



DIPARTIMENTO
**SICUREZZA ALIMENTARE, NUTRIZIONE
E SANITÀ PUBBLICA VETERINARIA**

**Istituto Superiore di Sanità
Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria
UO Sicurezza Microbiologica degli Alimenti e Malattie a Trasmissione Alimentare**

**Report sulle attività di sorveglianza di laboratorio della listeriosi in Italia basata sul
sequenziamento genomico degli isolati
Periodo di riferimento anno 2020**

Gianni Ciccaglioni, Alfonsina Fiore*, Antonietta Gattuso*, Marco Francesco Ortoffi*,
Arnold Knijn*, Manuela Marra**, Maria Carollo**, Stefano Morabito*.*

**Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria*

***Servizio Grandi Strumentazioni e Core Facilities – Area NGS*

Premessa

Nel marzo 2017, il Ministero della Salute ha emesso la nota circolare “Sorveglianza e prevenzione della Listeriosi” (0008252-13/03/2017-DGPRES-DGPRES-P) che raccomanda l’invio degli isolati clinici, relativi a casi di listeriosi, all’Istituto Superiore di Sanità (Operational Contact Point dell’ECDC per la listeriosi) per la loro tipizzazione. Tale iniziativa si è mostrata perfettamente aderente alla decisione dell’European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) di inserire la listeriosi fra le malattie prioritarie da sottoporre a sorveglianza “rafforzata” anche attraverso l’approccio di laboratorio che prevede la tipizzazione sierologica e molecolare degli isolati clinici di *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*).

In quest’ottica, il Programma CCM – Azioni Centrali “Analisi Epidemiologica di tre malattie orfane: Trichinella, Listeria, Echinococcus” (febbraio 2017- febbraio 2019) ha inteso valutare la necessità e la fattibilità dell’istituzione di un sistema nazionale di sorveglianza per le infezioni da *L. monocytogenes*, prefiggendosi, fra gli obiettivi, la valutazione della capacità operativa dei laboratori microbiologici territoriali di applicare oltre alla tecnica di tipizzazione molecolare mediante Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) metodi di caratterizzazione molecolare degli isolati basati sul sequenziamento dell’intero genoma (Whole Genome Sequencing, WGS), come del resto già auspicato dall’ECDC che sollecitava gli Stati Membri a sostituire la PFGE con WGS, a partire dal 2018. La presenza presso l’Istituto Superiore di Sanità (ISS) di un servizio centralizzato di sequenziamento e lo sviluppo della piattaforma IRIDA-ARIES (<https://irida.iss.it>), per la raccolta e l’analisi delle sequenze genomiche, ha consentito all’Italia di completare rapidamente la transizione dalla PFGE al WGS relativamente agli isolati clinici di *L. monocytogenes*.

Introduzione

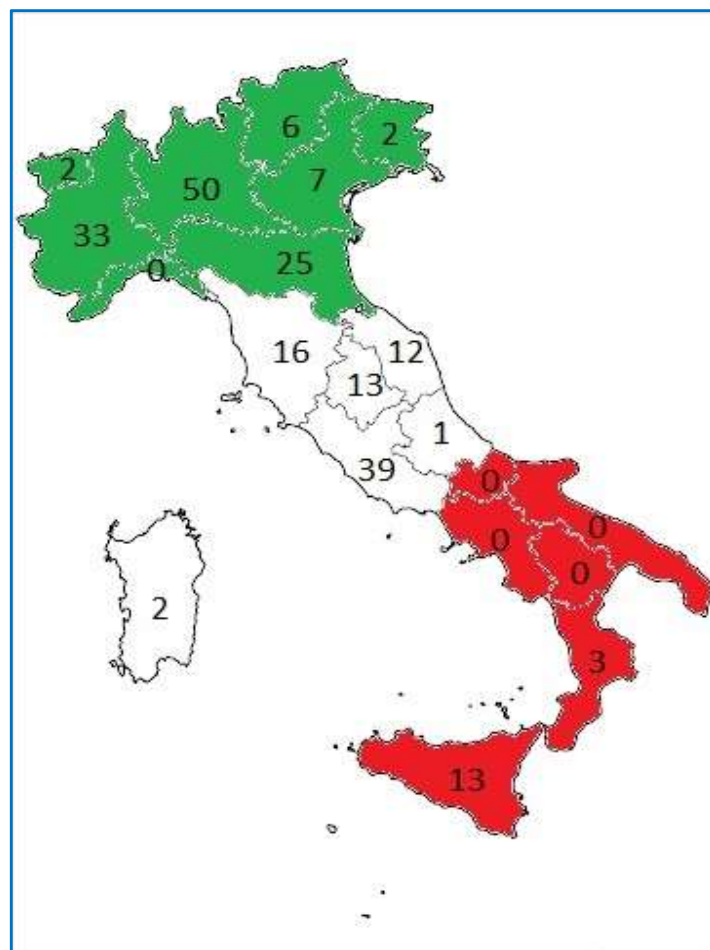
L’obiettivo di questo report è di condividere con i Laboratori di Riferimento Regionali per la sorveglianza clinica, i Laboratori Ospedalieri, le Regioni e il Ministero della Salute, i risultati della sorveglianza epidemiologica e di laboratorio della listeriosi umana effettuata sul territorio nazionale durante il 2020. Il documento contiene inoltre, l’aggiornamento relativo al numero dei ceppi clinici di *L. monocytogenes* isolati nel 2019 e inviati nei primi mesi del 2020 nonché le notifiche dei casi di listeriosi inerenti all’anno 2019, dati che non erano disponibili al momento della stesura del report relativo agli anni 2018-2019.

SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA DELLA LISTERIOSI 2020

1. Ceppi clinici di *L. monocytogenes* isolati nel 2020

Nel 2020 sono stati inviati all'Istituto Superiore di Sanità (ISS) 224 ceppi clinici di *L. monocytogenes* da 15/20 Regioni italiane insieme alle schede per la raccolta dei dati epidemiologici e microbiologici (Figura 1). Le Regioni Lombardia, Lazio e Piemonte hanno inviato il 53,8% del totale degli isolati clinici pervenuti in ISS. Rispetto al 2019 è da notare l'incremento del numero degli isolati inviati dalle Regioni Marche, Piemonte, Trentino-Alto Adige e Umbria. I dati relativi al totale dei casi di listeriosi notificati e le notifiche dei casi suddivisi per regioni, al momento della redazione del presente report, non erano ancora disponibili.

Figura 1. Ceppi clinici di *L. monocytogenes* - anno 2020



Nella tabella 1 vengono riportati, oltre al numero dei ceppi di *L. monocytogenes* raccolti nel 2020, l'aggiornamento del numero dei ceppi di *L. monocytogenes* isolati nel 2019 e pervenuti nei primi mesi del 2020 (7 ceppi Emilia-Romagna, 9 ceppi Sicilia, 3 ceppi Toscana e 1 ceppo Trentino-Alto Adige) e le notifiche dei casi di listeriosi inerenti all'anno 2019, non disponibili al momento della stesura del report 2018-2019. Da notare che nel 2020 sono stati isolati un totale di 224 ceppi *L. monocytogenes* da casi confermati di listeriosi invasiva nonostante la particolare situazione vissuta dagli ospedali e, in generale, da tutto il sistema sanitario nazionale a causa della pandemia di SARS COV-19.

Tabella 1. Ceppi di *L. monocytogenes* pervenuti in ISS nel 2020 e aggiornamento dati 2019

Regione	2020		2019		
	N. ceppi	Notifiche	N. ceppi inviati nel 2019	N. ceppi inviati nel 2020 (aggiornamento)	Notifiche*
Abruzzo	1	n. d.	1		1
Basilicata	0	n. d.	0		0
Calabria	3	n. d.	2		2
Campania	0	n. d.	5		3
Emilia-Romagna	25	n. d.	35	7	1
Friuli-Venezia Giulia	2	n. d.	3		4
Lazio	39	n. d.	43		54
Liguria	0	n. d.	2		7
Lombardia	50	n. d.	57		70
Marche	12	n. d.	7		5
Molise	0	n. d.	0		0
Piemonte	33	n. d.	28		25
Puglia	0	n. d.	0		11
Sardegna	2	n. d.	0		2
Sicilia	13	n. d.	1	9	11
Toscana	16	n. d.	13	3	21
Trentino-Alto Adige	6	n. d.	1	1	3
Umbria	13	n. d.	5		0
Valle d'Aosta	2	n. d.	0		0
Veneto	7	n. d.	13		25
Totale	224	n. d.		236	245

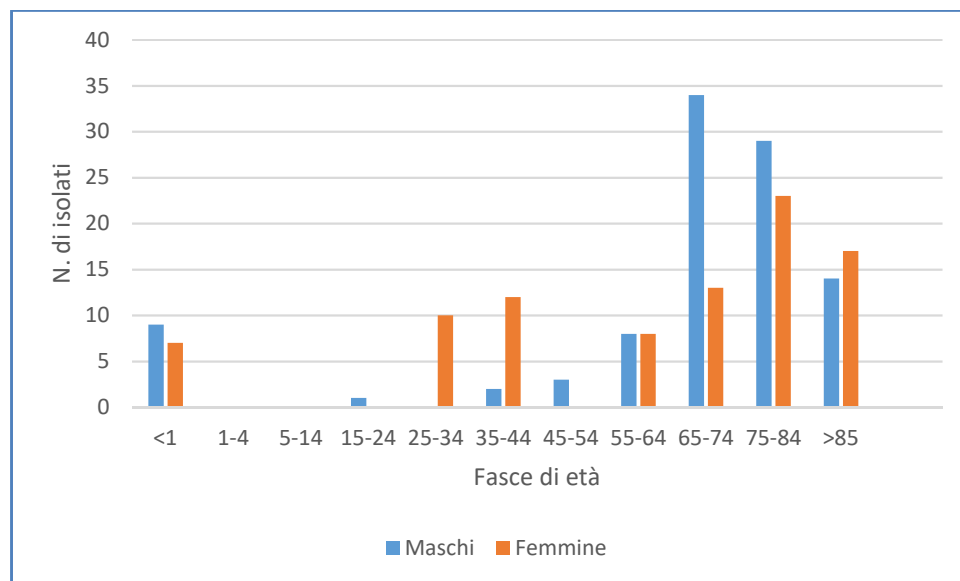
*Dati forniti dal Sistema informativo delle malattie infettive e diffusive – Ministero della Salute.

n. d.: dati non disponibili al momento della stesura del presente report.

