



Centro di Riferimento delle Regioni Umbria e Marche per la sorveglianza delle infezioni da batteri enteropatogeni Laboratorio di Perugia

**Dati relativi agli isolamenti di batteri enteropatogeni
effettuati da casi clinici umani, da animali, da alimenti e da ambiente
nella Regione Marche - anno 2017**

Data on isolates of enteric bacteria from human clinical cases, animals, food and environment samples, in the year 2017 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 2017 in Marche Region. A total of 135 Salmonella, 24 Campylobacter, isolated from cases of human infection have been sent to CRREP of Tolentino. A total of 173 Salmonella, 12 Campylobacter, isolated from non-human cases have been sent 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 and some strains of Campylobacter. Finally, we show some results regarding further molecular tests such as phagotyping and Multilocus sequence typing (MLST)

Riassunto. In questo report vengono illustrati i dati relativi agli stipti di batteri enteropatogeni isolati da casi clinici umani, da animali, da alimenti e da ambiente nell'anno 2017 nella Regione Marche. Un totale di 135 ceppi di Salmonella e 24 ceppi di Campylobacter isolati da casi di infezione umana, sono pervenuti al CRREP di Tolentino. In ambito non umano un totale di 173 ceppi di Salmonella e 12 ceppi di Campylobacter, 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 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 a fagotipizzazione e Multilocus sequence typing (MLST)

Indice

Introduzione	3
Enteropatogeni di origine umana	4
Salmonelle di origine umana	9
Antibiotico resistenza nei ceppi di Salmonella di origine umana	10
Elettroforesi su gel in campo pulsato (PFGE)	10
Campylobacter di origine umana	11
Antibiotico resistenza, PFGE e MLST nei Campylobacter di origine umana	12
Enteropatogeni di origine non umana	14
Salmonelle di origine non umana	14
Salmonelle isolate da matrice animale	17
Salmonelle isolate da matrice alimentare	17
Salmonelle isolate da matrice ambientale	19
Antibiotico resistenza nei ceppi di Salmonella di origine veterinaria	20
Antibiotico resistenza nei ceppi di Salmonella di origine ambientale	21
Campylobacter di origine non umana	22
Antibiotico resistenza, PFGE e MLST in ceppi di Campylobacter di origine non umana	22

Introduzione

Nel corso del **2017** i Laboratori periferici che collaborano con il Centro di Riferimento Regionale per gli Enterobatteri Patogeni (CRREP) di Tolentino hanno notificato **344** stipiti batterici, di cui **308** appartenenti al genere *Salmonella* e **36** appartenenti al genere *Campylobacter* (Tab.1).

Presso il CRREP tali ceppi sono stati sottoposti a tipizzazione sierologica e molecolare e alla valutazione della sensibilità alle molecole antibiotiche testate.

Rispetto al 2016 il numero totale di Salmonelle pervenute presso il CRREP è rimasto invariato mentre il numero di stipiti appartenenti al genere *Campylobacter* ha subito un incremento in virtù dell'aumento delle Strutture Ospedaliere che partecipano all'invio dei ceppi. (Tab.2)

Tab. 1 – Stipiti isolati nel 2017 suddivisi per origine

Stipiti	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Campylobacter</i> spp.	TOTALE
Origine umana	135	24	159
Origine veterinaria	173	12	185
Totale	308	36	344

Tab. 2 - Stipiti isolati nel 2016 e differenze percentuali tra 2016 e 2017

Stipiti	N.2016	%2016	N. 2017	%2017
<i>Salmonella</i> spp.	308	90,6	308	89,9
<i>Campylobacter</i> spp.	21	6,8	36	10,1
Totale	337	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*, nonostante in questo anno il numero delle Strutture Ospedaliere che inviano i ceppi al CRREP sia aumentato rispetto agli anni precedenti, il totale degli stipiti analizzati è ancora nettamente inferiore rispetto a quello dei ceppi di *Salmonella*.

Tab. 3 - Numero di isolamenti distinti per struttura

Laboratorio	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Campylobacter</i> spp.
AOORMN sedi di Pesaro e Fano	17	3
AV 1 sede di Urbino	-	-
AV 2 sede di Senigallia	14	8
AV 2 sede di Jesi	10	10
AV 2 sede di Fabriano	2	-
Ospedali Riuniti Ancona	16	-
INRCA Ancona	5	-
INRCA Osimo	12	-
AV 3 sedi di Civitanova Marche - Macerata	26	-
AV 3 sedi di Camerino - San Severino Marche	3	-
AV 4 sede di Fermo	9	-
AV 5 sedi di Ascoli Piceno - San Benedetto del Tronto	21	3
Totale	135	24

