Riuniti Ancona	24	4	1	2	1	3
INRCA Ancona	3	-	-	-	-	-
INRCA Osimo	2	-	-	-	-	-
AV 3 sedi di Civitanova Marche - Macerata	35	3	-	-	-	-
AV 3 sedi di Camerino - San Severino Marche	3	-	-	-	-	-
AV 4 sede di Fermo	22	-	-	-	-	-
AV 5 sedi di Ascoli Piceno - San Benedetto del Tronto	8	9	-	-	-	-
Laboratorio analisi Salus/Villa dei Pini Macerata/Civitanova Marche	1	-	-	-	-	-
Laboratorio analisi Scorcelletti Senigallia	1	-	-	-	-	-
Totale	142	51	1	2	1	5

1.1 Salmonelle di origine umana

Nella tabella 4 è riportato l'elenco dei sierotipi di Salmonella isolati da casi clinici umani.

Tab.4 Distribuzione dei sierotipi di origine umana

Sierotipo	N.	% 2018	% 2017
Variante monofasica di S.	81	57	52,6
Typhimurium	01	57	52,0
Enteritidis	14	9,9	12,6
Coeln	12	8,5	2,2
Derby	5	3,5	3,6
Brandenburg	5	3,5	0,7
Typhimurium	4	2,8	4,4
Goldcoast	3	2,1	-
Montevideo	2	1,3	2,2
Napoli	2	1,3	2,2
Typhi	2	1,3	2,2
London	2	1,3	1,5
Give	2	1,3	0,7
subsp. salamae (II) 41:z:1,5	2	1,3	-
Infantis	1	0,7	4,4
Rissen	1	0,7	2,2
Bredeney	1	0,7	-
Chester	1	0,7	-
Choleraesuis Var. Kunzendorf	1	0,7	-
Kedougou	1	0,7	-
Liverpool	1	0,7	-
subsp. diarizonae (IIIb)50:r:1,5,7	-	-	1,5
Abony			0,7
Agona			0,7
Kapemba	-	-	0,7
Kentucky	-	-	0,7
Muenster			0,7
Newport	-	-	0,7
Panama		-	0,7
Saintpaul			0,7
Veneziana			0,7
subsp. diarizonae (IIIb) 48:l,v:z	-	-	0,7
Totale	 142	100,0	100,0

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

E' possibile osservare come anche quest'anno, il sierotipo maggiormente isolato sia rappresentato dalla Variante monofasica di Salmonella Typhimurium seguito da Salmonella Enteritidis.

Degli 81 ceppi di Variante monofasica di Salmonella Typhimurium, 22 sono relativi ad un episodio di tossinfezione verificatosi a maggio 2018 in occasione di tre differenti banchetti organizzati nello stesso giorno presso una struttura di ristorazione a Montecassiano (MC). E' stato possibile confrontare i ceppi di origine umana con due ceppi isolati rispettivamente da un campione di insaccato di suino, ciauscolo, servito durante il pasto e da campionamenti ambientali eseguiti sulle superfici di lavorazione e sulle attrezzature della cucina della struttura di ristorazione, riconducibili allo stesso sierotipo dei casi umani.

Le analisi in PFGE e in MLVA hanno permesso di correlare in maniera inequivocabile tra di loro i ceppi umani, il ceppo da ciauscolo e quello isolato in seguito a campionamento di tipo ambientale identificando nell'insaccato la fonte di contaminazione.

A differenza dello scorso anno, nel 2018, il terzo sierotipo maggiormente rappresentato non è stato la S. Typhimurium bensì il sierotipo Coeln.

Dei 12 casi di Salmonella Coeln, 11 sono risultati relativi a un caso di tossinfezione verificatasi nella provincia di Pesaro-Urbino in un'area circoscritta tra i comuni di Urbino, Sassocorvaro, Macerata Feltria e Frontino, tra luglio e novembre 2018.

Tali ceppi sono stati analizzati in MLST (Multilocus sequence typing) con 3 ceppi di S. Coeln inviati al CRREP dall'ARPAM di Pesaro nello stesso periodo, isolati a partire da acque superficiali del fiume Foglia in punti di prelievo a monte del potabilizzatore e con 15 ceppi di S. Coeln di origine umana relativi a casi verificatisi in Romagna nello stesso arco temporale dei casi marchigiani.

Il risultato ha permesso di dimostrare la presenza di un unico outbreak costituito da 26 isolati da uomo (15 dell'Emilia-Romagna e 11 delle Marche) e da 3 isolati da acqua di fiume (fiume Foglia) delle Marche caratterizzati dallo stesso ST (sequence type) ossia il ST1995.

L'esito dell'analisi genomica ha permesso quindi di correlare in maniera inequivocabile i ceppi di origine ambientale a quelli umani individuando nell'acqua la possibile fonte di contaminazione non diretta.

Attualmente una prima ipotesi che potrebbe correlare tra di loro acqua, porchetta (unico alimento per il momento in comune tra i casi in seguito ad indagine epidemiologica condotta in entrambe le regioni) e casi umani riguarda la possibilità dell'utilizzo di acqua del fiume Foglia come fonte di abbeveraggio per suini di allevamento che diventano quindi portatori di Salmonella Coeln.

Durante le fasi di macellazione la manipolazione dei visceri contaminerebbe le carni utilizzate poi per la produzione della porchetta.

La porchetta, in quanto alimento sottoposto a cottura, potrebbe contaminarsi in seguito a pratiche scorrette di cottura che tendono a lasciare il prodotto parzialmente cotto per evitare un'eccessiva perdita di peso oppure in seguito a contaminazione secondaria che presuppone quindi la contaminazione ambientale dei luoghi di lavorazione da parte di carne infette.

L'ipotesi inversa circa la contaminazione delle acque del fiume attraverso reflui d'allevamento sembrerebbe meno probabile, ma non escludibile, vista la peculiarità del sierotipo Coeln per l'ambiente fluviale e la sua totale assenza nella specie suina che si caratterizza invece per la presenza di altri sierotipi quali Variante Monofasica di Salmonella Typhimurium e Salmonella Derby.

L'indagine al fine di definire le cause della circolazione improvvisa di questo sierotipo si sono spinte al di fuori dei confini italiani dal momento che anche a livello europeo altre Nazioni hanno segnalato un aumento di casi si salmonella Coeln.

