

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

VIII Workshop Nazionale Enter-net Italia
Sistema di sorveglianza delle infezioni enteriche

**Infezioni trasmesse da alimenti e acqua:
diagnostica ed epidemiologia**

Vietri sul Mare, Salerno
31 maggio-1 giugno 2012

RIASSUNTI

A cura di
Caterina Graziani (a),
Francesca Mancini (a) e Ida Luzzi (b)

*(a) Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare
(b) Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate*

ISSN 0393-5620
ISTISAN Congressi
12/C2

Istituto Superiore di Sanità

VIII Workshop Nazionale Enter-net Italia. Sistema di sorveglianza delle infezioni enteriche. Infezioni trasmesse da alimenti e acqua: diagnostica ed epidemiologia. Vietri sul Mare, Salerno, 31 maggio-1 giugno 2012. Riassunti.

A cura di Caterina Graziani, Francesca Mancini e Ida Luzzi
2012, vii, 79 p. ISTISAN Congressi 12/C2

Enter-net è una rete europea per la sorveglianza delle infezioni enteriche, che è stata inserita nel sistema di monitoraggio delle infezioni trasmesse da alimenti e acqua coordinato dallo *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC). La rete ha i seguenti obiettivi: armonizzare i metodi di tipizzazione, mantenere database aggiornati, identificare e controllare gli episodi epidemici a carattere transnazionale. L'Italia è rappresentata nella rete dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) che coordina un sistema di sorveglianza costituito da laboratori del Servizio Sanitario Nazionale operanti nei settori umano, veterinario e ambientale. A partire dal 2001, le attività di Enter-net Italia vengono presentate nel corso di un workshop che nel 2009 ha la veste di un convegno sulla sorveglianza e controllo delle infezioni trasmesse da alimenti e acqua. Gli obiettivi sono: i) presentare la nuova rete europea di sorveglianza; ii) presentare le attività di Enter-net Italia; iii) analizzare e discutere i sistemi di allerta e le strategie di controllo di queste infezioni.

Parole chiave: Microbiologia, Epidemiologia, Zoonosi

Istituto Superiore di Sanità

VIII National Workshop Enter-net Italia. Surveillance system of enteric infection. Foodborne and waterborne diseases: diagnostic and epidemiology aspects. Vietri sul Mare, Salerno, May 31-June 1, 2012. Abstract book.

Edited by Caterina Graziani, Francesca Mancini and Ida Luzzi
2012, vii, 79 p. ISTISAN Congressi 12/C2 (In Italian)

Enter-net is an international network for the surveillance of human enteric infections: recently, it has been included in the surveillance system for foodborne and waterborne diseases coordinated by the European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The main objectives are the harmonisation of typing methods, the establishment of a regularly updated international database, the recognition and investigation of outbreaks involving different countries. The Istituto Superiore di Sanità (ISS) represents Italy in the network and coordinates a national surveillance system (Enter-net Italia) that involves laboratories operating in the medical, veterinary, and environmental fields. Starting from 2001, Enter-net Italia activities are presented in an annual workshop with the participation of physicians, biologists, veterinarians and technicians operating in the public health services. This year, the workshop is structured as a meeting that, beside presenting Enter-net activities, will provide an update on the epidemiology of foodborne and waterborne diseases.

Keywords: Microbiology, Epidemiology, Zoonoses

Responsabili scientifici: Federico Capuano, Yolande Therese R. Proroga, Alfredo Caprioli, Ida Luzzi

Per Informazioni su questo documento scrivere a: ida.luzzi@iss.it

Il rapporto è disponibile online sul sito di questo Istituto: www.iss.it

Citare questo documento come segue:

Graziani C, Mancini F, Luzzi I (Ed.). *VIII Workshop Nazionale Enter-net Italia. Sistema di sorveglianza delle infezioni enteriche. Infezioni trasmesse da alimenti e acqua: diagnostica ed epidemiologia. Vietri sul Mare, Salerno, 31 maggio-1 giugno 2012. Riassunti.* Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2012 (ISTISAN Congressi 12/C2).

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro, Egiziana Colletta e Patrizia Mochi*
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.



INDICE

Programma	iii
Note per la consultazione	vii
Prima sessione	
Sorveglianza delle infezioni trasmesse da alimenti	1
Seconda sessione	
Sorveglianza delle infezioni trasmesse da alimenti e acqua: esperienze regionali	7
Terza sessione	
Sorveglianza e ambiente	11
Prima sessione	
Malattie trasmesse da alimenti: problematiche emergenti	15
Comunicazioni orali e poster	23
Indice degli autori	77

PROGRAMMA

Giovedì 31 maggio 2012

08.00 Registrazione dei partecipanti

09.30 Indirizzo di benvenuto
Antonio Limone, Achille Guarino e Silvio Borrello

Prima sessione

SORVEGLIANZA DELLE INFEZIONI TRASMESSE DA ALIMENTI

10.00 *La sorveglianza delle malattie trasmesse da alimenti in Europa e in Italia*
Gaia Scavia