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.	% 2017	% 2016
Variante monofasica di S. Typhimurium	71	52,6	61,6
Enteritidis	17	12,6	9,1
Typhimurium	6	4,4	6,1
Infantis	6	4,4	3,7
Derby	4	3,6	2,0
Coeln	3	2,2	-
Montevideo	3	2,2	-
Napoli	3	2,2	-
Rissen	3	2,2	1,0
Typhi	3	2,2	1,0
London	2	1,5	3,0
subsp. diarizonae (IIIb) 50:r:1,5,7	2	1,5	-
Brandenburg	1	0,7	-
Abony	1	0,7	-
Agona	1	0,7	-
Give	1	0,7	2,0
Kapemba	1	0,7	-
Kentucky	1	0,7	1,0
Muenster	1	0,7	-
Newport	1	0,7	-
Panama	1	0,7	1,0
Saintpaul	1	0,7	-
Veneziana	1	0,7	-
subsp. diarizonae (IIIb) 48:l,v;z	1	0,7	-
Totale	135	100,0	100,0

Nonostante come anche in precedenza indicato, il numero totale di isolamenti di *Salmonella* nel 2017 sia rimasto invariato rispetto a quello dell'anno precedente, entrando nel dettaglio della fonte di origine si può evincere come per quanto riguarda gli isolati in ambito umano, il numero sia notevolmente aumentato. Si è passati infatti da un totale di 100 ceppi tipizzati nel 2016 a un totale di 135 nel 2017.

Per quanto riguarda la varietà dei sierotipi riscontrati, è possibile osservare come nel 2017 rispetto al 2016, il pattern di sierotipi sia molto più variegato. Rispetto al 2016 infatti sono stati riscontrati 13 sierotipi in più rispetto a quelli del 2016.

E' possibile osservare come anche quest'anno, i tre sierotipi più frequentemente isolati siano stati in ordine decrescente: Variante monofasica di Salmonella Typhimurium, Salmonella Enteritidis e Salmonella Typhimurium. Questo andamento registrato nella regione Marche rispecchia in pieno quello nazionale anche se quest'anno a differenza dello scorso, il numero di isolati di S. Typhimurium e S. Infantis è sovrapponibile.

Per quanto riguarda i 6 ceppi di S. Infantis tre di questi, al test di sensibilità agli antibiotici, sono risultati essere ceppi produttori di β -lattamasi a spettro esteso (ESBL) e quindi in grado di idrolizzare le penicilline e le cefalosporine di 3° e 4° generazione. I ceppi in questione sono tutti riconducibili, in seguito ad analisi del profilo genotipico tramite elettroforesi su gel in campo pulsato (PFGE), allo stesso clone che circola in Italia dal 2013 adattatosi in maniera ottimale agli ambienti degli allevamenti avicoli. Tale clone ha acquisito un plasmide di grandi dimensioni denominato pESI-like (~ 280–320 Kb) che alberga il gene blaCTX-M-1 ed altri geni [tet(A), sul1, dfrA1 e dfrA14] responsabili della resistenza a cefotaxime, ceftazidime, tetraciclina, sulfamidici e trimethoprim. Contiene inoltre geni che conferiscono un'aumentata capacità di colonizzazione, virulenza (fimbrie, yersiniabactina), resistenza e persistenza (qacE1, mer) nell'ambiente dell'allevamento intensivo. A causa dell'ampio spettro di resistenza che li caratterizza quindi, i ceppi di Salmonella produttori di ESBL sono particolarmente temibili in ambito umano perché si associano ad un peggior decorso clinico, provocano maggiori fallimenti terapeutici, permanenze prolungate nelle strutture sanitarie ed aumento della mortalità. In dettaglio i 3 ceppi sono stati isolati da tre pazienti appartenenti alla fascia di età superiore ai 64 anni e ospedalizzati presso tre differenti Strutture Ospedaliere (Civitanova Marche, Osimo e San Severino Marche).

Dato sicuramente da considerare è rappresentato dai tre ceppi di Salmonella Typhi isolati da emocoltura di soggetti giovani, due dei quali di nazionalità straniera, il terzo di ritorno da un viaggio in Australia, Nepal e India. In tutti e tre i casi si è rivelata necessaria l'ospedalizzazione presso le Strutture rispettivamente di Ancona, Civitanova Marche e Senigallia.

Di particolare interesse sono risultati tre isolati appartenenti alla sottospecie diarizonae tipica di animali a sangue freddo e ambiente che quest'anno, a differenza dei precedenti, sono stati isolati anche da tre campioni di origine umana. Trattasi di due bambini e una persona anziana, in tutti e tre i casi non si è reso necessario il ricovero in ospedale.

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

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

Età (in anni)	N. 2017	% 2017	N. 2016	% 2016
< 1	0	0	3	3,0
1 – 5	43	31,9	31	31,0
6-14	30	22,2	19	19,0
15 – 64	28	20,7	19	19,0
> 64	34	25,2	26	26,0
Non noto	-	-	2	2,0
Totale	135	100,0	100	100,0

E' possibile osservare come a differenza dell'anno 2016, nel corso del 2017 non si siano osservati casi di infezione in bambini di età inferiore all'anno di vita. Nella classe di età superiore ai 64 anni si osserva una lieve diminuzione di casi mentre per quanto riguarda le altre tre classi di età è possibile osservare un discreto aumento di incidenza. Nel 2017 la voce "Non noto", relativa alla non conoscenza della data di nascita del paziente, non è presente in virtù della 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.