II CRREP, in collaborazione con l'Unità di Epidemiologia Genomica dell'IZSLER, ha inviato all'Istituto superiore di Sanità (ISS) le sequenze genomiche dei ceppi umani appartenenti al cluster marchigianoromagnolo, ISS che a sua volta le ha inviate all'ECDC per la comparazione con le sequenze appartenenti agli altri cluster europei.

Il risultato è stato la definizione di 1 multi-country cluster con almeno 20 isolati derivanti da 4 Nazioni (con 6 cg-allelic differences) di cui tuttavia non fanno parte gli isolati italiani. Inoltre sono stati definiti altri 2 multi-country clusters molto piccoli (con 2 isolati da due paesi diversi) oltre a dei cluster nazionali (tra cui quello italiano).

Sicuramente degno di nota è il ceppo relativo a *S. Choleraesuis* var. Kunzendorf isolato a partire da emocoltura di un soggetto italiano di 79 anni presso l'Ospedale di Civitanova Marche.

Si tratta del primo isolamento in assoluto verificatosi nella regione Marche dal 2002 (anno di fondazione del CRREP) ed è stato isolato da sangue di un soggetto ricoverato presso il reparto di pneumologia. Il sierotipo Choleraesuis così come il sierotipo Dublin e i sierotipi appartenenti alla subspecie Arizonae sono principalmente specie-specifici (infettano rispettivamente suino, bovino e rettili in generale) ma occasionalmente possono infettare l'uomo causando manifestazioni proteiformi, inclusa gastroenterite acuta, batteriemia e infezioni extraintestinali che coinvolgono molti organi. Nello specifico il sierotipo Choleraesuis è un patogeno adattato dall'ospite che provoca paratifo suino ma è anche altamente patogeno per gli esseri umani causando setticemia con scarso coinvolgimento del tratto intestinale.

Il reservoir di tale sierotipo nei suini desta preoccupazione, non solo a causa del potenziale patogeno nei maiali giovani ma anche a causa delle sue implicazioni per la salute umana.

Dato sicuramente da considerare è rappresentato anche dai due ceppi di Salmonella Typhi isolati da emocoltura di soggetti giovani, di 24 e 25 anni di nazionalità straniera (presumibilmente indiana) rispettivamente presso l'Ospedale di Fermo e l'Ospedale di San Benedetto del Tronto. Nel primo caso si è resa necessaria l'ospedalizzazione presso il reparto di Malattie Infettive dell'Ospedale di Fermo mentre del secondo non è nota tale informazione.

Da segnalare anche i cinque isolamenti di S. Brandenburg a fronte dei tre del 2017 e i tre di S. Goldcoast a fronte dell'assenza totale di tale sierotipo nel 2017. Per entrambi questi sierotipi sono arrivate due allerte dalla rete di coordinamento Enter-Net dell'Istituto Superiore di Sanità. Nel primo caso a livello nazionale il sistema di sorveglianza ha registrato un netto aumento di S. Brandenburg nel

corso del 2017, con 109 isolati rispetto ad una media annuale per gli anni 2009-2016 di 48 isolati/anno; aumento che si è mantenuto stabile anche nel primo semestre del 2018, con 34 isolati nazionali, a fronte di una media del primo semestre degli anni 2009-2016 di 17 isolati. Nel secondo caso a novembre 2018 il sistema di sorveglianza ha registrato 37 ceppi contro i 13 ceppi del 2017 e i 23 del 2016. Tale aumento a livello nazionale è stato quindi registrato anche nella regione Marche.

La tabella nº 5 riporta la distribuzione degli isolamenti umani di Salmonella per classe di età.

Tab.5 Distribuzione degli isolamenti umani per classe di età.

Età (in anni)	N. 2018	% 2018	N. 2017	% 2017
< 1	4	2,9	0	0
1 – 5	32	22,5	43	31,9
6-14	24	16,9	30	22,2
15 – 64	35	24,6	28	20,7
> 64	44	31	34	25,2
Non noto	3	2,1	-	-
Totale	142	100,0	135	100,0

E' possibile osservare come a differenza dell'anno 2017, nel corso del 2018 si siano registrati 4 casi di infezione in bambini di età inferiore all'anno di vita. Nella classe di età compresa tra 1-5 e 6-14 anni si osserva una lieve diminuzione di casi mentre per quanto riguarda le altre due classi di età 15-64 e over 64, è possibile osservare un discreto aumento di incidenza.

La Tabella n. 6 riporta la matrice di isolamento

Tab.6 Matrici di isolamento

Matrice	N. 2018	% 2018	N. 2017	% 2017
Feci	134	94,4	130	96,3
Feci e sangue	2	1,4	1	0,7
Sangue	5	3,5	3	2,3
Feci ed espettorato	1	0,7	-	-
Urine	-	-	1	0,7
Totale	142	100,0	135	100,0

La quasi totalità dei ceppi di *Salmonella* è stata isolata da feci, ad eccezione di 8 campioni isolati da diversa matrice. In dettaglio, due ceppi di *Salmonella Variante Monofasica di* S. Typhimurium sono stati isolati rispettivamente da feci e sangue.

Per quanto riguarda i cinque ceppi isolati da sangue, due sono riconducibili a Salmonella Typhi, sierotipo notoriamente responsabile di infezione sistemica in seguito a trasmissione interumana, uno al ceppo di S. Choleraesuis var. Kunzendorf sierotipo in grado di dare setticemia nell'uomo, uno ad una Variante Monofasica di S. Typhimurium e l'ultimo a una S. Enteritidis.

Il ceppo isolato rispettivamente da feci ed espettorato è riconducibile a una S. Derby.

Per quanto riguarda la percentuale di ospedalizzazione è possibile osservare una sovrapposizione tra il 2018 e il 2017 mentre risulta in aumento, pur tenendo in considerazione il lieve aumento di casi di infezione totali del 2018, il numero totale dei soggetti non ospedalizzati. A differenza del 2017, solamente per cinque casi non è noto lo stato di ricovero a testimonianza della sempre maggior consapevolezza da parte dei Responsabili di Laboratorio che si occupano della compilazione della scheda di notifica, dell'importanza dell'inserimento corretto di tutti i dati di interesse epidemiologico.

