

Centro di Riferimento della regione Marche per la sorveglianza delle infezioni da batteri enteropatogeni - Laboratorio di Tolentino (CRRep)

# Dati relativi agli isolamenti di batteri enteropatogeni effettuati da casi clinici umani, da animali, da alimenti e da ambiente nell'anno 2016 nella Regione Marche

Data on isolates of enteric bacteria from human clinical cases, animals, food and environment samples, in the year 2016 in Marche Region (Italy)

Monica Staffolani, Laura Medici, Maira Napoleoni, 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 2016 in Marche Region. A total of 100 Salmonella, 12 Campylobacter, 1 Escherichia coli, 1 Yersinia intermedia isolates from cases of human infection are sent to CRRep of Tolentino. A total of 179 Salmonella, 9 Campylobacter, 2 Escherichia coli isolated from non-human cases are reported to CRRep. 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. Finally, we show some results regarding the Campylobacter strains on which were conducted susceptibility testing to antibiotics and molecular tests

Riassunto. In questo report vengono mostrati i dati relativi agli stipiti di batteri enteropatogeni isolati da casi clinici umani, da animali, da alimenti e da ambiente nell'anno 2016 nella Regione Marche.

Un totale di 100 Salmonella, 12 Campylobacter, 1 Escherichia coli, 1 Yersinia intermedia isolati da casi di infezione umana, sono pervenuti al CRRep di Tolentino. In ambito non umano un totale di 179 Salmonella, 9 Campylobacter, 2 Escherichia coli sono stati inviati al CRRep. 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 possibile 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. Infine vengono mostrati alcuni risultati relativi ai ceppi di Campylobacter sui quali sono stati condotti test di sensibilità agli antibiotici e test molecolari

#### Notifiche ricevute dal 01/01/2016 al 31/12/2016

Nel corso del 2016 sono stati notificati dai Laboratori periferici al Centro di Riferimento Regionale per gli Enterobatteri Patogeni (CRRep) di Tolentino 304 isolamenti, di cui 279 appartenenti al genere *Salmonella*, e 25 appartenenti ad altri generi di enterobatteri patogeni (Tab. 1 e Tab. 2). Rispetto al 2015 il numero di salmonelle notificate da fonte umana ha subito un discreto aumento (da 82 a 100). Il numero di salmonelle isolate da fonti non umane è, invece, diminuito passando da 251 a 179. Il maggior contributo a tale calo è ascrivibile alla diminuzione del numero di ceppi di Salmonella isolati da alimenti, come verrà descritto nel paragrafo relativo. Il numero di stipiti appartenenti al genere *Campylobacter* non ha subito variazioni significative rispetto al 2015, mentre sono stati ricevuti 3 ceppi di *E.coli* ed un ceppo di *Yersinia intermedia*.

Tab. 1 - Stipiti notificati al Centro di Riferimento Regionale nel 2016

Stipiti	N.	%	% 2015
Salmonella spp.	279	91,7	93,3
Campylobacter spp.	21	6,9	6,4
Escherichia coli	3	1,0	-
Yersinia intermedia	1	0,4	-
Totale	304	100,0	100,0

Tab. 2 - Stipiti suddivisi per origine

Stipiti	Salmonella spp.	Campylobacter spp	Escherichia coli	Yersinia intermedia	TOTALE
Origine umana	100	12	1	1	114
Origine veterinaria	179	9	2	-	190
Totale	279	21	3	1	304

# 1. Enteropatogeni di origine umana

Dalla Tab. 3 si evince che quasi tutte le strutture ospedaliere della Regione provvedono alla notifica dei ceppi di *Salmonella*, mentre i ceppi di *Campylobacter* vengono inviati da un ridotto numero di laboratori che rappresentano gli stessi del 2015 (vedi anche paragrafo 1.2). Non si segnalano nel 2016 ceppi provenienti da laboratori privati non ospedalieri.

Tab. 3 - Numero di isolamenti distinti per struttura

Laboratorio	Salmonella spp.	Campylobacter spp.	Escherichia coli	Yersinia intermedia
Ospedale ANCONA Torrette	17	1	1	1
Ospedale Fermo	14	-	-	-
Ospedale Fano	12	3		
Ospedale Civitanova Marche	11	-	-	-
Ospedale Osimo	11	-	-	-
Ospedale Senigallia	6	2	-	-
Ospedale Jesi	5	-	-	-

[continua alla pagina successiva]

