

Clostridium difficile come potenziale agente di malattia a trasmissione alimentare nella ristorazione ospedaliera: dati preliminari.

Sara Primavilla, Stefania Scuota, Valeria Scorpioni, Alessia Lupattelli, Silvana Farneti
Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche
Via Salvemini 1, 06126 Perugia (Italy) Tel: +39 075 3431 Fax: +39 075 35047 s.primavilla@izsum.it

Parole chiave: Clostridium difficile; ristorazione ospedaliera

INTRODUZIONE

Per molto tempo le infezioni da *Clostridium difficile* (CDI) sono state considerate infezioni nosocomiali, trasmesse da spore presenti nell'ambiente ospedaliero, riscontrate prevalentemente in pazienti immunocompromessi o sotto terapia antibiotica. Nonostante la prolungata ospedalizzazione rimanga uno dei principali fattori di rischio, negli ultimi anni sono state approfondite nuove vie di trasmissione di CDI, includendo anche la via alimentare (1, 2).

Lo **scopo del progetto** è quello di raccogliere dati sull'eventuale diffusione di *C. difficile* nel settore della ristorazione ospedaliera, al fine di stabilire se gli alimenti somministrati possano essere potenziali veicoli di spore di *C. difficile*.

MATERIALI & METODI

È stato predisposto un piano di prelievi di alimenti (primi piatti, secondi piatti, contorni crudi e contorni cotti) in 2 strutture ospedaliere: una in Umbria e una nelle Marche. Per l'isolamento di *C. difficile*, 10g di ogni alimento sono stati arricchiti con 90ml di BHI (Brain Heart Infusion broth) supplementato con 1g/L di sodio taurocolato idrato e Clostridium difficile Selective Supplement (OXOID) e incubati per 10 giorni a 37°C in condizioni di anaerobiosi. Al termine dell'incubazione 2ml di ogni brodocoltura sono stati centrifugati per 10 minuti a 3800 x g e il pellet ottenuto è stato seminato su Agar Sangue esculina per *Clostridium difficile*. Le piastre sono state incubate per 48 ore a 37°C sempre in condizioni di anaerobiosi e al termine dell'incubazione le colonie con una morfologia tipica (**Fig.1**) sono state sottoposte a test di agglutinazione al lattice per la rilevazione dell'antigene di *C. difficile* (*Clostridium difficile* test kit, OXOID) (3). Parallelamente è stata creata una ceppoteca di stipti di origine umana comprendente ceppi isolati da pazienti sintomatici nello stesso arco temporale e nelle stesse strutture ospedaliere in cui sono stati effettuati i prelievi dei campioni alimentari.

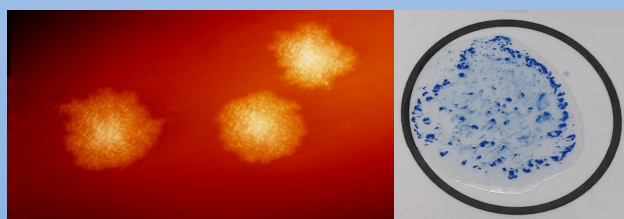


Figura 1: Colonie di *C. difficile* in Agar Sangue e test di agglutinazione al lattice

RISULTATI

Sono stati prelevati un totale di 332 campioni di alimenti tra Febbraio e Novembre 2016 e risultano così suddivisi: 70 primi piatti, 123 secondi piatti, 87 contorni cotti e 52 contorni crudi. Due campioni, un secondo piatto e un contorno crudo, sono risultati positivi (**Fig.2**). Per quanto riguarda i ceppi di origine umana, è stata creata una ceppoteca composta da 90 stipti.

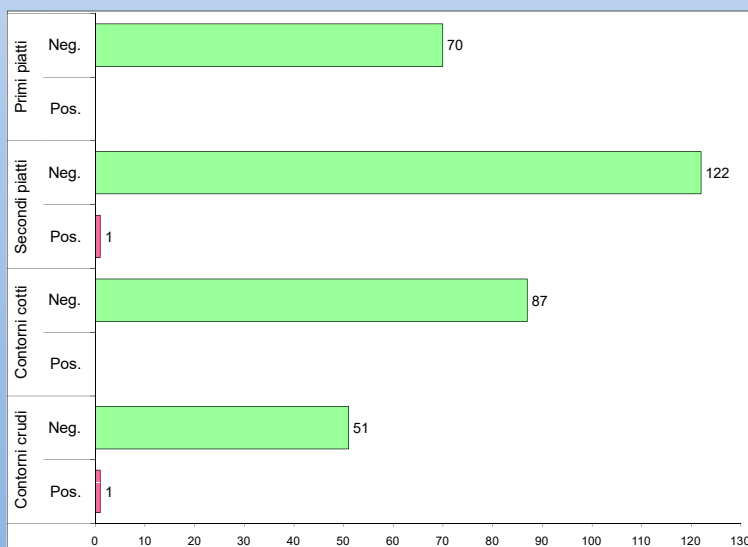


Figura 2: Risultati campioni analizzati suddivisi per tipo di alimento.

DISCUSSIONE & CONCLUSIONI

Solo 2 alimenti sui 332 campioni analizzati sono risultati positivi (0,6%). I ceppi isolati sono stati conservati insieme a tutti i ceppi di origine umana per poter essere poi sottoposti ad ulteriori indagini al fine di caratterizzarne la patogenicità e la resistenza agli antibiotici. Le matrici alimentari risultate positive sono un contorno crudo, in particolare un'insalata e un secondo piatto, in particolare una carne cotta di pollo. A questo proposito, in bibliografia sono presenti ulteriori studi che evidenziano la presenza di *C. difficile* in insalate pronte al consumo e prodotti di origine animale (4, 5). L'eventuale correlazione tra i ceppi isolati dalle matrici alimentari e quelli isolati da pazienti sintomatici verrà poi valutata determinando e confrontando il ribotipo che risulta essere un valido strumento utilizzabile a fini epidemiologici (6).

BIBLIOGRAFIA

- Gould LH et al., *Clostridium difficile* in food and domestic animals: a new foodborne pathogen? *Clinical Infectious Diseases* 51(5):577-582 (2010).
- Rupnik M., Is *Clostridium difficile*-associated infection a potentially zoonotic and foodborne disease? *Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 13:457-459 (2007).
- Pasquale V. et al., Occurrence of toxinogenic *Clostridium difficile* in edible bivalve molluscs. *Food Microbiology* 31: 309-312. (2012).
- Bakri M.M. et al., *Clostridium difficile* in Ready-to-Eat Salads, Scotland. *Emerging Infectious Diseases* 15(5). (2009).
- Jöbstl M. et al., *Clostridium difficile* in raw products of animal origin. *International Journal of Food Microbiology* 31:138(1-2):172-5. (2010).
- Bidet P. Et al., Development of a new PCR-ribotyping method for *Clostridium difficile* based on ribosomal RNA gene sequencing. *FEMS Microbiology Letters* 175:261-266 (1999).

Ricerca corrente effettuata con il finanziamento del Ministero della Salute IZSUM (RC 0132014)