Tab.7 Ospedalizzazione

Ospedalizzazione	N. 2018	% 2018	N. 2017	% 2017
Sì	68	47,9	64	47,4
No	69	48,6	50	37,0
Non noto	5	3,5	21	15,6
Totale	142	100,0	135	100,0

Per quanto riguarda la motivazione associata alla richiesta di coprocoltura, nella maggioranza dei casi (59,2%) questa risulta non nota. I 30 casi che riportano come motivazione "Inchiesta epidemiologica", sono riconducibili ai sierotipi *Variante Monofasica di* Salmonella Typhimurium e S. Coeln, responsabili delle due tossinfezioni precedentemente descritte verificatesi nel corso del 2018. I rimanenti 28 casi sono riconducibili alla motivazione "Infezione acuta".

Tab.8 Motivo associato alla richiesta dell'esame

Motivo esame	N. 2018	% 2018	N. 2017	% 2017
Infezione acuta	28	19,7	48	35,5
Inchiesta epidemiologica	30	21,1	7	5,2
Controllo	-	-	2	1,5
Non noto	84	59,2	78	57,8
Totale	142	100,0	135	100,0

1.2 Antibiotico-resistenza nei ceppi di Salmonella di origine umana

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

ANTIBIOTICO	N. ceppi SENSIBILI	N. ceppi INTERMEDI	N. ceppi RESISTENTI
Acido nalidixico (NA)	133	5	4
Ampicillina (AMP)	62	-	80
Amoxicillina + acido clavulanico (AMC)	138	1	3
Cefalotina (KF)	137	2	3
Cefotaxime (CTX)	142	-	-
Ceftazidime (CAZ)	142	-	-
Ciprofloxacina (CIP)	141	1	-
Cloramfenicolo (C)	127	-	15
Gentamicina (CN)	130	-	12
Kanamicina (K)	105	1	36
Streptomicina (S)	54	9	79
Sulfonamidi (S3)	63	-	79
Tetraciclina (TE)	58	1	83
Trimethropim – sulfametossazolo (SXT)	135	-	7
TOTALE CEPPI TESTATI		142	

Dalla tabella è possibile osservare come il maggior numero di resistenze siano relative alle molecole (AMP, C, S, S3, TE) coinvolte nel tipico profilo di resistenza presentato dalla variante monofasica di S. Typhimurium *c*he come visto in precedenza rappresenta il primo sierotipo isolato da fonte umana. Nel 2018 a differenza di quanto accaduto nel 2017 non sono state registrate resistenze alle cefalosporine di terza generazione dal momento che non si sono verificati casi di ceppi produttori di β -lattamasi a spettro esteso (ESBL).

1.3 Elettroforesi su gel in campo pulsato (PFGE)

I ceppi batterici di Salmonella di origine umana sono stati tutti sottoposti ad elettroforesi su gel in campo pulsato (PFGE) eseguita con l'enzima di restrizione Xbal. Si tratta di una tecnica molecolare di riferimento per il genere Salmonella in grado di distinguere cloni genomicamente differenti, anche appartenenti allo stesso sierotipo. Tale discriminazione è particolarmente utile nell'ambito degli stessi sierotipi/biotipi, offrendosi come efficace e rapido strumento di sorveglianza e di riconoscimento di episodi epidemici soprattutto quando questi possono rimanere latenti per svariati motivi (mancata notifica dei medici di base, cluster epidemico diffuso su un ampio territorio ecc.). I dati che si

ottengono, relativi al profilo genotipico dei ceppi analizzati definito "pulsotipo", sono fondamentali per alimentare un database europeo che fa parte della rete "PulseNet Europe" in cui sono contenuti i dati relativi a tutti i "pulsotipi" di *Salmonella* circolanti in Italia ed Europa.

Per quanto riguarda il 2018, come precedentemente anticipato, la PFGE si è resa indispensabile unitamente alla tecnica di MLVA, per la definizione di cluster nell'ambito della tossinfezione verificatasi a maggio 2018 in occasione di tre differenti banchetti organizzati nello stesso giorno presso una struttura di ristorazione a Montecassiano.

Il dendrogramma ottenuto utilizzando il software Bionumerics 7.6 ha permesso di stabilire che i 22 ceppi di Variante Monofasica di S. Typhiumurium (20 ceppi di origine umana, 1 ceppo isolato da alimento consumato dai casi umani, 1 ceppo isolato da campionamenti ambientali) presentavano tra di loro una percentuale di omologia pari al 92,2% ed erano perciò strettamente correlati da un punto di vista genetico permettendo quindi di definire una correlazione epidemiologica tra alimento e casi umani.

1.4 Campylobacter di origine umana

Per quanto riguarda gli isolamenti di Campylobacter di origine umana, nel 2018 sono pervenuti al CRREP un totale di 51 ceppi che risultano essere il doppio rispetto a quelli pervenuti nel 2017 ossia 24. Riguardo la distribuzione degli isolamenti per classi di età, è possibile notare, sempre in proporzione al numero totale di ceppi per i due differenti anni, una diminuzione dei casi relativi a bambini di età inferiore o pari all'anno di vita mentre per quanto riguarda le classi di età 6-14 e > 64, i casi nel 2018 sono rispettivamente triplicati e quadruplicati.

La matrice di isolamento ha riguardato sia feci che sangue mentre l'ospedalizzazione si è resa necessaria nel 37,3 % dei casi.

Per nessuno dei casi è stata rilevata un'associazione con il consumo di alimenti sospetti.

Tab.10 Distribuzione degli isolati di Campylobacter per laboratorio di origine e specie

Laboratorio	Totale	Campylobacter jejuni	Campylobacter coli	Campylobacter spp.
AO Ospedali Riuniti Marche Nord sedi di Pesaro e Fano	5	5	-	-
AOU Ospedali Riuniti Ancona	4	2	2	-
AV 2 sede di Senigallia	12	10	2	-
AV 2 sede di Jesi	18	15	1	2
AV 3 sedi di Macerata-Civitanova Marche	3	3	-	-
AV 5 sedi di Ascoli Piceno-San Benedetto del Tronto	9	8	-	1
Totale	51	43	5	3

Tab.11 - Distribuzione degli isolamenti umani per classe d'età.