Ospedale Macerata	5	3		
INRCA ANCONA	4	-	-	-
Ospedale Ascoli Piceno	4	-	-	-
Azienda Ospedaliera Pesaro	3	3	-	-
Ospedale Fabriano	3	-	-	-
Ospedale San Severino Marche	3	-	-	-
Ospedale San Benedetto del Tronto	2	-	-	-
Totale	100	12	1	1

# 1.1 Salmonelle di origine umana

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

Tabella n. 4 - Distribuzione dei sierotipi di origine umana

Sierotipo	N.	%	% 2015
Typhimurium var. monofasica	62	62,0	45,1
Enteritidis	9	9,0	11,0
Typhimurium	6	6,0	7,3
Infantis	5	5,0	3,7
London	3	3,0	-
Derby	2	2,0	-
Give	2	2,0	-
Stanley	1	1,0	2,4
Stanleyville	1	1,0	2,4
Muenchen	1	1,0	2,4
Rissen	1	1,0	1,2
Subsp. VI 48:z10:1,5	1	1,0	-
Kentucky	1	1,0	-
Litchfield	1	1,0	-
Livingstone	1	1,0	-
Panama	1	1,0	-
Tambacounda	1	1,0	-
Typhi	1	1,0	-
Totale	100	100,0	·

In leggera controtendenza rispetto agli anni 2013-2015, nei quali si è registrato nella regione un trend negativo relativo al numero totale di ceppi di Salmonella di origine umana, nel 2017 il numero di ceppi è

aumentato. Nello specifico nel 2013 erano 177, nel 2014 erano 123, mentre nel 2015 erano pervenuti 82 stipiti. Si segnala inoltre che negli ultimi 3 anni (2014-2016) non si sono avuti eventi epidemici importanti.

Ai primi 3 posti della classifica dei sierotipi di origine umana riscontati nella regione, compaiono gli stessi sierotipi degli ultimi anni così come accade a livello nazionale: Typhimurium var. monofasica, Typhimurium ed Enteritidis. Riguardo i primi posti della classifica regionale, i primi 4 sono occupati sempre dagli stessi sierotipi dell'anno precedente, ma le frequenze di *S.* Typhimurium var. monofasica e Infantis, sono aumentate, mentre quelle di *S.* Enteritidis e Typhimurium sono diminuite.

In relazione ai 5 ceppi di S. Infantis, 3 di loro appartengono al medesimo clone emergente multi resistente già circolante dal 2013 in regione, del quale si è ampiamente parlato nel Report del 2015. Tali ceppi si caratterizzano per la resistenza ai più importanti antibiotici per il trattamento delle infezioni umane (ceftazidime, cefotaxime e ciprofloxacina) e la presenza contemporanea di resistenza a 8-9 molecole. In dettaglio i 3 ceppi sono stati inviati da 3 laboratori diversi, ed isolati da un anziano ospedalizzato di 96 anni e due bambini di 1 e 2 anni di cui uno ricoverato. Vi sono altri sierotipi da segnalare per la loro bassissima frequenza tra quelli isolati nella regione. Il ceppo con la formula antigenica VI 48:z10:1,5 appartenente alla sottospecie S. enterica subsp. indica che rappresenta una sottospecie molto rara e generalmente isolabile da fonti non umane. La salmonella Typhi appartenete alle salmonelle tifoidee, isolata dal sangue di un bambino di 2 anni di origine araba. Un ceppo di S. Kentucky isolato da un adulto non ricoverato resistente a 8 molecole di antibiotico tra cui la Ciprofloxacina. Si ricorda a tal proposito come già citato nel report del 2015 che in Europa esiste una sorveglianza speciale per alcuni cloni di S. Kentucky multi resistenti e, in particolare, resistenti ai fluorochinoloni (Acido nalidixico e Ciprofloxacina) che circolano dal 2013 e che nella regione Marche l'anno scorso era stato trovato un solo ceppo resistente alla Ciprofloxacina in acque fluviali, ma non nell'uomo. La Tabella n. 5 riporta la distribuzione degli isolamenti umani di Salmonella per classe di età. I valori riscontrati in questo anno si discostano da quelli dell'anno precedente solo per la fascia di età 15-64 in quanto si nota un discreto aumento.

Tabella n. 5 - Distribuzione degli isolamenti umani per classe di età.