La Tabella n. 6 riporta la matrice di isolamento

Tab. n. 6 – Matrici di isolamento

Matrice	N. 2017	% 2017	N. 2016	% 2016
Feci	130	96,3	95	95,0
Feci e sangue	1	0,7	2	2,0
Urine	1	0,7	1	1,0
Sangue	3	2,3	1	1,0
Liquido peritoneale	-	-	1	1,0
Totale	135	100,0	100	100,0

La quasi totalità dei ceppi di *Salmonella* è stata isolata da feci, ad eccezione di 5 campioni di diversa natura. In dettaglio, un ceppo di *Salmonella Muenster* è stato isolato rispettivamente da feci e sangue di una paziente ospedalizzata di 84 anni. Si tratta di un sierotipo non comunemente associabile a infezione di tipo sistemico quindi nel caso specifico, il suo isolamento da sangue, potrebbe essere imputabile alle condizioni di immunosoppressione della paziente in questione.

Il ceppo isolato da urina è stato tipizzato come *Salmonella Infantis* profilo *ESBL* e isolato da un paziente di 80 anni ospedalizzato. Anche in questo caso, come nel precedente, il sierotipo *Infantis* non

è generalmente responsabile di infezione di tipo sistemico ma indubbiamente l'aggressività conferita da tale fenotipo (ESBL), come descritto precedentemente, rende nel complesso tale sierotipo molto più temibile e preoccupante dal punto di vista dell'invasività e di conseguenza dal punto di vista clinico.

Per quanto riguarda i tre ceppi isolati da sangue, sono tutti riconducibili ai tre isolati di *Salmonella Typhi*, sierotipo notoriamente responsabile di infezione sistemica in seguito a trasmissione interumana. I tre ceppi si sono distinti dal punto di vista della resistenza antibiotica: il ceppo di S. Typhi isolato da un ragazzo di rientro da un viaggio nei Paesi dell'Est, ha presentato un profilo decisamente aggressivo a causa di resistenza ad acido nalidixico e ciprofloxacina (antibiotico d'elezione nella terapia da S. Typhi) e sensibilità intermedia alla streptomicina. Gli altri due isolati sono risultati rispettivamente in un caso resistente all'acido nalidixico e nell'altro sensibile a tutto il pannello di antibiotici testato.

Per quanto riguarda la percentuale di ospedalizzazione è possibile osservare un aumento rispetto al 2016 riconducibile però al corrispondente aumento del numero dei casi di infezione nel 2017 rispetto all'anno precedente. Sono ancora purtroppo presenti anche quest'anno molti casi di pazienti per i quali non è noto lo stato di ricovero.

Tabella n. 7 – Ospedalizzazione

Ospedalizzazione	N. 2017	% 2017	N. 2016	% 2016
Sì	64	47,4	47	47,0
No	50	37,0	31	31,0
Non noto	21	15,6	22	22,0
Totale	135	100,0	100	100,0

Nel 2017 a differenza del 2016 non è stato mai indicato, se non in un caso, il possibile coinvolgimento di alimenti contaminati, anche se dovuto solo al sospetto e non a conferma microbiologica.

Per quanto riguarda il tipo di alimento indicato nel 2017 e riconducibile alla categoria "Dolciumi", il dettaglio della scheda di notifica riportava il possibile coinvolgimento di un tiramisù prodotto con uova provenienti da circuiti commerciali.

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

Tipo alimento	N. 2017	% 2017	N. 2016	% 2016
Dolciumi	1	0,7	-	-
Maionese	-	-	1	1,0
Mozzarella	-	-	1	1,0
Uova	-	-	1	1,0
Pasto misto	-	-	1	1,0
Non noto	134	99,3	96	96,0
Totale	135	100,0	100	100,0

Per quanto riguarda la motivazione associata alla richiesta di coprocoltura, nella maggioranza dei casi (57,8%) questa risulta non nota. Dei sette casi che riportano come motivazione “Inchiesta epidemiologica”, due sono riconducibili a *Variante Monofasica di Salmonella Typhimurium* ma apparentemente non correlati perché isolati a distanza di quattro mesi l'uno dall'altro, due sono riconducibili a *Salmonella Napoli* e ascrivibili allo stesso nucleo familiare. Si tratta infatti di due sorelle di nazionalità straniera rispettivamente di 2 e 12 anni.