Età (in anni)	N. 2018	% 2018	N. 2017	% 2017
≤ 1	1	2	5	20,8
2 – 5	5	9,7	4	16,7
6-14	12	23,5	3	12,5
15 – 64	18	35,3	7	29,2
> 64	14	27,5	5	20,8
Non noto	1	2	-	-
Totale	51	100,0	24	100,0

Tab.12 Matrici di isolamento

Matrice	N.	% 2018
Feci	48	94,1
Sangue	3	5,9
Totale	51	100,0

Tab.13 Ospedalizzazione

Ospedalizzazione	N.	% 2018
Sì	19	37,3
No	22	43,1
Non noto	10	19,6
Totale	51	100,0

1.5 Antibiotico-resistenza e PFGE nei Campylobacter di origine umana

A partire dal 2015 il CRREP ha iniziato un rapporto di collaborazione con il Laboratorio Nazionale di Riferimento per *Campylobacter* dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Teramo che prevede l'invio degli stipiti di *Campylobacter* isolati sia da campioni di origine veterinaria che umana affinché vengano eseguite su di essi ulteriori analisi. Tali esami prevedono il test di sensibilità agli antibiotici tramite tecnica di microdiluizione in brodo (MIC) e l'elettroforesi su gel in campo pulsato (PFGE).

I dati che seguono sono relativi a 21 dei 51 ceppi totali di Campylobacter spp. isolati nel 2018 nella regione Marche attualmente restituiti dal Laboratorio Nazionale di Riferimento per *Campylobacter*.

Antibiation	Camplyl	oobacter .	Jejuni	Camp	Campylobacter Coli			
Antibiotico	S	I	R	S	ı	R		
Acido nalidixico (NA)	3	-	17	-	-	1		
Ciprofloxacina (CIP)	2	-	18	-	-	1		
Eritromicina (ERI)	20	-	-	-	-	1		
Gentamicina (CN)	20	-	-	1	-	-		
Streptomicina (S)	20	-	-	1	-	-		
Tetraciclina (TE)	9	-	11	-	-	1		
TOTALE CEPPI TESTATI		20		1				

Per quanto riguarda la suscettibilità alle molecole antibiotiche, si evince come l'unica resistenza per eritromicina sia relativa al ceppo di *Campylobacter coli*. Gli isolati di *Campylobacter jejuni*, pur essendo tutti sensibili a macrolidi e aminoglicosidi (ERI, CN, S), presentano alcune resistenze tipiche di questa specie batterica verso i fluorochinoloni (NA e CIP) e verso la tetraciclina condivise anche dal ceppo di Campylobacter coli.

Spe	cie	Pulsotipo	Pulsotipo
Campyl	obacter	Smal	Kpnl
2881/18	Jejuni	DBDS16.0473	DBDA20.0323
2829/18	Jejuni	DBDS16.0763	DBDA20.0605
3257/18	Jejuni	DBDS16.0764	DBDA20.0599
6672/18	Jejuni	DBDS16.0768	DBDA20.0411
12400/18	Jejuni	DBDS16.0460	DBDA20.0598
15064/18	Jejuni	DBDS16.0272	DBDA20.0606
16538/18	Jejuni	DBDS16.0769	DBDA20.0607
17043/18	Jejuni	DBDS16.0762	DBDA20.0599
26564/18	Coli	DBBS16.0616	profilo non analizzabile
26567/18	Jejuni	DBDS16.0341	DBDA20.0596
30433/19	Coli	DBBS16.0668	DBBA20.0510
30830/19	Jejuni	DBDS16.0780	DBDA20.0615
31590/19	Jejuni	DBDS16.0736	DBDA20.0601
31591/19	Jejuni	DBDS16.0307	DBDA20.0617
34005/19	Jejuni	DBDS16.0781	DBDA20.0616
35327/19	Jejuni	DBDS16.0783	DBDA20.0618
35604/19	Jejuni	DBDS16.0653	profilo non analizzabile
45450/19	Jejuni	DBDS16.0658	DBDA20.0564
48338/19	Jejuni	DBDS16.0698	DBDA20.0512
50937/19	Jejuni	DBDS16.0782	DBDA20.0614
50944/19	Jejuni	DBDS16.0717	DBDA20.0567

I risultati acquisiti dal Laboratorio Nazionale di Riferimento per Campylobacter riguardo i pulsotipi ottenuti dalla digestione con gli enzimi di restrizione Smal e KpnI, evidenziano una certa eterogeneità ad indicare l'assenza di episodi tossinfettivi nel corso del 2018.

1.6 Escherichia coli patogeni e Yersinia di origine umana

Nel corso del 2018 sono stati confermati come patogeni tre ceppi appartenenti al genere Escherichia coli e un ceppo di *Yersinia enterocolitica*.

Nello specifico i risultati ottenuti sono riassunti nella seguente tabella:

Laboratorio	E. coli VTEC	sierogruppo	geni di patogenicità	E. coli EAEC	sierogruppo	geni di patogenicità	Yersinia enterocolitica	geni di patogenicità
AOU Ospedali Riuniti Ancona	1	O:26	vtx1	2	O:44	aggR/aaic	1	ail

I tre ceppi di E. coli sono stati inviati al Laboratorio di Referenza Europeo e Nazionale per Escherichia coli dell'ISS per essere sottoposti a PCR per la ricerca dei geni di patogenicità e del sierogruppo.

Per quanto riguarda il ceppo di *Escherichia coli* verocitotossico (VTEC) questo è stato isolato da feci di una bambina di tre anni ricoverata presso il reparto di Nefrologia della Clinica Pediatrica G. Salesi di Ancona mentre i due ceppi di *Escherichia coli* enteroaggregativo (EAEC) sono stati isolati rispettivamente da feci di una bambina di sei anni e di un bambino di 2 anni entrambi ricoverati presso la Clinica Pediatrica G. Salesi.

Per quanto riguarda il ceppo di Yersinia è stato sottoposto ad identificazione biochimica per l'identificazione di specie e a PCR per la valutazione dei fattori di patogenicità.

Si tratta di un ceppo di *Yersinia* enterocolitica positivo per il gene cromosomico *ail* che codifica per l'espressione di proteine di membrana definite "proteine di ingresso" che coadiuvano l'adesione alla mucosa e ne condizionano l'invasione.

E' stato isolato da feci di una bambina di otto anni ricoverata presso la Clinica Pediatrica G. Salesi.

2. Enteropatogeni di origine non umana

La quasi totalità di enterobatteri di origine non umana è rappresentata da ceppi di Salmonella spp. e da ceppi di Listeria spp. (Tab.14).