Età (in anni)	N.	%	% Totale 2015
< 1	3	3,0	3,7
1 – 5	31	31,0	36,6
6-14	19	19,0	20,7
15 – 64	19	19,0	11,0
> 64	26	26,0	28,0
Non noto	2	2,0	-
Totale	100	100,0	100,0

La quasi totalità dei ceppi di *Salmonella* è stata isolata da feci, ad esclusione di 5 stipiti di differente origine. Di questi, tre ceppi sono stati isolati da campioni di sangue, e in due di questi casi del medesimo paziente lo stesso ceppo è stato isolato anche dalle feci; in un altro caso un ceppo di *S.* Typhimurium var.

monofasica è stato isolato da un campione di urine di un adulto, mentre il quinto ceppo di Salmonella di origine non fecale è stato isolato dal liquido peritoneale di una donna di 61 anni ospedalizzata.

Tabella n. 6 - Matrici di isolamento

Matrice	N.	%
Feci	95	95,0
Feci e sangue	2	2,0
Urine	1	1,0
Sangue	1	1,0
Liquido peritoneale	1	1,0
Totale	100	100,0

Il trend della frequenza di ospedalizzazione degli ultimi 4 anni è in aumento e quest'anno ha superato la media nazionale (45%). Infatti, nel 2013 era pari al 33,9%, nel 2014 era salita al 39,8%, nel 2015 è risultata pari al 43,9%, mentre nel 2016 è arrivata al 47,0% (Tab. 7). Ancora presenti molti casi di pazienti per i quali non è noto lo stato di ricovero.

Tabella n. 7 - Ospedalizzazione

Ospedalizzazione	N.	%
Si	47	47,0
No	31	31,0
Non noto	22	22,0
Totale	100	100,0

Nel 2016 non si segnalano focolai epidemici degni di nota, ma sono pervenute schede di notifica che indicavano il coinvolgimento di alimenti contaminati anche se unicamente a sospetto e non a conferma microbiologica (Tab. 8).

Tabella n. 8 Tipo di alimento indicato nella scheda di notifica

Tipo alimento	N.	%
Maionese	1	1,0
Mozzarella	1	1,0
Pasto misto	1	1,0
Uova	1	1,0
Non noto	96	96,0
Totale	100	100,0

Riguardo la motivazione della richiesta per l'esame della coprocoltura (Tab. 8 bis), come di consueto, nella maggioranza dei casi (53,0%) risulta non nota mentre aumenta la frequenza dei casi legati ad un'infezione acuta (dal 24,4% al 41,0%). Riguardo i 5 casi indicati con la motivazione di "inchiesta epidemiologica" si tratta di casi apparentemente non collegati tra loro in quanto appartenenti a 5 sierotipi diversi.

Tabella n. 8 bis - Motivo associato alla richiesta dell'esame

Motivo esame	N.	%
Infezione acuta	41	41,0
Inchiesta epidemiologica	5	5,0
Controllo	1	1,0
Non noto	53	53,0
Totale	100	100,0

Nel 2015 non sono stati segnalati casi clinici associati a viaggi nei trenta giorni precedenti l'esame coprologico.

#### 1.1.1 Elettroforesi in campo pulsato (PFGE)

I ceppi batterici di salmonella di origine umana sono stati tutti sottoposti ad elettroforesi in campo pulsato (PFGE) eseguita con l'enzima Xbal, una tecnica molecolare di riferimento per il genere Salmonella usata da alcuni anni allo scopo di subtipizzare gli stipiti appartenenti allo stesso sierotipo. I dati che si ottengono sono utili per alimentare un database europeo che fa parte della rete "PULS-Net Europe" in cui sono contenuti i dati relativi ai "pulsotipi" di salmonella circolanti in Italia ed Europa. Tra gli scopi della tecnica rientra anche la possibilità di svelare "cluster" epidemici che possono rimanere nascosti per svariati motivi (mancata notifica dei medici di base, cluster epidemico diffuso su un ampio territorio ecc.). Non si riscontrano quest'anno casi correlati che facciano pensare ad un possibile evento epidemico.

# 1.2 Campylobacter di origine umana

I casi di origine umana di *Campylobacter* risultano in linea con quelli inviati nel 2015 e sono stati spediti da 5 ospedali (Tab.9).

Riguardo le fasce di età, la maggioranza dei casi rientra nelle fasce di età maggiori, da 15 anni in poi, mentre pochi casi si registrano tra i bambini (Tab.9 bis). In circa la metà dei casi è stato richiesto ricovero ospedaliero. Non sono state rilevate associazioni con il consumo di alimenti sospetti.

Tabella n. 9- Distribuzione degli isolati di Campylobacter per laboratorio di origine e specie

Laboratorio	Totale	Campylobacter jejuni	Campylobacter coli
Azienda Ospedaliera Pesaro	3	3	-
Ospedale Fano	3	3	-
Ospedale Macerata	3	3	-
Ospedale Senigallia	2	2	-
Ospedale Ancona	1	1	-
Totale	12	12	-

Tabella n. 9 bis - Distribuzione degli isolamenti umani per classe d'età.