Tabella n. 9 – Motivo associato alla richiesta dell'esame

Motivo esame	N. 2017	% 2017	N. 2016	% 2017
Infezione acuta	48	35,5	41	41,0
Inchiesta epidemiologica	7	5,2	5	5,0
Controllo	2	1,5	1	1,0
Non noto	78	57,8	53	53,0
Totale	135	100,0	100	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)	113	4	18
Ampicillina (AMP)	63	-	72
Amoxicillina + acido clavulanico (AMC)	127	5	3
Cefalotina (KF)	125	3	7
Cefotaxime (CTX)	129	2	4
Ceftazidime (CAZ)	129	5	1
Ciprofloxacina (CIP)	133	-	2
Cloramfenicolo (C)	113	-	22
Gentamicina (CN)	128	1	6
Kanamicina (K)	127	2	6
Streptomina (S)	54	11	70
Sulfonamidi (S3)	62	1	72
Tetraciclina (TE)	60	1	74
Trimethopim – sulfametossazolo (SXT)	122	2	11
TOTALE CEPPI TESTATI	135		

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* che come visto in precedenza rappresenta il primo sierotipo isolato da fonte umana.

Le resistenze alle cefalosporine di prima generazione (KF) e di terza generazione (CTX e CAZ) sono imputabili ai ceppi di *Salmonella Infantis ESBL*, fenotipo in grado di idrolizzare l'anello β -lattamico, nucleo funzionale di tali classi antibiotiche.

Degno di nota è il dato rappresentato dai due ceppi (una *S. Typhi* e una *S. Kentucky*) resistenti alla Ciprofloxacina, antibiotico appartenente alla classe dei fluorochinoloni.

Per quanto riguarda il sierotipo *Kentucky*, si tratta di un clone dominante in Europa, identificato per MLST come ST198 e solitamente descritto come resistente alla Ciprofloxacina. Recentemente l'ECDC ha lanciato un allarme perché tale clone sembra abbia acquisito resistenza anche alle cefalosporine tramite produzione 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 XbaI. 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 2017, dall'analisi dei pulsotipi, non si riscontrano casi correlati che facciano pensare ad un possibile evento epidemico, eccetto qualche episodio in cui sono stati coinvolti 2/3 individui all'interno dello stesso nucleo familiare.

Per quanto riguarda invece i ceppi di *Salmonella Infantis ESBL* di origine umana, l'analisi dei profili genotipici ottenuti in PFGE ha permesso di stabilire che tutti i ceppi appartengono allo stesso pulsotipo XbaI0126; questo dato è parzialmente in linea con quanto evidenziato a livello nazionale dal momento che, in un recente studio sui ceppi di origine umana inviati dai laboratori nazionali di riferimento, l'Istituto Superiore di Sanità ha dimostrato la presenza di ben quattro pulsotipi XbaI0125, XbaI0126, XbaI0129, XbaI2116 che presentano un'omologia >90% tra di loro.

1.4 Campylobacter di origine umana

Per quanto riguarda gli isolamenti di *Campylobacter* di origine umana, nel 2017 sono pervenuti al CRREP un totale di 24 ceppi che risultano essere il doppio rispetto a quelli pervenuti nel 2016. Questo aumento è riferibile alla partecipazione all'invio degli stipiti batterici di due ulteriori Strutture Ospedaliere, le sedi di Jesi e Ascoli Piceno-San Benedetto del Tronto. Riguardo la distribuzione degli isolamenti per classi di età, è possibile notare un notevole aumento, sempre in proporzione al numero totale di ceppi per i due differenti anni, dei casi relativi a bambini di età inferiore o pari all'anno di vita. La matrice di isolamento ha riguardato esclusivamente materiale fecale mentre l'ospedalizzazione si è resa necessaria nel 33,3% dei casi.

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

Tabella n. 10- Distribuzione degli isolati di *Campylobacter* per laboratorio di origine e specie

Laboratorio	Totale	<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Campylobacter coli</i>
AOORMN sedi di Pesaro e Fano	3	3	-
AV 2 sede di Senigallia	8	7	1
AV 2 sede di Jesi	10	10	-
AV 5 sedi di Ascoli Piceno - San Benedetto del Tronto	3	3	-
Totale	24	23	1

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

Età (in anni)	N. 2017	% 2017	N. 2016	% 2017
≤ 1	5	20,8	1	8,3
2 – 5	4	16,7	1	8,3
6-14	3	12,5	1	8,3
15 – 64	7	29,2	5	41,8
> 64	5	20,8	3	25,0
Non noto	-	-	1	8,3
Totale	24	100,0	12	100,0

Tabella n. 12 – Matrici di isolamento

Matrice	N.	% 2017
Feci	24	100
Totale	24	100,0

Tabella n. 13 – Ospedalizzazione

Ospedalizzazione	N.	% 2017
Sì	8	33,3
No	12	50
Non noto	4	16,7
Totale	24	100,0

1.5 Antibiotico resistenza, PFGE, MLST 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 stipti 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), l'elettroforesi su gel in campo pulsato (PFGE) e il Multi Locus Sequence Typing (MLST).