10.30 *Enter-net - Sorveglianza delle infezioni da patogeni enterici:
risultati dell'attività 2009-2011*
Ida Luzzi

11.00 *La rete Enter-vet: riepilogo dei dati raccolti nei nove anni di attività*
Antonia Ricci

11.30 Intervallo e visita poster

12.30 *Escherichia coli produttori di verocitotossina: cosa abbiamo imparato
dall'epidemia da E.coli O104:H4 in Germania?*
Alfredo Caprioli

13.00 Comunicazioni orali

13.30 Intervallo

Seconda sessione

SORVEGLIANZA DELLE INFEZIONI TRASMESSE DA ALIMENTI E ACQUA: ESPERIENZE REGIONALI

14.30 *L'esperienza della Regione Toscana: dall'istituzione del CeRRTA
alla redazione delle linee guida per la corretta gestione degli episodi
di malattie veicolate da alimenti 2010*
Costanza Pierozzi

15.00 *Attività e risultati del CePiTSa: Cento Pilota Tipizzazione Salmonella della Regione Campania*
Yolande Proroga

15:30 Comunicazioni orali

Terza Sessione

SORVEGLIANZA E AMBIENTE

16.30 *Salmonella e ambiente: dati 2009-20011*
Giuseppe Cirillo

17:00 Comunicazioni orali

17:30 Chiusura dei lavori

Venerdì 1 giugno 2012

Prima sessione

MALATTIE TRASMESSE DA ALIMENTI: PROBLEMATICHE EMERGENTI

8.45 *La diffusione del Campylobacter negli alimenti: dati nazionali ed europei*
Elisabetta Di Giannatale

9.15 *Epidemiologia molecolare della Listeria monocitogenes nell'uomo e negli alimenti*
Antonio Parisi

9.45 *Incidenza di Clostridium difficile negli alimenti e rischio per la salute*
Vincenzo Pasquale

10.15 *Il virus dell'Epatite E un patogeno emergente: ruolo della fauna selvatica*
Ugo Pagnini

10:45 Comunicazioni orali

11:30 Intervallo e visione poster

12.30 *Impiego dei fagi litici nel controllo della salmonellosi*
Domenico Iannelli

13:00 Comunicazioni orali

- 13:30 Intervallo e visione poster
- 14:30 Comunicazioni orali
- 15:30 Discussione e chiusura dei lavori

NOTE PER LA CONSULTAZIONE

Il presente lavoro raccoglie le relazioni, le comunicazioni e i poster presentati al workshop. I lavori sono divisi in due sezioni:

- **Relazioni.** Contiene le relazioni secondo l'ordine previsto nel programma.
- **Comunicazioni e Poster.** Le comunicazioni sono presentate in ordine alfabetico del primo autore; i poster sono contrassegnati con la lettera P e numerati.

Alla fine del volume è presente un indice degli autori di ogni singolo contributo.

Prima sessione

Sorveglianza delle infezioni trasmesse da alimenti

LA SORVEGLIANZA DELLE MALATTIE TRASMESSE DA ALIMENTI IN EUROPA E IN ITALIA

Gaia Scavia (a), Luca Busani (a), Alfredo Caprioli (a), Anna Maria Dionisi (b), Martina Escher (a), Fabio Galati (a), Caterina Graziani (a), Ida Luzzi (b)

(a) *Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Introduzione. Le Malattie Trasmesse da Alimenti (MTA) ed i patogeni ad esse associati sono causa in tutto il mondo di mortalità prematura, disabilità cronica ed elevati costi socio-sanitari legati alla loro occorrenza ed alle attività di prevenzione lungo la filiera produttiva agroalimentare. Le strategie di controllo adottate dalla UE mirano a integrare i programmi di prevenzione nell'uomo con le azioni di sanità pubblica veterinaria indirizzando i programmi di controllo, sulla base dei risultati della sorveglianza nell'uomo.

Metodi. La sorveglianza epidemiologica delle MTA nella UE è oggetto del programma *Foodborne and Waterborne Diseases (FWD)*, attivato dall'*European Centre for Disease Prevention and Control*, con l'obiettivo di migliorare la conoscenza dei patogeni e dei fattori di rischio, identificare tempestivamente focolai epidemici transnazionali e creare reti capaci di rispondere efficacemente a situazioni di emergenza. L'implementazione di sistemi di allerta rapida, a supporto dei flussi di sorveglianza, quali i sistemi ufficiali per gli alimenti (*RASFF*), per le malattie infettive (*EWRS*) e la piattaforma di *epidemiointelligence (EPIS)* del programma FWD, consentono di migliorare i requisiti di tempestività e flessibilità necessari per gestire efficacemente situazioni di emergenza. A livello nazionale, i sistemi di sorveglianza ufficiale delle malattie infettive ed Enter-net permettono di attuare la sorveglianza delle MTA nell'uomo in piena continuità con i flussi europei. La recente attivazione della piattaforma di allerta rapida di *Enter-net*, inoltre, costituisce un'importante opportunità per rafforzare l'integrazione informativa tra i diversi attori e programmi di sorveglianza attivi a livello territoriale, in particolare con la rete veterinaria Enter-vet.