Età (in anni)	N.	%
< 1	1	8,3
1 – 5	1	8,3
6-14	1	8,3
15 – 64	5	41,6
> 64	3	33,5
Non noto	-	-
Totale	12	100,0

# 2. Enteropatogeni di origine non umana

La quasi totalità di enterobatteri di origine non umana, è rappresentata da ceppi di *Salmonella* ed in minima parte da ceppi di *Campylobacter spp.* e altri enterobatteri (Tab.10).

Tab. 10 - Numero di isolamenti di origine non umana distinti per struttura

Strutture	Totale	Salmonella	Escherichia coli	Listeria monocytogenes		Campylobacter	
					jejuni	coli	spp.
IZSUM	115	104	2	-	2	7	-
Laboratori privati	30	26	-	4	-	-	-
ARPAM	49	49	-	-	-	-	-
Totale	194	179	2	4		9	

Nell'anno in esame, come già accennato, il numero dei ceppi di Salmonella di origine non umana ha subito un calo dovuto per lo più alla diminuzione dei ceppi di Salmonella inviati da laboratori privati (da 88 nel 2015 a 30 nel 2016). Invece, il numero di stipiti di Salmonella inviati dall'ARPAM è aumentato passando da 37 a 49. Riguardo i ceppi provenienti dall'IZSUM, come nell'anno precedente, un contributo importante deriva dai campionamenti ufficiali eseguiti presso i mattatoi suini delle province di Ancona, Pesaro e Fermo, ma la maggior parte dei campioni è ascrivibile a carne lavorata di suino e, in misura minore di pollo.

Riguardo le fonti di isolamento degli stipiti di *Campylobacter spp.*, , in gran parte appratenti alla specie *C. coli*, ad eccezione di 1 ceppo di *C. coli* isolato dal fegato di una gallina ovaiola, tutti gli altri sono stati isolati da carni fresche di pollo e tacchino prelevate nell'ambito dell'autocontrollo della ristorazione collettiva.

I 4 stipiti di *Listeria monocytogenes sono* provenienti da attività di autocontrollo in aziende alimentari della provincia di Macerata, mentre i 2 stipiti di *E. coli* non correlati tra loro, sono stati isolati da un tampone bovino e da una carne lavorata bovina. In particolare si tratta di ceppi di *E. coli* VTEC, il primo dei quali risultato positivo per il gene *eae*, ed il secondo per il gene *sxt2*.

# 2.1 Salmonelle di origine non umana

I ceppi di Salmonella di origine non umana sono suddivisi per origine alimentare, animale o ambientale (Tab. 10 bis). Rispetto al 2015, si registra una diminuzione della frequenza delle salmonelle isolate negli alimenti (da 62,2% a 50,8%), mentre aumentano quelle rinvenute nell'ambiente (da 19,8% a 28,5%) e negli animali (da 13,7% a 20,7%).

Tab. 10 bis - Isolamenti di Salmonella distinti per origine degli isolati

Origine	N°	%	% 2015
Alimenti	91	50,8	62,2
Ambiente	51	28,5	19,8
Animali	37	20,7	13,7
Totale	179	100,0	100,0

In Tabella 11 sono riportati i sierotipi di Salmonella isolati da animali, alimenti, ambiente e la relativa frequenza.

Tab. 11 - Sierotipi di Salmonella di origine non umana

Sierotipo	Alimento	Ambiente	Animale	N°	%
Typhimurium Var. monofasica	31	4	4	39	21,8
Infantis	14	3	14	31	17,3
Derby	18	0	1	19	10,6
Typhimurium	8	2	2	12	6,7
Veneziana	1	11	0	12	6,7
Kentucky	0	0	9	9	5,0
stanleyville	1	6	0	7	3,9
Brandenburg	3	1	0	4	2,2
Livingstone	2	0	1	3	1,7
London	3	0	0	3	1,7
subsp. IIIb 38:I,v:z35	1	2	0	3	1,7
Abortusovis	0	0	2	2	1,1
Agama	0	2	0	2	1,1
Bredeney	2	0	0	2	1,1
Cubana	0	1	1	2	1,1
Eboko	0	2	0	2	1,1
Farmingdale	1	1	0	2	1,1
Napoli	0	2	0	2	1,1
Newport	1	1	0	2	1,1

[continua alla pagina successiva]