2. Informazioni epidemiologiche sui casi di listeriosi (2020)

Per la maggior parte dei ceppi di *L. monocytogenes*, sulla scheda raccolta dati epidemiologica, sono state riportate le informazioni sul paziente relativamente a: età, sesso, residenza, quadro clinico, fattori di rischio, tipo di campione da cui è stata isolata la *L. monocytogenes*, ospedalizzazione ed esito del ricovero. I metadati epidemiologici sono stati inseriti nel database IRIDA-ARIES in forma anonimizzata (senza riferimenti all'identificazione del paziente) e con l'aggregazione delle informazioni sulla residenza a livello di Regione. Dall'analisi dei dati epidemiologici disponibili, si osserva che il 57,9 % del totale dei casi di listeriosi per i quali è stato inviato il ceppo all'ISS nel 2020 riguardava individui di età superiore ai 65 anni in particolare, la fascia di età compresa tra i 71 ed i 90 anni, rappresentava il 45,7% del totale. Il 46,4% dei casi di listeriosi ha interessato individui di sesso maschile (104), il 40,1% individui di sesso femminile (90); per il 13,4% dei casi (30) il sesso non era riportato nella scheda raccolta dati epidemiologici.

Figura 2 Distribuzione dei ceppi di *L. monocytogenes* per età e sesso



Nel 77,2 % dei casi la manifestazione clinica predominante era la setticemia (173) rispetto ai casi di meningite (15,8%, 35). Nel 4,0% dei casi (9) è stata osservata una sintomatologia simil-influenzale nelle donne in gravidanza con isolamento del ceppo di *L. monocytogenes* da tampone placentare, mentre 2 ceppi (0,9%) sono stati isolati da neonati con distress respiratorio. Solo per 5 ceppi di *L. monocytogenes* (2,2%) non è stata segnalata la manifestazione clinica. Oltre all'età avanzata, che rappresenta un noto fattore di rischio per la listeriosi, molti pazienti presentavano

anche concomitanti condizioni patologiche, tra cui, insufficienza epatica/renale, cardiopatie e diabete. Da segnalare inoltre che nel 2020, nell'1,4% dei casi di listeriosi la patologia concomitante era rappresentata anche da polmoniti riconducibili ad infezioni da SARS COV-19. Tutti i 224 ceppi di *L. monocytogenes* pervenuti in ISS sono stati isolati da pazienti ospedalizzati, tra questi, il numero di decessi è sceso in modo considerevole nel 2020, con una percentuale di letalità del 2,7 % rispetto al 5,3% osservato nel 2019. Si tratta di un dato di molto inferiore a quello riportato in EU nel 2019 (17,6% secondo il Summary Report EFSA/ECDC, 2020). È necessario tener presente che il decorso clinico della malattia non è facile da seguire in quanto il trasferimento dei pazienti in altri reparti rende difficoltoso per i laboratori di riferimento regionali e per gli stessi laboratori ospedalieri rintracciare tale tipo di informazione. Nello specifico i 6 decessi si sono verificati nelle regioni Lazio, Marche, Toscana, Umbria, Sicilia e Lombardia (un caso di decesso per regione). I casi materno-neonatali (MN) di listeriosi identificati nel periodo in esame sono stati 32. A livello regionale, limitatamente alle regioni più rappresentative come numero di isolati inviati, Lazio, Toscana e Lombardia sono le regioni nelle quali sono stati diagnosticati più casi MN, rispettivamente 8, 6 e 5 casi.

SORVEGLIANZA MOLECOLARE MEDIANTE WGS SUI CEPPI DI *L. MONOCYTOGENES* 2020

3. Raccolta dati di genomica degli isolati clinici di *L. monocytogenes*

Le sequenze genomiche dei ceppi di *L. monocytogenes* pervenuti in ISS nel 2020 sono state inserite nella piattaforma IRIDA-ARIES. Per la sottomissione e consultazione dei dati di sequenza è stato previsto il rilascio agli utenti di credenziali di accesso, previa autorizzazione da parte delle autorità competenti regionali. Gli utenti autorizzati possono consultare e scaricare le sequenze genomiche, il sierogruppo, i determinanti di virulenza e, dal 2020, lineage e clonal complex relativi ai ceppi della propria regione e confrontare le sequenze genomiche con quelle dei ceppi circolanti in altre regioni. La piattaforma IRIDA-ARIES comprende, al momento della pubblicazione del presente report, 757 sequenze genomiche di *L. monocytogenes* provenienti da casi clinici, verificatesi in Italia, tra il 2010 e il 2020. Dei 224 ceppi di *L. monocytogenes* pervenuti in ISS nel 2020, 192 sono stati sottoposti a WGS; di questi 81 ceppi sono stati sequenziati dall'ISS e le relative sequenze sono state caricate nella piattaforma IRIDA-ARIES, mentre 111 ceppi sono stati sequenziati sul territorio e le relative sequenze sono state inserite sulla piattaforma IRIDA-ARIES direttamente dagli utenti delle seguenti regioni: Abruzzo (1), Emilia-Romagna (1), Lazio (36), Liguria (1), Lombardia (32), Marche (9), Piemonte (7), Puglia (2), Toscana (12), Umbria (10). Per quanto riguarda l'inserimento delle sequenze prodotte sul territorio, viene seguita una politica diversa a seconda delle regioni: l'Emilia-Romagna pur inviando in ISS tutti i ceppi isolati nell'arco dell'anno, sottomete solo le

sequenze relative alla segnalazione di un cluster in cui la regione risultata coinvolta, mentre le restanti regioni, sottomettono alla piattaforma IRIDA-ARIES tutte le sequenze disponibili.