Risultati. I risultati della sorveglianza nell'uomo, negli animali e alimenti sono pubblicati annualmente dall'*European Food Safety Authority* nel *report* congiunto sulle zoonosi nella UE, con l'obiettivo di fornire un quadro epidemiologico il più possibile completo che permetta di rappresentare i progressi, a breve e lungo termine, dei programmi integrati di prevenzione delle MTA, e assicurare una base oggettiva per la loro valutazione.

Conclusione. Gli strumenti metodologici, informativi ed analitici, oggi a supporto della sorveglianza delle MTA nella UE consentano di cogliere in modo assai più efficace rispetto al passato, il complesso quadro epidemiologico sottostante le MTA, fornendo le risorse necessarie ad individuare ed affrontare eventi inattesi complessi, come epidemie di comunità su vasta scala. Occorre, tuttavia, operare per migliorare ulteriormente il coordinamento tra gli attori coinvolti nella sorveglianza delle MTA a livello locale, nazionale, sovranazionale e il livello di integrazione medico-veterinaria, per realizzare pienamente la sorveglianza integrata delle MTA, secondo i principi della UE.

ENTER-NET - SORVEGLIANZA DELLE INFEZIONI DA PATOGENI ENTERICI: RISULTATI DELL'ATTIVITÀ 2009-2011

Ida Luzzi, Emma Filetici, Ildo Benedetti, Sergio Arena, Slawomir Owczarek, Claudia Lucarelli, Anna Maria Dionisi

Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Enter-net è una rete europea per la sorveglianza delle infezioni enteriche che è stata inserita nel sistema di monitoraggio delle infezioni trasmesse da alimenti e acqua (*Foodborne and Waterborne Diseases*, FWD) coordinato dallo *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC). L'Italia è rappresentata nella rete dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) che coordina un sistema di sorveglianza costituito da laboratori del Servizio Sanitario Nazionale operanti nei settori umano, veterinario e ambientale. Attualmente il sistema Enter-net Italia consente la notifica *online* (www.iss.it/ente/) degli isolamenti dei principali agenti zoonotici quali *Salmonella*, *Campylobacter* ed *E. coli* O157 e altri patogeni trasmessi da alimenti e acqua. Nel triennio 2009-2011 nell'ambito della rete Enter-net sono state raccolte informazioni relative a 4.980, 5.489 e 4.608 isolamenti di *Salmonella* da uomo, e 433, e 836 e 848 isolamenti di *Campylobacter*. Oltre il 50% degli isolamenti di *Salmonella* appartengono al sierotipo Typhimurium, e alla sua variante monofasica 4,5,12:i:- mentre si continua ad osservare una diminuzione significativa del numero di isolamenti di *S. Enteritidis*. Sierotipi come Infantis e Napoli mantengono una frequenza di isolamento relativamente costante e intorno al 4%. Per quanto riguarda la tipizzazione fagica va sottolineata la diminuzione del fagotipo DT104 di *S. Typhimurium* e quindi del clone multiresistente ACSSuT mentre sono in aumento ceppi di *S. Typhimurium* e della sua variante monofasica con *pattern* di resistenza ASSuT appartenenti a diversi fagotipi o non tipizzabili. I risultati della tipizzazione molecolare attraverso l'elettroforesi in campo pulsato mostrano la circolazione di cloni diversi nell'ambito del sierotipo Typhimurium mentre nei ceppi della variante monofasica predomina un clone caratterizzato dal tipo fagico DT193 e pulsotipo Xba 131.

Gli aspetti epidemiologici e di sanità pubblica in parte sovrapponibili a quelli di altri Paesi europei e in parte peculiari rendono importante il proseguimento e lo sviluppo delle attività di sorveglianza. A livello europeo la rete FWD raccoglie in via prioritaria dati epidemiologici e microbiologici sulle infezioni da *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* verocitossina produttore (VTEC), *Listeria*, *Shigella* e *Yersinia*. Per migliorare e razionalizzare le attività a livello nazionale e colmare il debito informativo con l'Europa è necessario da un lato migliorare l'efficienza della rete in tutta Italia potenziando l'attività dei Centri di Riferimento Regionali o ridefinendoli ove fosse necessario, dall'altro raccogliere sistematicamente informazioni su tutti i patogeni inclusi nella lista della rete FWD.