Tab. 14 Numero di isolamenti di origine non umana distinti per struttura

Strutture	Salmonella	Campylobacter	Listeria	Totale
IZSUM	227	32	112	371
ARPAM	55	-	-	55
Laboratori privati	12	-	7	19
Totale	294	32	119	445

Salmonella:

Nel corso dell'anno 2018, il numero totale dei ceppi di Salmonella di origine non umana è notevolmente aumentato rispetto allo scorso anno (273 isolamenti nel 2017) il che indica un aumento di attività rispetto a quella dell'anno precedente riguardo i campionamenti effettuati dall'Istituto sia in ambito ufficiale che di autocontrollo.

Per quanto riguarda i ceppi di Salmonella inviati dall'ARPAM (ARPAM Pesaro 46 ceppi; ARPAM Macerata 5 ceppi) il numero è rimasto invariato rispetto al 2017 (54 isolamenti) mentre è diminuito quello relativo agli isolamenti di Salmonella inviati dai Laboratori privati (Analisi Control Corridonia 5 ceppi; Centro Assistenza Ecologica Ancona 1 ceppo; Intertek Fermo 6 ceppi), (32 isolamenti nel 2017).

Campylobacter:

Gli isolamenti di Campylobacter relativi all'attività istituzionale derivano da campioni di pelle del collo di pollo analizzati presso il laboratorio di Sicurezza Alimentare della sezione di Tolentino nell'ambito della valutazione della presenza di *Campylobacter* come indicatore di igiene di processo sulle carcasse di pollo.

Nello specifico sono state identificate nel corso del 2018, 30 positività per Campylobacter Jejuni e 2 positività per Campylobacter Coli.

Listeria:

Gli isolamenti di Listeria ottenuti nell'ambito delle attività istituzionali dell'IZSUM sono relativi agli esami di ricerca e di conta di *L. monocytogenes*. Le matrici a partire dalle quali sono state ottenute le positività (definite come presenza di *L. monocytogenes* su 25 g di prodotto analizzato) nell'ambito delle analisi di ricerca (totale analisi eseguite 352) sono le seguenti:

- Formaggi e derivati a latte trattato termicamente (cacio) n°10 positività
- Preparazioni a base di carne da consumarsi cotte (salsicce) nº 1 positività
- Preparazioni a base di carne da consumarsi crude (salame e ciauscoli) n° 78 positività
- Prodotti a base di carne cotti (coppa di testa) nº 10 positività
- Preparazioni a base di pesce da consumarsi cotte (insalata di mare) nº 1 positività
- Prodotti di gastronomia RTE (ready to eat) (insalata di mare) n° 1 positività
- Tamponi ambientali (da affettatrice) nº 1 positività

Le matrici a partire dalle quali sono state ottenute le positività (definite come conta superiore a 100 UFC di *L. monocytogenes*/g di prodotto analizzato) nell'ambito delle analisi quantitative (totale analisi eseguite 280) sono le seguenti:

Prodotti a base di carne cotti (coppa di testa) n° 5 positività

Dal laboratorio privato Analisi Control di Corridonia sono stati inviati 7 ceppi di Listeria che sono stati sottoposti ad identificazione biochimica e molecolare (PCR per l'identificazione di *Listeria monocytogenes*). Di questi, 5 sono risultati appartenere alla specie *L. monocytogenes* e isolati a partire da prodotti congelati (in un caso di origine vegetale, negli altri due di origine non specificata) e da carne lavorata di suino.

Due ceppi invece sono risultati appartenere alla specie L. innocua e isolati a partire da carne lavorata di suino e da tampone superficiale da contatto.

2.1 Salmonelle di origine non umana

I ceppi di Salmonella di origine non umana sono suddivisi per origine alimentare umana e animale (mangime), animale (feci, organo), ambientale veterinaria (polvere, soprascarpe, tampone da superficie) e ambientale fluviale (acque superficiali) (Tab.15). Rispetto al 2017, nel 2018 si registra un notevole aumento della frequenza degli isolamenti di *Salmonella* da matrice alimentare umana dovuto al maggior numero di campioni risultati non conformi nell'ambito delle analisi relative ai controlli ufficiali del Piano Nazionale Alimenti Marche e a quelli condotti in autocontrollo.

Per quanto riguarda le voci relative alla matrice animale, ambientale veterinaria e ambientale fluviale, i dati del 2018 sono perfettamente sovrapponibili a quelli del 2017 dal momento che dei 39 ceppi di origine animale 27 derivano da campionamenti ufficiali o in autocontrollo e 12 da attività di ricerca mentre dei 46 ceppi di origine ambientale veterinaria 15 derivano da campionamenti ufficiali o in autocontrollo e 27 da attività di ricerca.

Per quanto riguarda la voce mangime i due ceppi registrati sono relativi ad attività di ricerca quindi a differenza del 2017, nel 2018 non è stata individuata nessuna positività relativamente a tale matrice.

Tab.15 Isolamenti di Salmonella origine non umana distinti per origine degli isolati

Origine	N. 2018	% 2018	N. 2017	% 2017
Alimentare umana	151	51,4	76	44,2
Mangime	- (+2 attività ricerca)	0,7	5	3,0
Animale	28 (+12 attività ricerca)	13,6	24	13,7
Ambientale veterinario	19 (+27 attività ricerca)	15,6	14	8,1
Ambientale fluviale	55	18,7	54	31,0
Totale	294	100,0	173	100,0

In Tabella 16 sono riportati i sierotipi di *Salmonella* isolati da animali, alimenti, ambiente veterinario e ambiente acquatico con le relative frequenze.