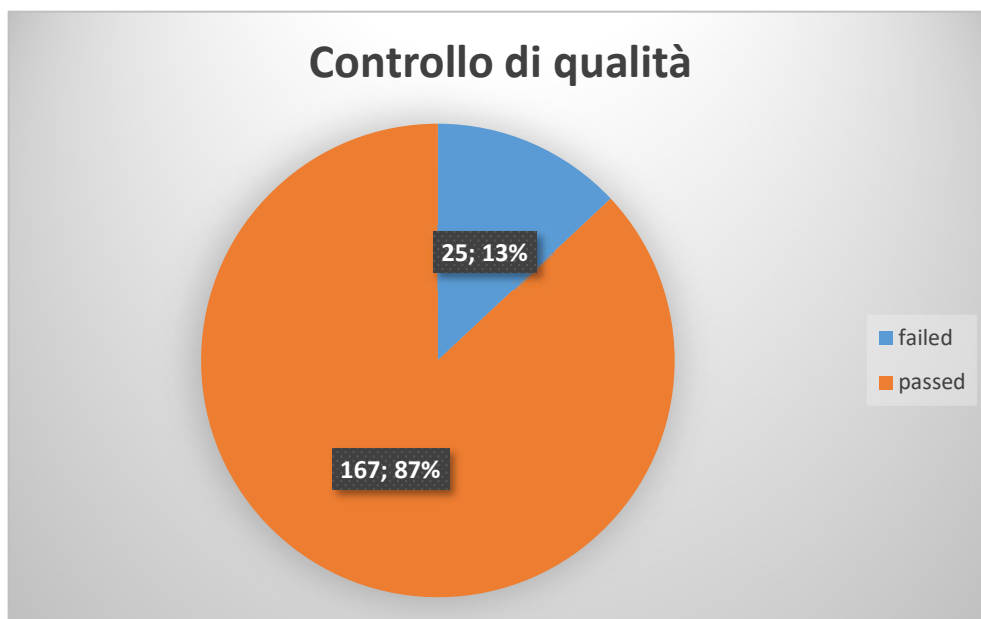
4. Risultati dell'analisi genomica

Le analisi dei dati di genomica sono innescate automaticamente all'atto della sottomissione e i relativi risultati prodotti (metadati analitici) popolano automaticamente una tabella interrogabile dall'utente.

4.1 Controllo di qualità

Al momento della sottomissione dei dati nella piattaforma IRIDA-ARIES, il software esegue un controllo di qualità dei dati di sequenziamento basato sulla determinazione della i) profondità di sequenziamento, ii) copertura in profondità e in lunghezza dei geni dello schema MLST (7 geni). La combinazione di questi parametri genera un contrassegno identificato dai termini "passed" per le sequenze con profondità di lettura > di 100x e con copertura dei geni MLST del 100% con profondità maggiore o uguale a 30x e "failed" per quelle che non soddisfano uno tra questi due parametri; è da precisare che tutte le sequenze failed sono "accepted for outbreak investigation". In Figura 3 viene mostrata la distribuzione dei parametri di qualità relativi alle sequenze dei ceppi isolati nell'anno in esame.

Figura 3. Controllo di qualità sulle sequenze degli isolati clinici di *L. monocytogenes* nel 2020



4.2 Sierogruppi

Come per gli anni 2018 e 2019, anche nel 2020 i sierogruppi prevalentemente associati ai casi di listeriosi riportati all'ISS sono stati 4b,4d,4e (43,0%) e 1/2a,3a (31,0%), seguiti dal sierogruppo 1/2b,3b,7 (24,0%), stabile rispetto al 2019, e dal sierogruppo 1/2c, 3c (2,0%), (Figura 4). A livello regionale, limitatamente alle 3 regioni più rappresentative come numero di isolati clinici inviati, il sierogruppo 4b,4d,4e prevale in Piemonte, i sierogruppi 1/2a,3a e 1/2b,3b,7, rispettivamente in Lombardia e nel Lazio (Figura 5).

In generale, i sierogruppi 1/2a,3a e 4b,4d,4e risultano essere quelli maggiormente associati ai casi di setticemia, mentre il sierogruppo 4b,4d,4e risulta essere legato ai casi di meningite.

Figura 4. Distribuzione dei sierogruppi identificati mediante analisi genomica nel 2020