Rissen	1	1	0	2	1,1
subsp. II 42:z:1,5	0	2	0	2	1,1
subsp. IIIb 17:z10:e,n,z15	0	2	0	2	1,1
Agona	0	1	0	1	0,6
Bradford	1	0	0	1	0,6
Coeln	0	1	0	1	0,6
Enteritidis	0	0	1	1	0,6
Heidelberg	1	0	0	1	0,6
Isangi	0	1	0	1	0,6
Jukestown	0	1	0	1	0,6
Kottbus	0	1	0	1	0,6
Lezennes	0	1	0	1	0,6
Llandoff	0	0	1	1	0,6
Muenster	0	1	0	1	0,6
subsp. II 6,7:a:z42	0	0	1	1	0,6
subsp. IIIb 16:z10:e,n,x,z15	1	0	0	1	0,6
subsp. IIIb 50:l,v:z35	1	0	0	1	0,6
subsp. IIIb 58:z52:z	0	1	0	1	0,6
Totale	91	51	37	179	100,0

Rispetto all'anno precedente, l'anno 2016 vede cambiamenti significativi nella tabella relativa ai sierotipi di Salmonella di origine non umana. Innanzi tutto al primo posto non compare più il sierotipo Infantis come era accaduto nel 2016, ma è presente nuovamente il sierotipo Typhimurium var. monofasica. Tuttavia la frequenza del sierotipo Infantis si mantiene piuttosto elevata e negli ultimi tre anni i valori di frequenza sono stati pari all'8,9% nel 2014, al 23,9% nel 2015 e al 17,3% nel 2016.

Come l'anno scorso anche quest'anno la maggior parte di essi presentano il fenotipo ESBL e, riguardo la fonte di isolamento, gran parte proviene da carne di pollo, tamponi ambientali eseguiti presso allevamenti di polli da ingrasso o feci di pollo.

Rimangono pressoché invariate le frequenze del terzo sierotipo Derby e di S. Enteritidis che continua a rimanere molto bassa (0,6%) rispetto ai valori che si registrano a livello nazionale.

# 2.1.1 Salmonelle isolate da animali

Nella tabella 12 è riportata la distribuzione dei sierotipi di salmonelle isolate da animali suddivisi per specie di origine.

Tab. 12 - Distribuzione per specie dei sierotipi isolati da animali

Sierotipo	Pollo	Suino	Ovino	Piccione	Tacchino	Testuggine	N°	%
Infantis	14	-	-	-	-	-	14	37,8
Kentucky	9	-	-	-	-	-	9	24,3
Var. monofasica Typhimurium	1	2	-	-	1	-	4	10,8
Abortusovis	-	-	2	-	-	-	2	5,4
Typhimurium	-	-	-	2	-	-	2	5,4
Cubana	1	-	-	-	-	-	1	2,7
Derby	-	1	-	-	-	-	1	2,7
Enteritidis	1	-	-	-	-	-	1	2,7
Livingstone	1	-	-	-	-	-	1	2,7
Llandoff	1	-	-	-	-	-	1	2,7
subsp. II 6,7:a:z42	-	-	-	-	-	1	1	2,7
Totale	28	3	2	2	1	1	37	100,0

Come negli anni passati, il principale serbatoio delle salmonelle isolate da animali rimane il pollo e la maggior parte di queste è stata isolata nell'ambito dei Piani di controllo e sorveglianza della salmonella negli allevamenti di galline ovaiole e polli da ingrasso.

Tuttavia, rispetto al 2015, al primo posto in frequenza non compare più il sierotipo Kentucky anche se la frequenza rimane alta (24,3%), ma piuttosto il sierotipo Infantis (37,8%) che nel 2015 era al secondo posto. Come già accennato sopra, tra i 9 stipiti di S. Kentucky di origine animale non si rileva multi resistenza, anche se è presente in tutti i ceppi la resistenza al chinolone acido nalidixico.

Invece, tra i ceppi di S. Infantis si ricorda la presenza nella maggior parte dei ceppi del fenotipo ESBL multi resistente.

Si segnalano tra i ceppi isolati da ovini 2 stipiti di *Salmonella* Abortusovis isolati da un aborto di pecora e da un fegato provenienti dallo stesso allevamento a distanza di pochi giorni e un ceppo di Salmonella subsepcie II 6,7:a:z42 isolato da organi di una testuggine recapitata presso la clinica veterinaria dell'università di Camerino.

## 2.1.2 Salmonelle isolate da alimenti

Nelle tabelle 13 sono mostrate le distribuzioni dei sierotipi di Salmonella isolate da matrici alimentari in cui sono incluse anche quelle isolate da carcasse suine al mattatoio.