LA RETE ENTER-VET: RIEPILOGO DEI DATI RACCOLTI NEI 9 ANNI DI ATTIVITÀ

Lisa Barco, Marzia Mancin, Anna Roccato, Veronica Cibin, Paola Zavagnin, Ketì Antonello, Claudio Minorello, Antonia Anna Lettini, Antonia Ricci

Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Padova

Nel corso dei 9 anni di attività della rete di sorveglianza (2002-2010) sono stati raccolti dati relativi a 42.448 ceppi di *Salmonella* spp. A partire dal 2004 la maggior parte dei ceppi di *Salmonella* isolati era di origine animale. Relativamente alle principali specie di isolamento durante i primi 2 anni di sorveglianza il suino è risultata la prima specie, seguita da pollo e a notevole distanza da tacchino e bovino. A partire dal 2004 invece il pollo è risultata la principale fonte di isolamento di ceppi di *Salmonella*, seguito da suino. L'elevata frequenza di isolamenti di origine avicola può essere in parte attribuita ai piani di sorveglianza di *Salmonella* che sono stati progressivamente implementati nel nostro Paese.

Considerando poi i più frequenti sierotipi isolati dal 2002 fino al 2009 *S. Typhimurium* (ST) è risultato il sierotipo più comune, sebbene nel corso degli anni si sia assistito ad una progressiva riduzione degli isolamenti (dal 22% nel 2002 al 10% nel 2010). Nell'ultimo anno di sorveglianza ST è stata superata dalla variante monofasica di *S. Typhimurium* (STM), che è risultato il sierotipo più frequente, sebbene le percentuali di isolamento dei 2 sierotipi siano molto simili. Nel corso degli anni si è assistito ad un progressivo incremento degli stipiti ascrivibili a STM. Dal 2002 al 2004 infatti la frequenza di tale sierotipo era attorno a 3,5% ed ha raggiunto 10,3% nel 2010. Altri sierotipi molto rappresentati risultano essere *S. Enteritidis*, *S. Derby* e *S. Livingstone*.

I fagotipi prevalenti associati ai ceppi di ST risultano essere DT104, U302, DT193, DT120, U311 e DT12, pur essendo stati registrati sempre con elevata frequenza fagotipi assegnati come NT (isolati non tipizzabili) e RDNC (isolati che presentano un profilo differente rispetto a quelli riportati negli schemi interpretativi). Per *S. Enteritidis* i fagotipi più rappresentati risultano essere PT4, PT1, PT14b, PT8 e PT21, mentre sono stati più raramente riscontrati isolati non riconducibili ai fagotipi riportati negli schemi di lettura.

Nel corso del periodo 2002-2005 la percentuale di ceppi multiresistenti si è dimezzata passando dal 46,81% registrato nel 2002 al 20,72% nel 2005, mentre negli anni successivi si è assistito ad un andamento discontinuo fino ad arrivare nel 2010 ad un percentuale di multiresistenza pari al 35,91%.

Sebbene i dati raccolti nell'ambito della rete Enter-vet rappresentino il risultato della sorveglianza passiva eseguita dai laboratori diagnostici coinvolti nella rete, tali informazioni sono di estrema utilità per ottenere indicazioni sull'andamento di *Salmonella*.

ESCHERICHIA COLI PRODUTTORI DI VEROCITOTOSSINA: COSA ABBIAMO IMPARATO DALL'EPIDEMIA DA *E. COLI* O104:H4 IN GERMANIA?

Alfredo Caprioli

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Nel periodo maggio-giugno 2011, si è verificata in Germania una gravissima epidemia di diarrea emorragica e Sindrome Emolitico Uremica (SEU), una complicanza delle infezioni intestinali da STEC caratterizzata da un'insufficienza renale acuta che spesso necessita dialisi. Lo *European Centre for Disease Control and Prevention* (ECDC) ha riportato un totale di oltre 4.000 casi, di cui 50 deceduti e circa 900 con SEU. Il ceppo STEC responsabile dell'epidemia apparteneva a un sierotipo STEC inusuale (*E. coli* O104:H4), che presentava anche geni caratteristici degli *E. coli* enteroaggregativi, capaci di colonizzare la mucosa intestinale con un diverso meccanismo di adesione. Questa combinazione inusuale di geni di virulenza caratteristici di pato-gruppi diversi di *E. coli* potrebbe spiegare l'elevato livello di virulenza del ceppo epidemico e la sua capacità di provocare la SEU negli adulti. Le indagini epidemiologiche hanno individuato l'origine del focolaio nel consumo di germogli vegetali crudi contaminati, prodotti in un unico stabilimento situato in Bassa Sassonia con semi di fienogreco importati dall'Egitto. Analizzando l'evento è possibile formulare le seguenti riflessioni:

- i fenomeni di ricombinazione tra i batteri enterici possono generare nuovi fenotipi che, una volta introdotti in una popolazione suscettibile, possono causare gravi problemi di sanità pubblica. Il ceppo associato al focolaio epidemico presentava una combinazione inusuale di fattori di virulenza, che ne ha probabilmente determinato l'elevata patogenicità;
- come già verificatosi in passato (Giappone 1996 e USA 2006), la contaminazione della filiera vegetale seppur accidentale può causare epidemie di infezione da VTEC di notevoli dimensioni.