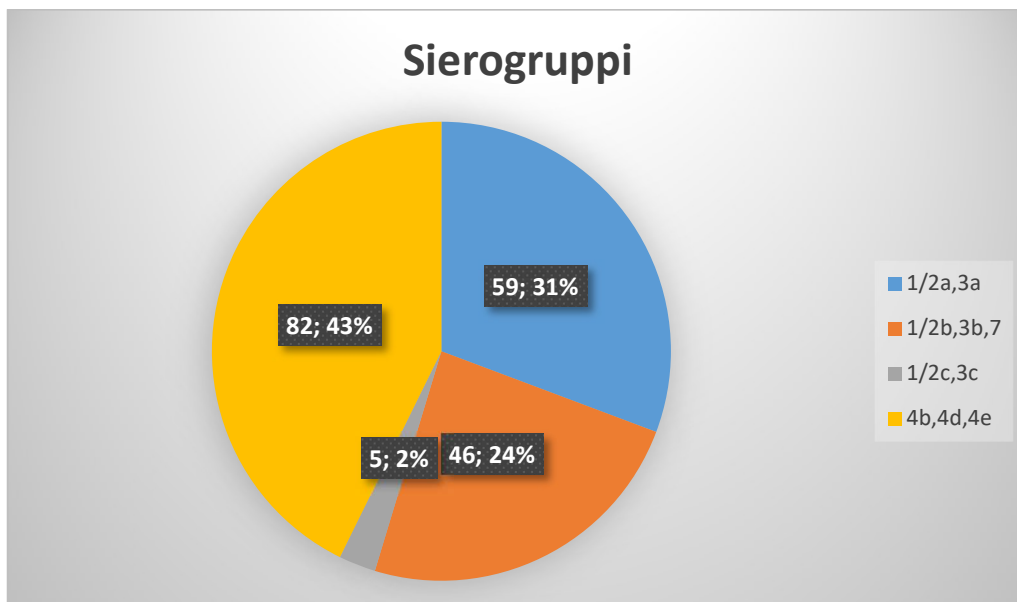
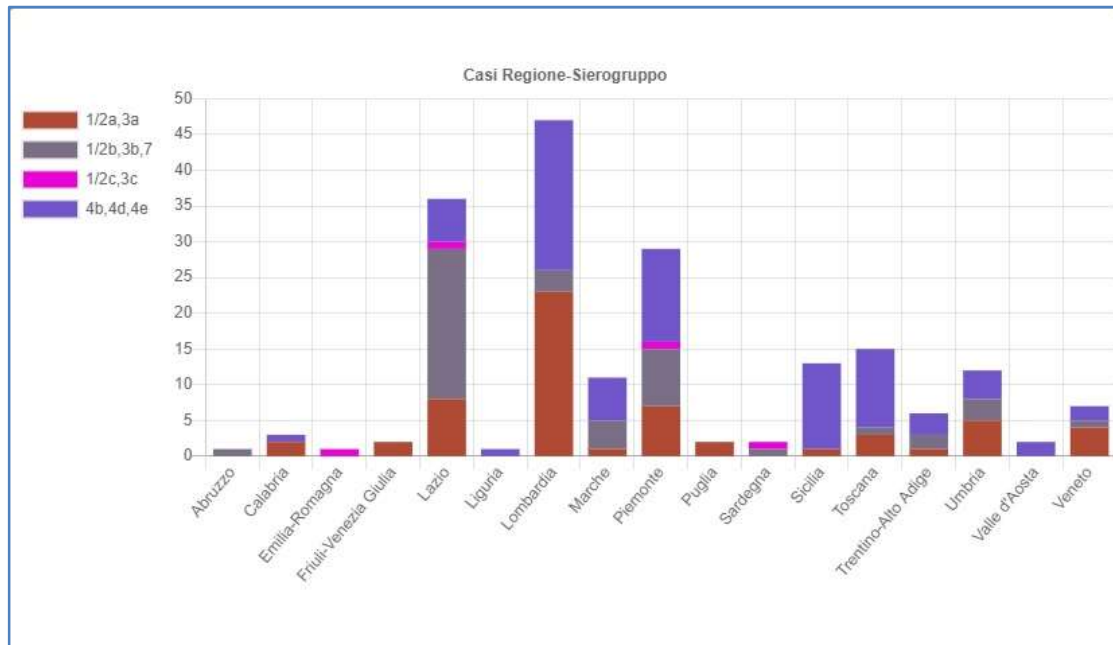


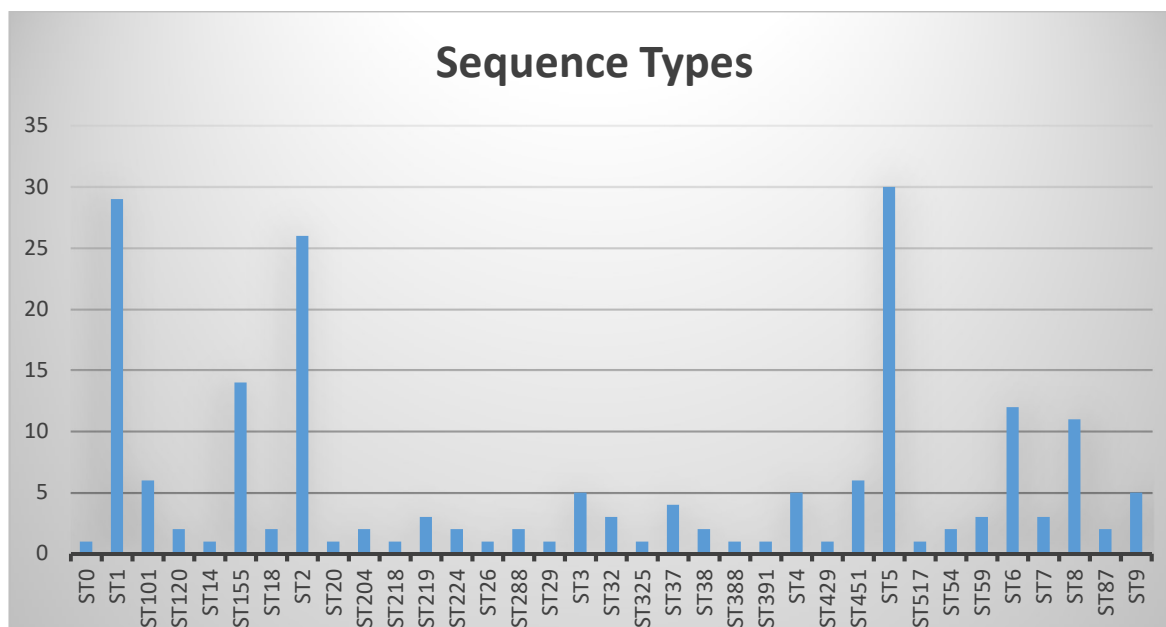
Figura 5. Distribuzione dei sierogruppi divisi per Regione di provenienza (2020)