Antibiotico	Campylobacter Jejuni			Campylobacter Coli		
	S	I	R	S	I	R
Acido nalidixico (NA)	10	3	10	1	-	-
Ciprofloxacina (CIP)	15	-	8	1	-	-
Eritromicina (ERI)	23	-	-	1	-	-
Gentamicina (CN)	23	-	-	1	-	-
Streptomicina (S)	23	-	-	1	-	-
Tetraciclina (TE)	20	1	2	1	-	-
TOTALE CEPPI TESTATI	23			1		

Per quanto riguarda la suscettibilità alle molecole antibiotiche, si evince come l'unico isolato da feci umane di *Campylobacter coli* sia sensibile a tutti gli antibiotici testati. Di contro gli isolati di *Campylobacter jejuni*, pur essendo tutti sensibili a macrolidi e aminoglicosidi (ERI, CN, S), presentano alcune resistenze tipiche di questo genere di enterobatteria verso i fluorochinoloni (NA e CIP) e verso le tetracicline.

Specie		Pulsotipo	Pulsotipo	MLST
Campylobacter		SmaI	KpnI	
31722/17	Jejuni	DBDS16.0657	DBDA20.0488	52ST_52 complex
31723/17	Coli	DBBD16.0622	non analizzabile	non determinato
31724/17	Jejuni	DBDS16.0658	DBDA20.0491	16ST_21 complex
31725/17	Jejuni	DBDS16.0667	DBDA20.0486	827ST_826 complex
33931/17	Jejuni	DBDS16.0665	DBDA20.0492	-
34162/17	Jejuni	DBDS16.0659	DBDA20.0494	122ST_206 complex
36665/17	Jejuni	DBDS16.0689	DBDA20.0500	2861ST
49110/17	Jejuni	DBDS16.0668	DBDA20.0487	3076ST_658 complex
55018/17	Jejuni	DBDS16.0663	DBDA20.0493	21ST_21 complex

I risultati acquisiti dal Laboratorio Nazionale di Riferimento per *Campylobacter* riguardo i pulsotipi ottenuti dalla digestione con gli enzimi di restrizione SmaI e KpnI evidenziano una certa eterogeneità, come anche i vari profili MLST.

2. Enteropatogeni di origine non umana

La quasi totalità di enterobatteri di origine non umana è rappresentata da ceppi di *Salmonella spp.* e in minima parte da ceppi di *Campylobacter spp.* (Tab.14).

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

Strutture	Totale	Salmonella	Campylobacter
IZSUM	99	87	12
ARPAM	54	54	-
Laboratori privati	32	32	-
Totale	185	173	12

Nel corso dell'anno 2017, il numero totale dei ceppi di *Salmonella* di origine non umana è rimasto sostanzialmente invariato rispetto allo scorso anno il che indica un'attività sovrapponibile a quella dell'anno precedente riguardo i campionamenti effettuati sia in ambito ufficiale che di autocontrollo.

Per quanto riguarda i ceppi di *Salmonella* inviati dall'ARPAM e dai Laboratori privati invece, il numero di stipiti è leggermente aumentato in entrambi i casi.

Il numero totale di ceppi di *Campylobacter* pervenuti al CRREP nel corso del 2017 è stato pari a 12. Di questi 9 (8 *Campylobacter coli* e 1 *Campylobacter jejuni*) sono derivati dalle attività di autocontrollo svolte dalla sezione di Pesaro nell'ambito della ristorazione collettiva a partire da carne fresca di pollo e tacchino, 1 (*Campylobacter jejuni*) dalla sicurezza alimentare della sezione di Tolentino in seguito ad isolamento da latte crudo di origine bovina prelevato al distributore, 2 un (*Campylobacter jejuni/Campylobacter coli*), isolati in contemporanea dal fegato di una gallina ovaioia presso la diagnostica della sezione di Tolentino.

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, ambientale veterinaria (polvere, soprascarpe, tampone da superficie) e ambientale fluviale (acque superficiali) (Tab.15). Rispetto al 2016, si registra una diminuzione della frequenza degli isolamenti di *Salmonella* da matrice alimentare umana e da matrice animale dovuta al minor numero di campioni risultati non conformi nell'ambito delle analisi relative ai controlli ufficiali del Piano Nazionale Alimenti Marche.

Nel 2017 è stata introdotta anche un'ulteriore tipologia di origine di isolamento, il mangime, che lo scorso anno non era presente.

Per quanto riguarda la componente ambientale, quest'anno a differenza dello scorso, tale voce è stata scissa tra la componente veterinaria e quella relativa alle acque superficiali. In generale è possibile osservare un aumento totale degli isolati ambientali anche se, per il motivo di cui sopra, non è possibile entrare nel dettaglio dei singoli aumenti e fare un confronto con lo scorso anno.