Tab.16 Sierotipi di Salmonella di origine non umana

Sierotipo	Alimento	Animale	Ambiente veterinario	Ambiente acquatico	Mangime	N°	%
Infantis	24	17	22	2	-	65	22,2
Bredeney	28	8	13	1	-	50	17
Variante monofasica di S. Typhimurium	29	3	1	2	-	35	12
Veneziana	6	-	2	19	1	28	9,5
Derby	20	1	-	2	-	23	7,8
Typhimurium	6	1	5	1	-	13	4,4
subsp. diarizonae (IIIb) 61:k:1,5,7	8	_	-	-	-	8	2,7
Coeln	1	-	-	6	-	7	2,4
Newport	5	-	-	1	-	6	2
Agama	-	-	-	5	-	5	1,8
London	4	-	-	1	-	5	1,8
Rissen	3	2	_	-	-	5	1,8
Give	4	-	-	-	-	4	1,4
Kentucky	_	4	-	-	-	4	1,4
Stanleyville	-	_	_	4	-	4	1,4

Brandenburg	3	-	-	-	-	3	1
Abony	-	-	-	2	-	2	0,7
Kottbus	1	-	_	1	-	2	0,7
Livingstone	-	-	2	-	-	2	0,7
Manchester	2	-	-	-	-	2	0,7
Tennessee	-	-	1	-	1	2	0,7
subsp. salamae (II) 41:z:1,5	2	-	-	-	-	2	0,7
subsp. houtenae (IV) 1,40:z4,z23:-	2	-	-	-	-	2	0,7
Agona	-	1	-	-	-	1	0,3
Dublin	-	1	-	-	-	1	0,3
Eboko	-	-	-	1	-	1	0,3
Essen	-	1	-	_	-	1	0,3
Fischerhuette	1	-	_ -	-	-	1	0,3
Kapemba	_	-	-	1	-	1	0,3
Montevideo		1	-	-	-	1	0,3
Muenchen	_	-	-	1	-	1	0,3
Muenster	1	-	-	-	-	1	0,3
Napoli	-	-	-	1	-	1	0,3
Panama	1	-	-	-	-	1	0,3
Thompson	-	-	-	1	-	1	0,3
subsp. salamae (II) 42:z:1,5	-	-	-	1	-	1	0,3
subsp. diarizonae (IIIb) 38:I,v:z35	-	-	-	1	-	1	0,3
subsp. houtenae (IV) 43:z4,z23:-	-	-	-	1	-	1	0,3
Totale	151	40	46	55	2	294	100,0

Per quanto riguarda il 2018, così come era stato per il 2017, al primo posto tra i sierotipi di Salmonella maggiormente tipizzati, c'è la Salmonella Infantis. Le frequenze del sierotipo Infantis sono progressivamente aumentate a partire dal 2014 passando dal 8,9% del totale degli isolati al 23,9% nel 2015. Nel 2016, la percentuale era scesa al 17,3% per poi risalire nel 2017 al 21,0%. Anche quest'anno come per gli scorsi, la totalità dei ceppi di S. Infantis isolati a partire da matrice alimentare, animale e ambientale veterinaria presentano il fenotipo ESBL e le matrici di isolamento sono relative a carne fresca e lavorata di pollo, pelle del collo e feci di pollo, tamponi ambientali e sugne da superficie eseguiti presso allevamenti di polli da ingrasso.

Segue il sierotipo Bredeney che generalmente si associa alla specie suina tuttavia, nel corso del 2018, la totalità degli isolamenti, ad eccezione di un isolato di origine ambientale, si è registrata 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) lasciando ipotizzare un suo recente ingresso anche nella filiera avicola.

2.2 Salmonelle isolate da matrice animale

Nella tabella 17 è riportata la distribuzione dei sierotipi di *Salmonella* isolati da animali suddivisi per specie di origine.

Tab.17 Distribuzione dei sierotipi per specie animale

Sierotipo	Pollo da carne	Pollo riproduttore	Gallina ovaiola	Tacchino	Suino	Ovino	Bovino	Mammifero selvatico	Volatile selvatico	Mollusco bivalve	N.	%
Infantis	48	2	-	1	-	-	-	1			52	23,7
Bredeney	34	5	-	1	5	-	-	-	-	1	46	21
Var. mon. S. Typhimurium	-	-	-	-	31	-	-	-	-	1	32	14,6
Derby	-	-	-	-	14	1	1	-	-	4	20	9,1
Typhimurium	-	-	5	-	1	-	2	-	1	3	12	5,5
Veneziana	1		1		1					5	8	3,7
subsp. diarizonae (IIIb) 61:k:1,5,7	-	-	-	-	1	7	-	-	-	-	8	3,7
Rissen	-	-	-	-	4	-	-	-	-	1	5	2,3
Newport	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	5	2,3
Kentucky	-	-	4	-	-	-	-	_	-	-	4	1,7
Give	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	4	1,7
London	-	-	_	-	4	-	-	_	-	-	4	1,7
Brandenburg	-	-	-	-	2	-	-	-	-	1	3	1,3
Livingstone	1	_	1	_	-	_	-	- -	_	_	2	0,9
Machester	2	-	-	-	-	-	-	 	-	-	2	0,9
subsp. houtenae (IV) 1,40:z4,z23:-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	0,9
Essen	-		<u> </u>	-	1		-		<u> </u>	-	1	0,5
Muenster	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	0,5
Panama	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	0,5
Tennessee	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,5
Agona	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	0,5
Montevideo	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	0,5
Kottbus	-	-	_	1	-	-	-	-	-	_	1	0,5
Dublin	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	0,5
Coeln	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	0,5
Fischerhuette	-	-	_	-	-	-	-	-	-	1	1	0,5
Totale	86	8	13	8	71	8	4	1	1	20	219	100,0

Tab.17bis Distribuzione dei sierotipi per specie animale mista

Sierotipo	Bovino- Pollo- Tacchino	Bovino- Suino- Tacchino	Pollo- suino	Pollo- Suino- Tacchino	Pollo- Tacchino	N°	%
Infantis	-	-	4	3	2	9	75
Bredeney	1	-	-	1	-	2	16,7
Derby	-	1	-	-	-	1	8,3
Totale	1	1	4	4	2	12	100,0

Dalla tabella 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, si mantiene in prima posizione il sierotipo Infantis che come precedentemente descritto presenta un fenotipo ESBL (produttore di β-lattamasi a spettro esteso). A livello nazionale è ormai riconosciuto si tratti di un unico clone, pulsotipo Xbal0126, associato esclusivamente all'ambiente avicolo che è divenuto stanziale, in seguito ad adattamento ottimale, nell'ambiente degli allevamenti italiani e per questo motivo molto difficile da debellare con le procedure di sanificazione.

Il secondo sierotipo maggiormente tipizzato è rappresentato da S. Bredeney che si associa generalmente alla specie suina tuttavia il suo isolamento sia nei riproduttori che nei broiler lascia ipotizzare un suo recente ingresso anche nella filiera avicola.

Del tutto anomali risultano i due isolamenti rispettivamente di S. Tennessee e S. Veneziana in ambito avicolo.