4.3 Lineage, Sequence Types (ST) e Clonal Complex (CC)

La maggior parte dei ceppi clinici di *L. monocytogenes* (66,7%) appartiene al Lineage I, la restante parte al Lineage II. I ceppi isolati nel 2020 risultano divisi in 34 Sequence Types/Clonal Complex diversi a dimostrazione dell'ampia varietà di popolazione di *L. monocytogenes* presente in Italia. Nello specifico, i ceppi isolati nel 2020 risultano distribuiti prevalentemente fra tre diversi "sequence types", ST1, ST2 e ST5, tutti appartenenti al Lineage I, equamente distribuiti su tutta la penisola (Figura 6). Rispetto ai 2 anni precedenti si assiste ad un notevole aumento di ST2 (13,5% nel 2020, 8% nel 2019 e 4,5% nel 2018) e ST5 (15,65% nel 2020, 11% nel 2019 e 5% nel 2018), mentre ST1 diminuisce (15% nel 2020, 17% nel 2019 e 25% nel 2018). Come già evidenziato nel report 2018-2019, l'aumento del ST5 deve essere monitorato con attenzione in quanto, in base a recenti dati di letteratura (Muhterem-Uyaret M. et al., 2018; Naditz A.L. et al. 2019), gli isolati clinici appartenenti a questo "sequence type" sono caratterizzati da elevata resistenza a fattori ambientali estremi e possono quindi essere di difficile eradicazione dagli impianti di produzione rappresentando, di conseguenza, una continua fonte di contaminazione degli alimenti. I sequence types ST1 e ST5 sono stati associati ai casi di setticemia nell'uomo, mentre ST1 e ST2 sono collegati ai casi di meningite.

Figura 6. Distribuzione dei diversi ST degli isolati clinici di *L. monocytogenes* nel 2020



4.4. Analisi dei cluster genomici

Un cluster di isolati clinici è definito come un gruppo di due o più genomi di *L. monocytogenes* che differiscono per non più di sette differenze alleliche sul totale del “core genome” della specie che include un totale di 1.748 geni. Questa misura identifica un grado di correlazione tra isolati clinici che può indicare un’origine clonale e che pertanto deve essere approfondita a livello epidemiologico. L’analisi filogenetica dei genomi dei 192 ceppi di *L. monocytogenes* inseriti nella piattaforma IRIDA-ARIES nel 2020 ha consentito l’identificazione di 19 cluster, la maggior parte dei quali è composta da un numero di ceppi che varia da 2 a 6. Solo due cluster, il cluster 4 e il cluster 90 sono composti rispettivamente da 13 e 15 ceppi. Il cluster 4 è composto da 1 ceppo isolato in Piemonte, 2 ceppi isolati nelle Marche e da 10 isolati provenienti dalla Regione Lazio. Il cluster 9 è composto da 1 ceppo isolato in Lombardia, 1 ceppo isolato in Toscana 1 ceppo isolato nel Lazio, 2 ceppi isolati in Piemonte e 10 ceppi isolati in Sicilia (Tabella 2).

L’analisi filogenetica dei genomi dei ceppi clinici di *L. monocytogenes* relativi all’anno 2020 comparati con tutti i dati presenti nel database IRIDA-ARIES a partire dal 2010 ha consentito l’identificazione di 23 cluster. Nove cluster (cluster 1, 28, 4, 53, 6, 80, 81, 9 e 90) hanno coinvolto dai 12 ai 41 ceppi clinici con un’estesa diffusione geografica, coinvolgendo fino a 9 regioni. Particolare attenzione va rivolta ai cluster 1, 4 e 90.

Il cluster 1 risultava composto da 38 ceppi di *L. monocytogenes*, 12 dei quali isolati nella Regione Lombardia, con la seguente distribuzione temporale: 2 ceppi isolati nel 2020, 4 nel 2019, 5 nel 2018 e 1 nel 2017. Sei ceppi presentavano un profilo con ≤ 4 differenze alleliche, mentre 3 ceppi presentavano ≤ 7 differenze alleliche (cgMLST secondo lo schema di Moura).

Il cluster 4 era composto da 41 ceppi di *L. monocytogenes* 34 dei quali isolati nella Regione Lazio, con la seguente distribuzione temporale: 13 ceppi isolati nel 2020, 17 ceppi nel 2019 e 4 ceppi nel 2018. Tutti i ceppi presentavano ≤ 5 differenze alleliche (cgMLST secondo lo schema di Moura).

Il cluster 90 era composto da 26 ceppi di *L. monocytogenes* 18 dei quali isolati nella Regione Sicilia, con la seguente distribuzione temporale: 10 ceppi isolati nel 2020, 7 ceppi isolati nel 2019 e 1 ceppo isolato nel 2018. Tutti i ceppi presentavano profili allelici molto vicini con ≤ 4 differenze alleliche (cgMLST secondo lo schema di Moura).

Due o più ceppi, compresi all'interno di un cluster si definiscono strettamente correlati (*core cluster*) quando la differenza allelica è ≤ 4 cg-MLST, mentre risultano appartenere ad un cluster esteso quando la differenza allelica tra i ceppi è compresa tra 5 e 7 alleli cg-MLST rispetto ad almeno un isolato presente nel *core cluster*.

Nella Tabella 3 vengono riportati tutti i cluster presenti nel database IRIDA-ARIES identificati analizzando i dati relativi agli isolati raccolti nel 2020 paragonati con i dati presenti nel database a partire dal 2010.