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

Origine	N. 2017	% 2017	N. 2016	% 2016
Alimentare umana	76	44,2	91	50,8
Mangime	5	3,0	-	-
Animale	24	13,7	37	20,7
Ambientale veterinario	14	8,1	51	28,5
Ambientale fluviale	54	31,0		
Totale	173	100,0	179	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	17	14	1	1	-	33	19,1
Var. mon. S. Typhimurium	20	4	2	1	-	27	15,6
Veneziana	1	-	-	17	-	18	10,4
Stanleyville	2	-	-	9	-	11	6,4
Derby	7	-	-	2	-	9	5,2
Kentucky	-	1	4	1	-	6	3,5
Rissen	2	-	-	4	-	6	3,5
Coeln	1	1	-	3	-	5	2,9
Enteritidis	2	-	2	-	-	4	2,3
Give	3	1	-	-	-	4	2,3
Eboko	-	-	-	4	-	4	2,3
Agona	2	-	1	-	-	3	1,7
Jukestown	-	-	-	3	-	3	1,7
subsp. diarizonae (IIIb) 61:k:1,5,7	3	1	-	-	1	5	2,9
Typhimurium	-	-	-	2	-	2	1,2
Havana	-	1	1	-	-	2	1,2

[continua]

Newport	1	-	-	1	-	2	1,2
Senftenberg	1	-	-	-	1	2	1,2
Tennessee	1	-	-	-	1	2	1,2
Bredeney	2	-	-	-	-	2	1,2
Brandenburg	-	-	-	1	-	1	0,6
Livingstone	1	-	-	-	-	1	0,6
Abortusovis	-	1	-	-	-	1	0,6
Montevideo	-	-	1	-	-	1	0,6
Muenchen	1	-	-	-	-	1	0,6
Thompson	-	-	1	-	-	1	0,6
Worthington	1	-	-	-	-	1	0,6
Agama	-	-	-	1	-	1	0,6
Corvallis	-	-	-	1	-	1	0,6
London	-	-	-	1	-	1	0,6
Cerro	1	-	-	-	-	1	0,6
Cubana	-	-	-	-	1	1	0,6
Kedougou	-	-	-	-	1	1	0,6
Llandoff	-	-	-	-	1	1	0,6
Manhattan	1	-	-	-	-	1	0,6
Mbandaka	1	-	-	-	-	1	0,6
Napoli	1	-	-	-	-	1	0,6
Ohio	1	-	-	-	-	1	0,6
Panama	1	-	-	-	-	1	0,6
Quiniela	1	-	-	-	-	1	0,6
subsp. salamae (II) 41:z:1,5	1	-	-	-	-	1	0,6
subsp. diarizonae (IIIb) 38:l,v:z53	-	-	-	1	-	1	0,6
subsp. houtenae (IV) 43:z4,z23:-	-	-	-	1	-	1	0,6
Totale	76	24	14	54	5	173	100,0

Per quanto riguarda il 2017, al primo posto tra i sierotipi di *Salmonella* maggiormente tipizzati, torna la *Salmonella Infantis* che nel 2016 aveva lasciato il posto alla *Variante monofasica di Salmonella Typhimurium*. 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 come precedentemente affermato, 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.

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	Gallina ovaiola	Suino	Ovino	Bovino	N°	%
Infantis	14	-	-	-	-	14	58,3
Var. mon. S. Typhimurium	-	1	3	-	-	4	16,7
Kentucky	-	1	-	-	-	1	4,2
Abortusovis	-	-	-	1	-	1	4,2
Coeln	-	-	-	1	-	1	4,2
Havana	-	1	-	-	-	1	4,2
Give	-	-	-	-	1	1	4,2
subsp. diarizonae (IIIb) 61:k:1,5,7	-	-	-	1	-	1	4,2
Totale	14	3	3	3	1	24	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.

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 XbaI0126, 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.

Si segnalano un ceppo di *S. Abortusovis* isolato da aborto di pecora e un ceppo di *Salmonella* subsp. diarizonae (IIIb) 61:k:1,5,7 isolato da tampone nasale di pecora, sierotipo questo che la letteratura scientifica considera peculiare di questa specie animale e di tutti i prodotti da essa derivati.

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 a partire da carcasse suine prelevate al mattatoio e da spugnette su carcasse ovine.