Tab. 13 - Distribuzione per matrice alimentare dei sierotipi isolati da alimenti

Sierotipo	Carne suino	Molluschi	Carne pollo	Carne specie mista	Carne bovino	Ortofrutta	N°	%
Var. monofasica Typhimurium	25	4	-	2	-	-	31	34,1
Derby	14	3	-	-	1	-	18	19,8
Infantis	1	-	11	2	-	-	14	15,4
Typhimurium	5	3	-	-	-	-	8	8,8
Brandenburg	3	-	-	-	-	-	3	3,3
London	3	-	-	-	-	-	3	3,3
Bredeney	1	1	-	-	-	-	2	2,2
Livingstone	2	-	-	-	-	-	2	2,2
Bradford	-	-	1	-	-	-	1	1,1
Farmingdale	-	-	-	-	-	1	1	1,1
Heidelberg	1	-	-	-	-	-	1	1,1
Newport		1		-	-	-	1	1,1
Rissen	1	-	-	-	-	-	1	1,1
Stanleyville	1	-	-	-	-	-	1	1,1
subsp. IIIb 16:z10:e,n,x,z15	-	1	-	-	-	-	1	1,1
subsp. IIIb 38:I,v:z35		1	-	_	-	-	1	1,1
subsp. IIIb 50:l,v:z35	-	1	-	-	-	-	1	1,1
Veneziana	-	1	-	-	-	-	1	1,1
Totale	57	16	12	4	1	1	91	100,0

Rispetto al 2015 il numero di stipiti isolati da matrici alimentari è diminuito passando da 163 a 91. Inoltre, come negli ultimi due anni, al primo posto tra le matrici alimentari risultano essere le carni di suino ed i sierotipi più diffusi in questa matrice sono la variante monofasica di S. Typhimurium e la S. Derby.

Al secondo posto troviamo i molluschi con un'ampia varietà di sierotipi alcuni tra i quali diffusi anche nell'uomo. Al terzo posto la carne di pollo con i ceppi di S. Infantis ESBL di cui si è parlato in precedenza. Si segnala anche il ritrovamento di un ceppo di S. Farmingdale da un campione di insalata di IV gamma prelevato dagli operatori dell'ARPAM.

Tab. 13a - Sierotipi isolati da carne suina

Sierotipo	N°
Variante monofasica	25
Derby	14
Infantis	1
Typhimurium	5
Brandenburg	3
London	3
Bredeney	1
Livingstone	2
Heidelberg	1
Rissen	1
Stanleyville	1
Totale	57

Tab. 13b - Sierotipi isolati da prodotti ittici

Sierotipo	N°
Variante monofasica	4
Derby	3
Typhimurium	3
Bredeney	1
Newport	1
subsp. IIIb 16:z10:e,n,x,z15	1
subsp. IIIb 38:I,v:z35	1
subsp. IIIb 50:l,v:z35	1
Veneziana	1
Totale	16

# 2.1.3 Salmonelle isolate da matrici ambientali

Le Salmonelle isolate da matrici ambientali sono rappresentate nella tabella 14 suddivise per sierotipo e fonte di isolamento.

Tabella n. 14 - Sierotipi di Salmonella di origine ambientale

Sierotipo	Acqua fiume	Acqua lago	Acqua di falda	ampone allevamen <sup>:</sup> pollo	Acqua reflua	N°	%
Veneziana	7	2	2	-	-	11	21,6
Stanleyville	5	1	-	-	-	6	11,8
Var. monofasica Typhimurium	3	1	-	-	-	4	7,8
Infantis	-	1	-	2	-	3	5,9
Agama	2	-	-	-	-	2	3,9
Eboko	2	-	-	-	-	2	3,9
Napoli	2	-	-	-	-	2	3,9
subsp. II 42:z:1,5	1	1	-	-	-	2	3,9
subsp. IIIb 17:z10:e,n,z15	2	-	-	-	-	2	3,9
subsp. IIIb 38:l,v:z35	2	-	-	-	-	2	3,9
Typhimurium	2	-	-	-	-	2	3,9
Agona	1	-	-	-	-	1	2,0
Brandenburg	1	-	-	-	-	1	2,0
Coeln	1	-	-	-	-	1	2,0
Cubana	1	-	-	-	-	1	2,0
Farmingdale	-	-	1	-	-	1	2,0
Isangi	1	-	-	-	-	1	2,0
Jukestown	1	-	-	-	-	1	2,0
Kottbus	1	-	-	-	-	1	2,0
Lezennes	1	-	-	-	-	1	2,0
Muenster	-	-	-	-	1	1	2,0
Newport	1	-	-	-	-	1	2,0
Rissen	1	-	-	-	-	1	2,0
subsp. IIIb 58:z52:z	-	-	1	-	-	1	2,0
Totale	38	6	4	2	1	51	100,0

Al primo posto in frequenza appare anche quest'anno *S.* Veneziana con 11 ceppi, mentre la variante monofasica di *S.* Typhimurium, che occupava il settimo posto nel 2015 sale al 3° posto.