Per quanto riguarda il sierotipo Tennessee questo rappresenta una notevole novità in questo contesto in quanto sierotipo di raro isolamento in generale mentre per quanto riguarda la S. Veneziana si tratta di un sierotipo associato all'ambiente e nello specifico alle acque e infatti molto rappresentato sia negli isolamenti da acque superficiali di fiume e lago, sia nei molluschi.

2.3 Salmonelle isolate da matrice alimentare

Nella tabella 18 sono mostrate le distribuzioni dei sierotipi di Salmonella isolati da matrice alimentare; sono incluse anche le frequenze relative agli isolamenti da carcasse suine prelevate al mattatoio.

Tab.18 Distribuzione dei sierotipi per matrice alimentare

Sierotipo	carne pollo	carne tacchino	carne suino	carne bovino	carne specie mista	ovino	molluschi	prodotti vegetali	N.	%
Var. mon. S. Typhimurium	-	-	28	-	-	-	1	-	29	19,5
Bredeney	18	-	5	-	2	-	1	-	26	17,4
Infantis	15	-	-	-	9	-	-	-	24	16,1
Derby	-	-	14	-	1	1	4	-	20	13,4
subsp. diarizonae (IIIb) 61:k:1,5,7	-	-	1	-	-	7	-	-	8	5,4
Typhimurium	-	-	1	2	-	-	3	-	6	4
Veneziana	-	-	1	-	-	-	5	-	6	4
Newport	-	5	-	-	-	-	-	-	5	3,4
Give	-	-	4	-	-	-	-	-	4	2,7
London	-	-	4	-	-	-	-	-	4	2,7
Rissen	-	-	2	-	-	-	1	-	3	2
Brandenburg	-	-	2	-	-	-	1	-	3	2
Manchester	2	-	-	-	-	-	-	-	2	1,3
subsp. salamae (II) 41:z:1,5	-	-	-	-	-	-	-	2	2	1,3
subsp. houtenae (IV) 1,40:z4,z23:-	-	-	-	-	-	-	2	-	2	1,3
Coeln	-	-	-	-	-	-	1	-	1	0,7
Fischerhuette	-	-	-	-	-	-	1	-	1	0,7
Panama	-] -	1	-	-	-	-	-	1	0,7
Muenster	-	-	1	-	-	-	-	-	1	0,7
Essen	-	-	1	-	-	-	-	-	1	0,7
Totale	35	5	65	2	12	8	20	2	149	100,0

Rispetto al 2017, nel 2018 il numero di stipiti isolati da matrici alimentari è aumentato passando da 91 a 149. La carne di suino risulta essere la matrice alimentare da cui deriva il maggior numero di isolamenti; il sierotipo maggiormente diffuso riguarda la Variante monofasica di Salmonella Typhimurium.

La seconda tipologia di matrice alimentare è rappresentata da carne di pollo strettamente associata ai sierotipi Infantis e Bredeney, la terza è rappresentata dai molluschi con un'ampia varietà di sierotipi alcuni dei quali diffusi anche nell'uomo.

2.4 Salmonelle isolate da matrice ambientale

Le Salmonelle isolate da matrici ambientali sono rappresentate nella tabella 19 suddivise per sierotipo e fonte di isolamento.

Tabella n. 19 Distribuzione dei sierotipi di origine ambientale

Sierotipo	polvere	soprascarpe	tampone ambientale	acqua superficiale fiume	acqua superficiale lago	acqua potabile	N°	%
Infantis	9	11	2	2	-	-	24	23,7
Veneziana	1	1	-	15	1	3	21	20,7
Bredeney	5	7	1	1	-	-	14	13,8
Coeln	-	-	-	6	-	-	6	5,9
Typhimurium	-	5	-	1	-	-	6	5,9
Agama	-	-	-	5	-	-	5	5
Stanleyville	-	-	-	4	-	-	4	4
Var. mon. salmonella Typhimurium	-	-	1	1	1	-	3	3
Derby	-	-	-	2	-	-	2	2
Livingstone	_	2	_	-	-	-	2	2
Abony	-	-	-	-	2	-	2	2
Eboko	-	-	-	1	-	-	1	1
Kottbus	-	-	-	1	-	-	1	1
Tennessee	-	1	-	-	-	-	1	1
Thompson	-	-	-	1	-	-	1	1
Kapemba	-	-	-	1	-	-	1	1
London	-	- 	-	-	1	-	1	1
Newport	-	-	-	1	-	-	1	1
Muenchen	-	-		1	-	-	1	1
Napoli	-	-		1	-	-	1	1
subsp. diarizonae (IIIb) 38:I,v:z35	_	-	_]	1	-	-	1	1
subsp. houtenae (IV) 43:z4,z23:-	-	-	-	1	-	-	1	1
subsp. salamae (II) 42:z:1,5	-	-	-	1	-	-	1	1
Totale	15	27	4	47	5	3	101	100,0

Al primo posto in frequenza compare la *S. Infantis* con 24 ceppi seguita da *S. Veneziana* con 21 ceppi. I due ceppi di *S. Infantis* isolati da acque superficiali di fiume non risultano appartenere al fenotipo ESBL, mentre i restanti ceppi isolati dalle rimanenti matrici prelevate tutte in ambito avicolo sì. Seguono i 24 isolamenti di *S. Veneziana*, sierotipo tipicamente ambientale; di questi tre sono stati isolati presso punti della rete acquedotttistica di due Comuni della provincia di Pesaro-Urbino.

Per quanto riguarda i 6 isolamenti di *S. Coeln*, 3 come precedentemente descritto, appartengono al cluster responsabile dei casi di tossinfezione tra Marche ed Emilia-Romagna.

Sono presenti anche tre ceppi di subspecie differente dalla prima, di questi i ceppi subsp. diarizonae (IIIb) e subsp. houtenae (IV) si associano tipicamente ad animali a sangue freddo e all'ambiente mentre la subsp. salamae (II) è caratteristica di animali a sangue caldo.