Tabella2. Cluster individuati nel 2020

Cluster	Numero di casi	Sequence type Clonal Complex	Sierogruppo	Regioni nel cluster
Cluster_1	6	ST8/CC8	1/2a,3a	Calabria, Lazio, Lombardia, Piemonte, Veneto
Cluster_10	2	ST4/CC4	4b,4d,4e	Veneto, Toscana
Cluster_104	2	ST1/CC1	4b,4d,4e	Umbria
Cluster_106	2	ST1/CC1	4b,4d,4e	Toscana
Cluster_156	2	ST9/CC9	1/2c,3c	Piemonte, Emilia- Romagna
Cluster_166	2	ST87/CC87	1/2b,3b,7	Piemonte
Cluster_167	2	ST101/CC101	4b,4d,4e	Umbria, Lombardia
Cluster_187	5	ST1/CC1	4b,4d,4e	Piemonte, Marche
Cluster_201	2	ST5/CC5	1/2b,3b,7	Trentino-Alto Adige, Veneto
Cluster_209	2	ST37/CC37	1/2a,3a	Umbria
Cluster_32	3	ST2/CC2	4b,4d,4e	Lazio, Piemonte, Marche
Cluster_39	3	ST3/CC3	1/2a,3a	Umbria
Cluster_4	13	ST5/CC5	1/2b,3b,7	Lazio, Piemonte, Marche
Cluster_45	2	ST32/CC32	4b,4d,4e	Lombardia, Piemonte
Cluster_53	5	ST155/CC155	1/2a,3a	Lombardia, Umbria, Sicilia
Cluster_81	4	ST451/CC451	1/2a,3a	Lazio, Umbria
Cluster_84	2	ST155/CC155	1/2a,3a	Lombardia, Piemonte
Cluster_9	4	ST6/CC6	4b,4d,4e	Lombardia, Valle d'Aosta, Trentino-Alto Adige, Lazio
Cluster_90	15	ST2/CC2	4b,4d,4e	Lazio, Sicilia, Lombardia, Piemonte, Toscana

Tabella 3. Cluster individuati nel periodo 2010-2020

Cluster	Sequence type Clonal complex	Sierogruppo	Numeri di casi nel cluster (2010-2020)	Regioni coinvolte nel cluster (2010-2020)
Cluster_1	ST8/CC8	1/2a,3a	38	Calabria, Lazio, Lombardia, Piemonte, Veneto, Emilia-Romagna, Friuli-Venezia Giulia, Toscana, Umbria (2014, 2017, 2018, 2019, 2020)
Cluster_10	ST4/CC4	4b,4d,4e	6	Veneto, Toscana, Lazio (2014, 2017, 2019, 2020)
Cluster_105	ST2/CC2	4b,4d,4e	2	Lazio, Marche (2018, 2020)
Cluster_106	ST1/CC1	4b,4d,4e	5	Piemonte, Toscana, Umbria (2018, 2020)
Cluster_182	ST1/CC1	4b,4d,4e a	3	Liguria, Toscana (2018, 2019, 2020)
Cluster_191	ST37/CC37	1/2a,3a	2	Puglia, Lombardia (2019, 2020)
Cluster_28	ST325/CC31	1/2a,3a	12	Trentino-Alto Adige, Lombardia, Veneto, Piemonte (2011, 2017, 2018, 2019, 2020)
Cluster_32	ST2/CC2	4b,4d,4e	7	Lazio, Piemonte, Marche, Campania (2016, 2018, 2019, 2020)
Cluster_39	ST3/CC3	1/2b,3b,7	10	Toscana, Umbria (2018, 2019, 2020)
Cluster_4	ST5/CC5	1/2b,3b,7	41	Lazio, Piemonte, Lombardia, Marche (2013, 2015, 2018, 2019, 2020)
Cluster_47	ST120/CC8	1/2a,3a	2	Lombardia, Marche (2015, 2020)
Cluster_53	ST155/CC155	1/2a,3a	14	Sicilia, Trentino-Alto Adige, Lombardia, Umbria, Lazio, Toscana (2018, 2019, 2020)
Cluster_6	ST155/CC155	1/2a,3a	23	Veneto, Toscana, Emilia-Romagna, Lombardia, Toscana, Campania (2011, 2012, 2013, 2014, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020)
Cluster_76	ST1/CC1	4b,4d,4e	8	Lombardia, Liguria, Piemonte, Trentino-Alto Adige, Lazio, Marche (2015, 2019)
Cluster_8	ST288/CC288	1/2b,3b,7	10	Piemonte, Lombardia, Trentino-Alto Adige (2017, 2018, 2019,
Cluster_80	ST224/CC224	1/2b,3b,7	13	Piemonte, Lombardia (2017, 2018, 2019, 2020)
Cluster_81	ST451/CC451	1/2a,3a	12	Lazio, Umbria, Lombardia, Toscana, Piemonte (2018, 2019, 2020)
Cluster_84	ST155/CC155	1/2a,3a	10	Piemonte, Lombardia, Toscana, Trentino-Alto Adige (2015, 2018, 2019, 2020)
Cluster_87	ST38/CC101	1/2a,3a	3	Piemonte, Lombardia (2019, 2020)
Cluster_9	ST6/CC6	4b,4d,4e	13	Lombardia, Piemonte, Valle D'Aosta, Trentino-Alto Adige (2013, 2017, 2018, 2019, 2020)
Cluster_90	ST2/CC2	4b,4d,4e	26	Lazio, Sicilia, Lombardia, Piemonte, Toscana (2019, 2020)
Cluster_94	ST5/CC5	1/2b,3b,7	2	Lazio, Trentino-Alto Adige (2018, 2020)
Cluster_95	ST2/CC2	4b,4d,4e	3	Lombardia, Emilia-Romagna (2018, 2019, 2020)