Dal punto di vista delle indagini di laboratorio, l'evento epidemico ha trovato una rete di laboratori, in Europa e in Italia, in grado di effettuare in tempi rapidi le necessarie analisi sugli alimenti. Questo conferma che la capacità di rispondere alle emergenze può dipendere da quanto fatto in precedenza dai laboratori di riferimento, in termini di distribuzione di metodi e materiali di riferimento, addestramento e organizzazione di studi comparativi inter-laboratorio.

Seconda sessione

**Sorveglianza delle infezioni trasmesse
da alimenti e acqua: esperienze regionali**

L'ESPERIENZA DELLA REGIONE TOSCANA: DALL'ISTITUZIONE DEL CENTRO DI RIFERIMENTO REGIONALE SULLE TOSSINFEZIONI ALIMENTARI (CeRRTA) ALLA REDAZIONE DELLE LINEE GUIDA PER LA CORRETTA GESTIONE DEGLI EPISODI DI MALATTIE VEICOLATE DA ALIMENTI 2010

Costanza Pierozzi (a), Paola Picciolli (b), Emanuela Balocchini (c)

(a) Centro di Riferimento Regionale sulle Tossinfezioni Alimentari, Pistoia

(b) U.F. Igiene degli Alimenti e Nutrizione, Azienda USL 3 Toscana, Pistoia

(c) Direzione Generale Diritti di Cittadinanza e Coesione Sociale, Regione Toscana, Firenze

Dal 1999 è attivo in Toscana un Centro di Riferimento per lo studio, la sorveglianza ed il controllo delle malattie trasmesse da alimenti. Il Centro è nato dalla necessità di aumentare la sensibilità del sistema di sorveglianza che al momento vedeva esclusivamente le notifiche di legge come fonte di dati.

Nel 2002 sono state redatte le prime Linee Guida sulla gestione dell'indagine epidemiologica in caso di tossinfezione alimentare. Il sistema di sorveglianza ha un'organizzazione periferica con un referente per ogni Azienda USL della Regione ed una organizzazione centrale con un coordinatore regionale che, oltre a raccogliere, analizzare ed aggregare i dati regionali, ha funzioni di supporto scientifico e formativo nei confronti degli operatori e di organizzazione di altre forme di sorveglianza che permettano di meglio definire il peso delle malattie veicolate da alimenti nella Regione.

Dopo otto anni di applicazione è stato necessario sottoporre il sistema ad uno studio di efficacia e analizzare la qualità del dato fornito. Sono state riconosciute come criticità la cronica sottonotifica da parte dei medici, la mancanza di una forte evidenza di correlazione con il consumo di alimento contaminato, una scelta non sempre corretta del tipo di indagini microbiologiche da effettuare, sia sui casi che sugli alimenti, e la mancanza di comunicazione e *feed-back* delle informazioni tra gli operatori sanitari deputati alla gestione dell'inchiesta. Da qui è nata l'esigenza di redigere nuove Linee Guida che fornissero più supporti agli operatori, sia di tipo investigativo che tecnico e indicassero in modo puntuale le procedure per la gestione degli episodi. L'intervento in caso di malattia veicolata da alimenti è stato analizzato per fasi e sono state indicate le competenze e le funzioni dei singoli professionisti operanti nella gestione dell'episodio. Come spunto finale è stata consigliata l'applicazione di alcuni indicatori di *performance* per la valutazione del sistema, utilizzabili sia a livello regionale che dalle singole Aziende USL.

Per migliorarne l'implementazione e l'applicazione a livello locale le Linee Guida sono state diffuse nel territorio attraverso corsi di formazione aziendali, generalmente gestiti dal coordinamento regionale.

ATTIVITÀ E RISULTATI DEL CePiTSa: CENTRO PILOTA TIPIZZAZIONE SALMONELLA DELLA REGIONE CAMPANIA

Yolande T.R. Proroga

Dipartimento Ispezione degli Alimenti, Centro Pilota Tipizzazione Salmonella, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli

Con la DGRC n. 212 del 5 marzo 2010 “Attivazione del Sistema di Sorveglianza Enter-net” è stato individuato presso il Dipartimento di Ispezione degli Alimenti dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, il Centro Pilota per la Tipizzazione delle Salmonelle nella Regione Campania (CePiTSa), collegato funzionalmente con l'Area 20 “Assistenza Sanitaria” per la collaborazione alla rete di sorveglianza Enter-net attraverso il supporto al Laboratorio Regionale di Riferimento sopra citato. Grazie all'attività del CePiTSa, da due anni giungono alla Rete Internazionale di Sorveglianza per le infezioni Enteriche da *Salmonella* (Enter-net) i dati relativi all'isolamento di *Salmonella* avvenuti in alcuni presidi ospedalieri presenti in Campania: Ospedale San Leonardo (Gragnano), Azienda Ospedaliera di rilievo nazionale “Santobono Pausilipon” (Napoli), Azienda Ospedaliera di rilievo nazionale e di alta specializzazione “Monaldi” (Napoli), Azienda Ospedaliera “Cotugno” (Napoli), Ospedale “S. Maria delle Grazie” (Pozzuoli), Ospedale “S. Giuliano” (Giugliano), Ospedale “Ascalesi”, Ospedale di Frattamaggiore. La collaborazione tra gli Enti ospedalieri, i Servizi di Prevenzione delle AASSLL e il CePiTSa ha consentito di fornire informazioni circa gli isolamenti di patogeni enterici d'origine umana nel territorio regionale e di seguire la circolazione dei diversi sierotipi di *Salmonella*. L'istituzione del CePiTSa è correlata alla notifica tramite il sistema RASFF (Rapid Alert System Food and Feed) di alcune allerte alimentari sulla presenza di *Salmonella* nei prodotti orticoli coltivati nella Piana del Sele, già oggetto di discussione e approfondimento da parte del Gruppo di lavoro creato presso il Ministero della Salute-Dipartimento di Sicurezza alimentare. L'affermarsi di rapporti di cooperazione tra l'Istituto Superiore di Sanità (ISS), il Centro di Ricerca per l'Ortocoltura (CRAORT) e il CePiTSa ha consentito di elaborare in modo più completo le variazioni relative alla diversa circolazione dei sierotipi in base alle fonti di isolamento, evidenziando che i ceppi isolati presentano pulsotipi molto simili a quelli riscontrati nei casi di malattia trasmessa da alimenti nei paesi del Nord Europa, dove venivano esportati i prodotti IV gamma della Piana del Sele.

Conclusioni: Attualmente le attività del Centro Tipizzazione *Salmonella* risentono molto della debole partecipazione dei laboratori e delle strutture ospedaliere del nostro territorio per l'invio dei ceppi e delle schede Enter-net contenenti i dati necessari per la corretta identificazione dei ceppi e la loro collocazione in un quadro epidemiologico regionale. A tale proposito in collaborazione con la Regione Campania si sta cercando di ottimizzare le attività del Centro attraverso una capillare informazione delle strutture interessate e migliorando il sistema di raccolta ceppi.

Terza sessione
Sorveglianza e ambiente

SALMONELLA E AMBIENTE: DATI 2009-2011

Giuseppe Cirillo (a), Antonella Mangiavillano (b), Roberta Biserni (a), Ida Luzzi (c), Annamaria Manuppella (d), Marina Molina (e), Stefania Scuota (f), Monica Staffolani (g), Alberta Stenico (h), Gloria Bandettini (i), Stefano Pongolini (i)

(a) Agenzia Regionale Protezione Ambiente, ARPA Emilia-Romagna, Forlì

(b) Agenzia Regionale Protezione Ambiente, ARPA Piemonte, Torino

(c) Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore Sanità, Roma

(d) Agenzia Regionale Protezione Ambiente, ARPA Molise, Isernia

(e) Agenzia Regionale Protezione Ambiente, ARPA Liguria, Genova

(f) Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Umbrie e delle Marche, Perugia

(g) Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Umbrie e delle Marche, Macerata

(h) Agenzia Regionale Protezione Ambiente, ARPA, Bolzano

(i) Agenzia Regionale Protezione Ambiente, ARPA Veneto, Padova

(j) Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia-Romagna, Parma

La ricerca del genere *Salmonella* su matrici ambientali, attraverso un monitoraggio periodico, viene effettuata nei Laboratori di Microbiologia delle Agenzie Regionali di Prevenzione Ambientale (ARPA). Nelle matrici ambientali si assiste (a differenza delle matrici di derivazione clinica e veterinaria) a una marcata eterogeneità di specie. In Emilia-Romagna la sezione ARPA di Forlì ospita dal 1997 (e prima ancora come progetto Salmnet) il Centro di Riferimento Enter-net. In questi anni il Centro è riuscito ad avere come clienti la quasi totalità dei Laboratori di Microbiologia della Regione, questo rende molto attendibili e vicini alla realtà i dati che annualmente pubblichiamo in un *Report*. Dal 2011 poi il Centro è divenuto *partner* dell'IZS di Parma in un programma che prevede che i ceppi umani siano sottoposti sierotipizzazione e successiva elettroforesi in campo pulsato (PFGE) al fine di definirne il genotipo. Questo migliora la tracciabilità rispetto alla sola sierotipizzazione permettendo una più accurata identificazione dei focolai di MTA. Si è costituita poi una minirete dedicata solo ai dati di origine ambientale cui partecipano Piemonte, Liguria, Prov. Autonoma di Bolzano, Emilia-Romagna, Molise, Lazio, Veneto. Nel triennio 2009/2011, i Laboratori sopra indicati, hanno isolato e tipizzato 4.640 sierotipi di cui 2.687 ambientali, 1.870 umani. Dei 2.687 ceppi ambientali, circa il 75% proviene da acque superficiali, il 15% da acque di scarico, l'8% da fanghi e il 2% da altre fonti (*indoor*, ecc). Si può notare l'alta variabilità di specie che si verifica negli isolamenti da matrici ambientali con 168 sierotipi diversi anche se i Gruppi B/C/D/E/F sono i maggiormente rappresentati. I primi dieci sierotipi (circa il 55% contro l'84% dei *top-ten* umani) isolati da matrici ambientali sono *S. Typhimurium* (22,4%), Veneziana (20,3%), Derby (12,0%), Var. Monofasica (10,1%), Infantis (8,1%), Arizona (6,5%), Rissen (6,1%), London (5,7%), Enteritidis (4,4%), Hadar (3,4%). *S. Veneziana*, dopo *S. Typhimurium*, è ancora la specie di maggior isolamento nell'ambiente, anche se, per ora, non trova validi riscontri nell'uomo e negli alimenti. Interessante il costante isolamento anche da matrici ambientali della Var., Monofasica. Esiste, invece, una convergenza nei primi dieci sierotipi di 5/10 fra umani e ambientali. *S. Enteritidis*, isolata dal 12,3% delle infezioni umane, rappresenta solo il 4,5%