Tab.18 - Distribuzione dei sierotipi per matrice alimentare

Sierotipo	carne pollo	carne tacchino	carne suino	carne bovino	carne specie	ovino	prodotti a base di uova	molluschi	prodotti ittici	N.	%
Var. mon. S. Typhimurium	1	-	18	-	-	-	-	1	-	20	26,3
Infantis	13	1	-	1	2	-	-	-	-	17	22,4
Derby	-	-	4	-	-	2	-	1	-	7	9,2
Give	-	-	3	-	-	-	-	-	-	3	3,9
subsp. diarizonae (IIIb) 61:k:1,5,7	-	-	-	-	-	3	-	-	-	3	3,9
Stanleyville	-	-	-	-	-	-	-	2	-	2	2,7
Enteritidis	1	-	-	-	-	-	-	1	-	2	2,7
Rissen	-	-	1	-	-	1	-	-	-	2	2,7
Agona	-	1	-	1	-	-	-	-	-	2	2,7
Bredeney	-	-	1	-	1	-	-	-	-	2	2,7
Cerro	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,3
Coeln	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,3
Mbandaka	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,3
Ohio	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,3
Livingstone	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1,3
Muenchen	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1,3
Panama	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1,3
Worthington	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	1,3
Tennessee	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1	1,3
Manhattan	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	1,3
Quiniela	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1,3
Napoli	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1,3
Newport	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1,3
Veneziana	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1,3
Senftenberg	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1,3
subsp. salamae (II) 41:z:1,5	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	1,3
Totale	19	2	31	2	4	6	1	10	1	76	100,0

Rispetto al 2016 il numero di stipiti isolati da matrici alimentari è diminuito passando da 91 a 76. 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* seguita da *S. Derby*.

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

Tab.19 - Distribuzione dei sierotipi isolati da mangime

Sierotipo	mangime semplice	mangime composto	N.	%
Llandoff	1	-	1	20,0
Tennessee	1	-	1	20,0
Senftenberg	-	1	1	20,0
Cubana	-	1	1	20,0
Kedougou	-	1	1	20,0
Totale	2	3	5	100,0

Quest'anno a differenza degli anni precedenti, si sono registrate positività a partire da mangime nell'ambito dei campionamenti del PNAА (Piano Nazionale Alimentazione Animale). In dettaglio è possibile osservare i sierotipi tipizzati sia da mangime semplice che da mangime composto.

2.4 Salmonelle isolate da matrice ambientale

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

Tabella n. 20 - Distribuzione dei sierotipi di origine ambientale

Sierotipo	polvere	soprascarpe	tampone ambientale	acqua superficiale fiume	acqua superficiale lago	fanghi da depurazione	N°	%
Veneziana	-	-	-	14	3	-	17	25,0
Stanleyville	-	-	-	9	-	-	9	13,2
Kentucky	1	4	-	1	-	-	6	8,8
Rissen	-	-	-	4	-	-	4	5,9
Eboko	-	-	-	4	-	-	4	5,9
Var. mon. S. Typhimurium	-	-	2	-	1	-	3	4,4
Coeln	-	-	-	3	-	-	3	4,4
Jukestown	-	-	-	3	-	-	3	4,4
Typhimurium	-	-	-	2	-	-	2	2,9
Enteritidis	-	2	-	-	-	-	2	2,9
Infantis	-	1	-	1	-	-	2	2,9
Derby	-	-	-	1	-	1	2	2,9
Agona	-	1	-	-	-	-	1	1,5
Brandenburg	-	-	-	-	-	1	1	1,5

Montevideo	-	1	-	-	-	-	1	1,5
Thompson	-	-	1	-	-	-	1	1,5
Havana	-	1	-	-	-	-	1	1,5
Agama	-	-	-	1	-	-	1	1,5
Corvallis	-	-	-	1	-	-	1	1,5
London	-	-	-	1	-	-	1	1,5
Newport	-	-	-	1	-	-	1	1,5
subsp. diarizonae (IIIb) 38:l,v;z53	-	-	-	1	-	-	1	1,5
subsp. houtenae (IV) 43:z4,z23:-	-	-	-	1	-	-	1	1,5
Totale	1	10	3	48	4	2	68	100,0

Al primo posto in frequenza appare anche quest'anno la *S. Veneziana* con 17 ceppi seguita da *S. Stanleyville* con 9 ceppi. Il ceppo di *S. Infantis* isolato da acque superficiali di fiume, non risulta appartenere al clone ESBL, mentre il secondo ceppo appartenente a tale sierotipo, isolato in seguito a campionamento ambientale tramite soprascarpe presso un allevamento di polli da carne, ha presentato tale fenotipo.

Per la prima volta a differenza degli anni precedenti, non si sono registrati isolamenti di *S. Napoli*, sierotipo notoriamente diffuso nell'ambiente acquatico.

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*).

ANTIBIOTICO	N. ceppi SENSIBILI	N. ceppi INTERMEDI	N. ceppi RESISTENTI
Acido nalidixico (NA)	77	-	42
Ampicillina (AMP)	62	-	57
Cefotaxime (CTX)	85	1	33
Ceftazidime (CAZ)	90	14	15
Ciprofloxacina (CIP)	119	-	-
Cloramfenicolo (C)	112	-	7
Genatamicina (CN)	115	-	4
Tetraciclina (TE)	61	-	58
Trimethopim – sulfametossazolo (SXT)	82	-	37
Meropenem (MEM)	119	-	-
Colistina (CT)	119	-	-
TOTALE CEPPI TESTATI	119		

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) e Ceftazidime (CAZ) è riconducibile al considerevole numero di ceppi di *Salmonella Infantis ESBL* isolati a partire da matrice animale e alimentare mentre nel corso del 2017 non si è registrata alcuna resistenza alla Ciprofloxacina.