È importante sottolineare che la notifica di un cluster di isolati avviene automaticamente al momento della sottomissione dei dati e successivamente all'analisi automatica degli stessi. La piattaforma di raccolta dati IRIDA-ARIES, infatti, notifica a fine analisi l'identificazione di un cluster di isolati a tutti gli utenti delle regioni coinvolte e al Ministero della Salute così che possano essere avviate tempestivamente le indagini epidemiologiche finalizzate alla eventuale conferma dell'esistenza di un cluster di casi e alla pronta risoluzione degli eventi.

Conclusioni

Nel 2020 sono pervenuti in ISS 224 ceppi isolati da casi di listeriosi invasiva nell'uomo. Occorre sottolineare che nonostante la pandemia da SARS COVID-19, l'attività di isolamento e di caratterizzazione molecolare dei ceppi di *L. monocytogenes* non ha subito rallentamenti consentendo, mediante l'analisi genomica, di seguire le dinamiche della circolazione dei ceppi sul territorio nazionale sia in modo puntuale, per la pronta identificazione di possibili focolai, sia retrospettivamente permettendo di identificare focolai persistenti e la relativa dimensione territoriale. Tutto questo consente di mettere in campo misure per mitigare l'impatto di focolai identificati precocemente e di comprendere i meccanismi che permettono la persistenza di ceppi di *L. monocytogenes*. Inoltre, la raccolta dei dati di genomica a livello nazionale consente di rispondere, in tempo reale, alle allerte internazionali sulla identificazione di cluster attraverso la comparazione del profilo genomico degli isolati e la valutazione della presenza di isolati con profilo compatibile. Dall'analisi dei dati dei ceppi clinici inviati nel 2020 sequenziati sia in ISS che sul territorio è emerso un quadro molto netto relativamente alla circolazione dei diversi sierogruppi e "sequence types" di *L. monocytogenes* in Italia e in modo particolare, è stato possibile identificare diversi clusters genomici. Quest'ultimo aspetto riveste una particolare rilevanza consentendo una pronta e completa diffusione delle informazioni relative a possibili clusters di casi di infezione nell'uomo a tutti gli attori che devono essere coinvolti nelle indagini. Attualmente, presso l'ISS, viene eseguito il sequenziamento genomico di ceppi clinici inviati in ottemperanza alla nota circolare "Sorveglianza e prevenzione della Listeriosi" (0008252-13/03/2017-DGPRES-DGPRES-P); viene inoltre eseguito il sequenziamento genomico dei ceppi clinici d'archivio presenti nella collezione ISS al fine di pervenire ad una analisi storica della distribuzione geografica e temporale di *L.*

monocytogenes sul territorio nazionale e comprenderne le dinamiche di circolazione nella popolazione.

Ad oggi gli isolati clinici di *L. monocytogenes* inclusi nella piattaforma IRIDA – ARIES provengono da 15 regioni così come nel 2019.

La valutazione dell'andamento del servizio di analisi genomica dei ceppi clinici di *L. monocytogenes* effettuata presso l'ISS dal 2018 induce alle seguenti considerazioni:

1. la produzione e raccolta delle informazioni di sequenziamento genomico presso l'ISS e l'offerta di strumenti analitici completamente automatizzati (piattaforma IRIDA-ARIES) rappresenta una importante risorsa per il territorio nazionale che ha accesso ad un livello analitico avanzato senza dover necessariamente investire in acquisizione e/o formazione di risorse in ambito specifico;
2. l'analisi dell'informazione genomica consente di seguire le dinamiche della circolazione dei ceppi di *L. monocytogenes* sul territorio nazionale sia in tempo reale, consentendo la pronta identificazione di possibili focolai, sia retrospettivamente permettendo di identificare focolai persistenti e la relativa dimensione territoriale. Questo consente di mettere in campo misure per mitigare l'impatto di focolai identificati precocemente e di comprendere i meccanismi che permettono la persistenza di ceppi di *L. monocytogenes*. Inoltre, la raccolta dei dati genomica a livello nazionale consente di rispondere alle allerte nazionali ed internazionali sulla identificazione di cluster attraverso la comparazione del profilo genomico degli isolati e la valutazione della presenza di isolati con profilo compatibile;
3. l'incorporazione di moduli per analisi che possono essere lanciate direttamente dall'utenza più esperta rappresenta un'area di gradimento per quest'ultima tipologia di utenti.
4. l'estendere la copertura territoriale della raccolta dati attraverso l'invio degli isolati clinici in ISS ed il loro sequenziamento utilizzando risorse disponibili sul territorio consente di definire con precisione lo spettro dei ceppi di *L. monocytogenes* circolanti sul territorio e di ridurre sensibilmente i tempi che intercorrono tra l'isolamento del ceppo dal caso di malattia e la possibile identificazione di clusters con la conseguente riduzione dei tempi dell'azione di contrasto da parte delle Autorità sanitarie. Questo aspetto, ancorché in miglioramento, rispetto al momento della pubblicazione del primo report (2018-2019), necessita di essere ulteriormente migliorato stimolando una maggiore adesione delle Regioni alla raccolta dati nazionali.