2.5 Antibiotico-resistenza nei ceppi di *Salmonella* di origine veterinaria (alimenti, ambiente veterinario, animali, mangime)

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

Tabella n. 20

ANTIBIOTICO	N. ceppi SENSIBILI	N. ceppi INTERMEDI	N. ceppi RESISTENTI	
Acido nalidixico (NA)	169	-	70	
Ampicillina (AMP)	144	-	95	
Cefotaxime (CTX)	190	2	47	
Ceftazidime (CAZ)	205	28	6	
Ciprofloxacina (CIP)	236	3	-	
Cloramfenicolo (C)	223	1	15	
Genatamicina (CN)	233	-	6	
Tetraciclina (TE)	90	2	147	
Trimethropim – sulfametossazolo (SXT)	170	-	69	
Meropenem (MEM)	239	-	-	
Colistina (CT)	239	-	-	
TOTALE CEPPI TESTATI	239			

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.

Per quanto riguarda le Cefalosporine, il numero elevato di resistenze relative a Cefotaxime (CTX) è riconducibile al considerevole numero di ceppi di *Salmonella Infantis ESBL* isolati a partire da matrice animale e alimentare mentre nel corso del 2018 non si è registrata alcuna resistenza alla Ciprofloxacina.

2.6 Antibiotico-resistenza nei ceppi di *Salmonella* di origine ambientale (acqua superficiale fiume, acqua superficiale lago, fanghi da depurazione)

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 CLSI (*Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, seventeenth informational supplement, January 2010, M100-S20).*

Tabella n. 21

ANTIBIOTICO	N. ceppi SENSIBILI	N. ceppi INTERMEDI	N. ceppi RESISTENTI	
Acido nalidixico	54	-	1	
Ampicillina	52	-	3	
Amoxicillina + acido clavulanico	53	-	2	
Cefalotina	54	-	1	
Cefotaxime	55	-	-	
Ceftazidime	55	-	-	
Ciprofloxacina	55	-	-	
Cloramfenicolo	55	-	-	
Gentamicina	55	-	-	
Kanamicina	53	1	1	
Streptomicina	51	-	4	
Sulfonamidi	50	-	5	
Tetraciclina	48	-	7	
Trimethropim - sulfametossazolo	53	-	2	
TOTALE CEPPI TESTATI		55		

Come si può osservare dalla tabella, il numero totale delle resistenze è molto esiguo 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, 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 purificate, nei corsi d'acqua.

La diffusione di geni di resistenza agli antibiotici in ambiente può causare quindi 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.

2.7 Campylobacter di origine non umana

Il numero totale di ceppi di *Campylobacter* analizzati nel corso del 2018 è stato pari a 32. Tali campioni derivano dalle analisi che vengono condotte nell'ambito della valutazione del criterio di igiene di processo per la presenza di *Campylobacter* nella carcassa di pollo.

La predisposizione di tale criterio di processo è stata definita tramite il Regolamento (UE) 2017/1495 del 23 agosto 2017 che ha modificato il Regolamento (CE) n. 2073/2005 per quanto riguarda appunto il Campylobacter nelle carcasse di polli da carne.

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

Nel 2010 l'EFSA ha pubblicato l'analisi dell'indagine di riferimento sulla prevalenza di *Campylobacter* nelle partite e nelle carcasse di polli da carne. L'indagine di riferimento è stata 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. L'EFSA ha concluso 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, è probabile che la manipolazione, la preparazione e il consumo di carne di polli da carne siano all'origine del 20-30 % dei casi di campilobatteriosi nell'uomo, mentre il 50-80 % può essere attribuito al serbatoio di polli nel suo insieme.

Il parere scientifico pubblicato dall'EFSA nel 2011 (6) sulle possibilità di controllo del *Campylobacter* nella filiera produttiva delle carni di pollame propone una serie di opzioni sia a livello di azienda sia di macello, compresa appunto l'introduzione di un criterio di igiene del processo per il *Campylobacter*, e formula una stima del loro impatto sulla riduzione del numero di casi nell'uomo. 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 1 000 cfu/g e sottolinea la presenza di una significativa differenza nei livelli di contaminazione tra i campioni di pelle di collo e quelli di pelle di petto.

Nel 2012 l'EFSA ha anche pubblicato un parere scientifico sui pericoli per la salute pubblica che le ispezioni sulla carne di pollame devono valutare, che considera il *Campylobacter* altamente rilevante per la salute pubblica e raccomanda che i vigenti metodi di ispezione delle carcasse di pollame per il *Campylobacter* vengano adeguati. L'Autorità suggerisce in particolare l'introduzione di un criterio di igiene del processo per il *Campylobacter* nelle carcasse di polli da carne.

Alla luce dei pareri dell'EFSA del 2010 e del 2011, la Commissione ha richiesto un'analisi costi/benefici per la predisposizione di determinate misure di controllo per la riduzione del *Campylobacter* nella carne di polli da carne a vari livelli della catena alimentare.

La principale conclusione dell'analisi è che la predisposizione di un criterio di igiene del processo per il Campylobacter nelle carcasse di polli da carne offrirebbe uno degli equilibri migliori tra la riduzione della campilobatteriosi umana attribuita al consumo di carne di pollame e le conseguenze economiche dell'applicazione del criterio. L'obiettivo del criterio di igiene del processo per il *Campylobacter* nelle carcasse di polli da carne è quindi quello di tenere sotto controllo la contaminazione delle carcasse durante il processo di macellazione. Al fine di garantire un approccio a livello dell'intera catena inoltre, come raccomandato nel parere dell'EFSA sulle possibilità di controllo del *Campylobacter*, dovrebbero essere considerate anche misure di controllo a livello di azienda.

Nella tabella che segue vengono riportati gli isolamenti di *Campylobacter* relativi all'attività istituzionale derivanti da campioni di pelle del collo di pollo analizzati presso il laboratorio di Sicurezza Alimentare della sezione di Tolentino nell'ambito della valutazione della presenza di *Campylobacter* come indicatore di igiene di processo sulle carcasse di pollo.

Tabella n. 22 Distribuzione degli isolati di Campylobacter di origine veterinaria

Pelle collo pollo)	Positività su cinque pelli totali analizzate per sessione TOT						
Campylobacter Jejuni	5/5	3/5	5/5	3/5	5/5	4/5	5/5	30/35
Campylobacter Coli	2/5	-	-	-	-	-	-	2/5
Totale								32/35



Download documento - PDF [3.26 KB]



Dati relativi agli isolamenti di batteri enteropatogeni effettuati da casi clinici umani, da animali, da alimenti e da ambiente nell'anno 2018 nella Regione Marche by Napoleoni et al., 2018 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.