Al secondo posto si trova *S.* Staneleyville con 6 ceppi di cui uno isolato da acque di lago e 5 isolati dalle acque fluviali della provincia di Pesaro-Urbino.

Riguardo le acque di lago che quest'anno sono ben rappresentate, si tratta dello stesso lago nella provincia di Macerata campionato in momenti diversi dell'anno. Il ceppo di S. Infantis trovato nel lago, non risulta appartenente al clone ESBL multi resistente, mentre gli altri due ceppi isolati in un allevamento di polli presentano tale caratteristica.

## 3. Antibiotico resistenza nei ceppi di Salmonella

Tutti i ceppi di *Salmonella* 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. 15 - Risultati degli antibiogrammi effettuati sui ceppi di Salmonella spp.

<sup>\*\*</sup> antibiotico saggiato solo su ceppi di origine non umana

Andibindin	S	I	R
Antibiotico	%	%	%
Acido nalidixico	76,7	0,7	22,6
Ampicillina	54,5	0,0	45,5
Cefotaxime	89,6	0,4	10,0
Ciprofloxacina	98,9	0,4	0,7
Cloramfenicolo	91,0	0,0	9,0
Genatamicina	97,5	0,0	2,5
Kanamicina	89,6	0,4	10,0
Streptomicina	56,3	3,2	40,5
Sulfonamidi	50,5	0,0	49,5
Tetraciclina	50,2	0,4	49,5
Trimethropim - sulfametossazolo	82,1	0,0	17,9
Ceftazidime	90,0	6,1	3,9
Colistina**	100,0	0,0	0,0
Cefalotina	88,5	0,4	11,1
Amoxicillina - acido clavulanico	93,2	5,4	1,4

Nella tabella 15 sono riportati i risultati degli antibiogrammi effettuati, con indicazione delle percentuali di ceppi sensibili (S), intermedi (I) e resistenti (R) a ciascun antibiotico saggiato.

Tabella n. 16- Diffusione della multiresistenza nei ceppi di Salmonella.

Numero di resistenze	Numero di ceppi	%
0	105	37,6
1	27	9,7
2	6	2,2
3	11	3,9
>4	130	46,4
Totale	279	100,0

Solitamente le classi di antibiotici verso cui la quasi totalità delle salmonelle presenta sensibilità sono le cefalosporine di terza generazione (cefotaxime e ceftazidime), e i fluorochinoloni (ciprofloxacina), che rappresentano le classi di antibiotici più efficaci in terapia umana e la colistina che rappresenta

ultimamente un grande problema di sanità veterinaria e pubblica. Nel 2016 sono stati trovati ceppi resistenti ad entrambe le classi, mentre permane la sensibilità al 100% per la colistina.

Dei ceppi resistenti al cefotaxime si è ampiamente parlato nei paragrafi precedenti a proposito dei ceppi di *Salmonella* Infantis con fenotipo ESBL, la maggior parte delle quali sono anche resistenti al ceftazidime. In relazione alla classe dei fluorochinoloni negli ultimi due anni la percentuale di ceppi resistenti all'acido nalidixico era passata dal 17,1% (2014) al 30,1% (2015), mentre nel 2016 è diminuita fino al 22,6%. Anche questa molecola è associata in gran parte al sierotipo Infantis, ma anche al sierotipo Kentucky isolato nell'uomo e dai polli. Per multiresistenza si intende la presenza di resistenza in un singolo ceppo di almeno 4 molecole. Ovviamente, per i motivi sopra riportati, anche la frequenza della multiresistenza ha subito variazioni degne di nota: il trend è in aumento poiché si è registrata una frequenza pari al 34,6% nel 2014, al 42,7% nel 2015 e al 46,4% nell'anno in esame 2016.