Una sensibilità totale alla Colistina si è registrata in tutti i ceppi di origine veterinaria; si tratta di un antibiotico molto utilizzato in medicina veterinaria che ultimamente è stato reintrodotta anche in medicina umana come presidio estremo in caso di infezioni a carico di batteri multiresistenti.

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*).

ANTIBIOTICO	N. ceppi SENSIBILI	N. ceppi INTERMEDI	N. ceppi RESISTENTI
Acido nalidixico	53	-	1
Ampicillina	52	-	2
Amoxicillina + acido clavulanico	54	-	-
Cefalotina	53	-	1
Cefotaxime	53	-	1
Ceftazidime	53	-	1
Ciprofloxacina	54	-	-
Cloramfenicolo	54	-	-
Genatamicina	54	-	-
Kanamicina	54	-	-
Streptomina	49	3	2
Sulfonamidi	52	-	2
Tetraciclina	50	-	4
Trimethopim - sulfametossazolo	53	-	1
TOTALE CEPPI TESTATI	54		

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.

2.7 Campylobacter di origine non umana

Il numero totale di ceppi di Campylobacter pervenuti al CRREP nel corso del 2017 è stato pari a 12. Di questi 9 (8 Campylobacter coli e 1 Campylobacter jejuni) sono derivati dalle attività di autocontrollo svolte dalla sezione di Pesaro nell'ambito della ristorazione collettiva a partire da carne fresca di pollo e tacchino, 1 (Campylobacter jejuni) dalla sicurezza alimentare della sezione di Tolentino in seguito ad isolamento da latte crudo di origine bovina prelevato al distributore, 2 un (Campylobacter jejuni/Campylobacter coli), isolati in contemporanea dal fegato di una gallina ovaioia presso la diagnostica della sezione di Tolentino.

Tabella n. 21- Distribuzione degli isolati di *Campylobacter* di origine veterinaria

	organo	latte	carne pollo	carne tacchino	TOT
Campylobacter Jejuni	1	1	1	-	3
Campylobacter Coli	1	-	7	1	9
Totale	2	1	8	1	12

2.8 Antibiotico resistenza, PFGE e MLST nei ceppi di *Campylobacter* di origine non umana

Anche negli isolati di Campylobacter di origine veterinaria sono state riscontrate resistenze alle molecole antibiotiche appartenenti alle classi dei fluorochinoloni (NA e CIP) e delle tetracicline; un solo isolato di Campylobacter coli è risultato resistente alla Streptomicina.

Antibiotico	Campylobacter Jejuni			Campylobacter Coli		
	S	I	R	S	I	R
Acido nalidixico (NA)	3	-	-	5	-	3
Ciprofloxacina (CIP)	2	-	1	4	2	3
Eritromicina (ERI)	3	-	-	9	-	-
Gentamicina (CN)	3	-	-	9	-	-
Streptomicina (S)	3	-	-	8	-	1
Tetraciclina (TE)	2	-	1	5	1	3
TOTALE CEPPI TESTATI	3			9		

I risultati acquisiti dal Laboratorio Nazionale di Riferimento per *Campylobacter* riguardo i pulsotipi, ottenuti dalla digestione con gli enzimi di restrizione *Sma*I e *Kpn*I, evidenziano una certa eterogeneità, come anche i vari profili MLST.

Specie		Matrice	Pulsotipo	Pulsotipo	MLST
Campylobacter			Sma	Kpn	
41607/17	Jejuni	latte	DBDS16.0656	DBBA20.0457	42ST_42 complex
47528/17	Coli	tacchino	DBBS16.0626	DBBA20.0453	-
47530/17	Coli	pollo	DBBS16.0482	DBBA20.0452	-
49948/17	Coli	pollo	DBBS16.0624	DBBA20.0448	7159ST_828 complex
50221/17	Coli	pollo	DBBS16.0620	DBBA20.0454	1614ST_828 complex
51517/17	Coli	pollo	DBBS16.0626	DBBA20.0458	832ST_828 complex
54166/17	Coli	pollo	DBBS16.0625	-	827ST_828 complex

Da notare in particolare la sovrapposibilità di pulsotipo, ottenuto tramite digestione con l'enzima *Sma*I, di due campioni di *Campylobacter coli*, isolati uno da carne di pollo e l'altro da carne di tacchino.



[Download documento - PDF \[825 KB\]](#)



Dati relativi agli isolamenti di batteri enteropatogeni, effettuati da casi clinici umani, da animali, da alimenti e da ambiente nella Regione Marche - anno 2017 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>.