# 4. Antibiotico resistenza nei ceppi di Campylobacter

Dal 2015 il CRRep ha iniziato un rapporto di collaborazione con il Laboratorio Nazionale Riferimento per *Campylobacter* di Teramo, che è proseguito anche nel 2016, nel quale si prevede l'invio degli stipiti di *Campylobacter* isolati sia da campioni di origine veterinaria che umana. Tra le analisi a cui vengono sottoposti tali ceppi ci sono il test di sensibilità agli antibiotici con la tecnica della microdiluizione in brodo, l'elettroforesi in campo pulsato (PFGE) e la Multi Locus Sequence Typing (MLST). Sono disponibili gli esiti del test di sensibilità agli antibiotici (Tab.17) condotto su un totale di 10 ceppi selezionati tra i ceppi i cui dati sono stati presentati nei precedenti paragrafi. I risultati non sono stati distinti per specie di appartenenza (5 ceppi di *C. jejuni* e 5 di *C.* coli) in quanto non sono state riscontrate differenze significative in termini di antibiotico resistenza.

Tabella n. 17 - Risultati degli antibiogrammi effettuati su ceppi di Campylobacter spp.

Antibiotico	S	I	R
	%	%	%
Acido nalidixico	20,0	0,0	80,0
Ciprofloxacina	20,0	0,0	80,0
Eritromicina	0,0	80,0	20,0
Gentamicina	100,0	0,0	0,0
Streptomicina	80,0	20,0	0,0
Tetraciclina	20,0	0,0	80,0

Come noto, gli antibiotici più importanti dal punto di vista clinico per il genere *Campylobacter* e monitorati a livello europeo, sono acido nalidixico, ciprofloxacina ed eritromicina. Il primo è uno dei chinoloni più usati nel settore veterinario e, la presenza di resistenza, è un indice di possibile sviluppo di resistenza ai fluorochinoloni usati in terapia umana (ciprofloxacina), mentre il secondo e il terzo sono i farmaci di elezione usati nella pratica clinica contro infezioni severe da *Campylobacter*. Considerando che il numero di stipiti analizzati è basso, il quadro che emerge dai risultati della tabella è simile all'anno precedente, in quanto la percentuale di resistenza all'acido nalidixico e alla ciprofloxacina è molto elevata, mentre

riguardo l'eritromicina, che presenta una frequenza di resistenza più bassa, si registra un aumento del livello intermedio che passa dal 39,1% del 2015 al 80,0% del 2016.

## 1. Elettroforesi in campo pulsato (PFGE) nei ceppi di Campylobacter

La tecnica della PFGE è stata eseguita su un sottogruppo di ceppi di Campylobacter inviati mediante l'utilizzo di due enzimi di reastrizione: Smal e Kpnl. In tabella 18 sono mostrati i risultati.

Tabella n. 18 Risultati della PFGE su alcuni ceppi di Campylobacter

Specie	Origine	N° ceppo	PULSOTIPO Smal	PULSOTIPO Kpnl
C. coli	Alimentare	17779/16	DBBS16.0314	DBBA20.0224
C. coli	Alimentare	28595/16	DBBS16.0012	DBDA20.0358
C. jejuni	Alimentare	30023/16	DBDS16.0243	//
C. coli	Alimentare	35118/16	DBBS16.0012	DBDA20.0225
C. coli	Alimentare	35451/16	DBBS16.0314	DBBA20.0225
C. jejuni	Umana	30972/16	DBDS16.0531	DBDA20.0356
C. jejuni	Umana	31840/16	DBDS16.0381	DBDA20.0350
C. jejuni	Umana	33964/16	Non analizzabile	DBDA20.0355
C. jejuni	Umana	36763/16	DBDS16.0530	DBDA20.0357
C. jejuni	Umana	38686/16	DBDS16.0243	DBDA20.0351

Nel 2015 erano disponibili 23 risultati comprendenti non solo la PFGE ma anche la MLST (Multi Locus Sequence Typing), mentre quest'anno sono disponibili 10 risultati di PFGE con doppio enzima di restrizione per cui risulta difficile paragonare i dati. Tuttavia, è possibile notare la presenza di pulsotipi Smal appartenenti a *Campylobacter* di origine alimentare presenti anche nel 2015 (DBBS16.0012 e DBBS16.0314) nonché l'isolamento di uno stesso pulsotipo Smal in due ceppi, uno di origine alimentare ed uno di origine umana (DBDS16.0243).



Staffolani et al., 2017. Dati relativi agli isolamenti di batteri enteropatogeni effettuati da casi clinici umani, da animali, da alimenti e da ambiente nell'anno 2016 nella Regione Marche (SPVet.it 101/2017)



Dati relativi agli isolamenti di batteri enteropatogeni effettuati da casi clinici umani, da animali, da alimenti e da ambiente nell'anno 2016 nella Regione Marche by Staffolani et al., 2017 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.