degli isolamenti ambientali. La variabilità di sierotipi ambientali testimonia la presenza di questo microorganismo in serbatoi naturali non costituiti soltanto da insediamenti agro-alimentari, ma anche da specie selvatiche. Se da una parte è noto che solo alcuni sierotipi parassitano uomo e animali diventando agenti di MTA non possiamo escludere che anche altri sierotipi possano causare MTA come accaduto in questi tre anni in Europa con le piccole epidemie, documentate dalla rete Enter-net, sostenute da *S. Goldcoast* e *S. Strachona*.

Prima sessione

**Malattie trasmesse da alimenti:
problematiche emergenti**

LA DIFFUSIONE DI *CAMPYLOBACTER* NEGLI ALIMENTI: DATI NAZIONALI ED EUROPEI

Elisabetta Di Giannatale, Gabriella Di Serafino, Ilenia Platone, Fabrizia Guidi, Lorena Sacchini
Istituto Zooprofilattico Sperimentale G. Caporale, Teramo

La campylobacteriosi è una zoonosi causata da batteri del genere *Campylobacter*, patogeno attualmente riconosciuto come il principale agente di gastroenterite nell'uomo. Nell'Unione Europea (UE), l'incidenza delle infezioni da *Campylobacter* termotolleranti risulta in costante aumento e, nell'ultimo quinquennio, il numero dei casi accertati ha superato quelli determinati dal genere *Salmonella*; nel 2010 sono stati notificati oltre 200.000 casi, con un aumento del 2,6% rispetto all'anno precedente. Nel nostro Paese non esistono dati ufficiali sulla reale incidenza dell'infezione e i dati disponibili per lo stesso quinquennio indicano una diminuzione dei casi. Diverse specie di *Campylobacter* possono ritrovarsi nel tratto gastrointestinale di animali selvatici, da allevamento o da compagnia, e generalmente, non causano malattia nei loro ospiti animali ma rappresentano il serbatoio d'infezione per l'uomo, con infezioni per lo più sporadiche, raramente endemiche. Le specie più frequentemente associate all'infezione umana sono *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*, *C. jejuni* nell'uomo è responsabile anche di forme extraintestinali alcune delle quali immunomediate o di forme neurologiche *post*-infettive come la sindrome di Guillain-Barré. Benché siano diversi gli alimenti che possono rivestire un ruolo importante nella trasmissione dell'infezione, nei paesi industrializzati, la trasmissione è legata al consumo di carni, soprattutto avicole, consumate crude o poco cotte e a fenomeni di cross-contaminazione durante la preparazione e manipolazione degli alimenti. Le carni rosse (manzo, agnello e maiale) hanno meno probabilità di essere contaminate. Questo ruolo primario, confermato dalla caratterizzazione molecolare dei ceppi isolati, conferisce alle carni avicole la responsabilità del 50-80% delle contaminazioni umane, anche se studi caso-controllo riducono questa percentuale al 30%. Studi condotti dal 2001 al 2007 in alcune regioni italiane, sulla prevalenza e livello di contaminazione delle carni avicole prelevate in esercizi commerciali della grande e piccola distribuzione, o alla fine del sezionamento, hanno presentato una contaminazione variabile dal 35,71% al 40,8%, confermando *C. jejuni* e *C. coli* le specie più diffuse. Nel 2008 la prima indagine italiana finalizzata a stimare la diffusione di *Campylobacter* nelle carcasse di pollo, ha rilevato una contaminazione del 46,3%. Nella carne fresca, nel biennio 2007-2009 dati ufficiali riportano per l'Italia una positività del 11,8%-16,9% contro una media EU dal 26% al 31%. È attualmente in corso uno studio per quantificare la contaminazione da *Campylobacter* nelle diverse fasi della macellazione avicola, e stabilire il peso di una ricontaminazione lungo la linea di macellazione mediante caratterizzazione molecolare degli isolati. L'elevata resistenza agli antimicrobici riscontrata confermano i dati della letteratura.

EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE DELLA *LISTERIA MONOCYTOGENES* NELL'UOMO E NEGLI ALIMENTI

Antonio Parisi

Istituto Zooprofilattico della Puglia e della Basilicata, Putigliano, Bari

Listeria monocytogenes è l'agente causale della listeriosi, una malattia sporadica che colpisce soprattutto alcune categorie di popolazione ad elevato rischio. L'interesse nei confronti di tale malattia è giustificato dall'elevato tasso di mortalità (20-30%), che rende la listeriosi una delle cause più frequenti di decessi connessi a malattie trasmesse da alimenti.

L. monocytogenes è largamente diffusa nell'ambiente e negli alimenti sia di origine animale che vegetale, anche se la fonte alimentare è ritenuta la principale via di contagio per l'uomo. Negli ultimi anni le tecniche di caratterizzazione genetica, in particolar modo quelle basate sull'analisi delle sequenze del DNA (MLST, MLVST), hanno consentito di acquisire importanti informazioni relative alla organizzazione della popolazione di *L. monocytogenes* identificando quattro distinte linee genetiche. Inoltre gli studi molecolari hanno permesso di osservare una diversa distribuzione dei profili genetici negli isolati clinici, alimentari ed ambientali.

Sebbene queste tecniche presentino indiscutibili vantaggi sia dal punto di vista informativo che dal punto di vista tecnico, hanno dei limiti legati alla complessità ed costo di esecuzione che ne limitano l'applicazione estensiva in campo.

Lo scopo di questo lavoro era effettuare uno studio epidemiologico mediante MLST su un pannello di oltre 800 isolati di origine clinica, alimentare ed ambientale, provenienti da diverse regioni Italiane, ed inoltre valutare la efficacia di un protocollo MLVA per lo studio dei focolai di infezione da *L. monocytogenes*.

La conoscenza dell'epidemiologia di *L. monocytogenes* è fondamentale per comprendere l'organizzazione della popolazione di questo microrganismo nonché l'attitudine di certi genotipi a dare malattia nell'uomo o a colonizzare determinate nicchie ecologiche. Inoltre l'adozione di sistemi di caratterizzazione molecolare consente di valutare la identità degli isolati nel corso dei focolai di tossinfezione. Negli ultimi anni sono stati individuati almeno tre "Cloni" cosiddetti Epidemici (EC) che si sono resi responsabili di casi umani in diversi Stati ed alcuni di essi sono stati caratterizzati mediante MLST: ECI - ST1; ECII - ST6; ECIII - ST11. I risultati di questa ricerca, come peraltro osservato in studi precedenti, confermano anche nel nostro Paese la diffusione di tali cloni che negli anni si sono resi responsabili di numerosi episodi di infezione. Sebbene MLST presenta il grande vantaggio, rispetto agli altri metodi molecolari, della estrema riproducibilità dei dati, in questo studio MLVA ha mostrato di essere estremamente economica e facilmente standardizzabile ed inoltre di fornire dati comparabili a quelli ottenuti con MLST, pertanto riteniamo che se MLST resta lo standard per la esecuzione di studi di epidemiologia globale, MLVA potrebbe rappresentare una ottima risorsa per la esecuzione di studi epidemiologici in corso di focolai di infezione.

INCIDENZA DI *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* NEGLI ALIMENTI E RISCHIO PER LA SALUTE

Vincenzo Pasquale (a), Vincenza Romano (a), Federico Capuano (b), Stefano Dumontet (a)
(a) Dipartimento di Scienze per l'Ambiente, Università degli Studi Parthenope, Napoli
(b) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli

Introduzione. *Clostridium difficile* è un batterio sporigeno anaerobico, storicamente considerato responsabile di gravi patologie intestinali (diarrea, colite pseudomembranosa, ecc.) conseguenti all'assunzione di antibiotici e/o a degenze in ambienti nosocomiali, soprattutto in soggetti anziani. Ceppi patogeni di *C. difficile* possono presentare profili tossigenici diversi in funzione dell'espressione dei geni *tcdA* (tossina A), *tcdB* (tossina B) e *cdtA* e *cdtB* (tossina binaria). Nell'ultimo decennio è stato riscontrato, oltre ad un incremento di forme più gravi della malattia, un aumento delle infezioni in soggetti giovani o senza storia di recenti terapie antibiotiche o ricoveri ospedalieri. Negli ultimi anni, il frequente isolamento di ceppi tossigenici da campioni di carne, pesce e prodotti vegetali, riportato dalla letteratura scientifica internazionale, ha indotto a considerare gli alimenti come una potenziale fonte di trasmissione di *C. difficile* all'uomo. Scopo del nostro studio è stato quello di valutare l'incidenza di *C. difficile* in campioni di molluschi bivalvi, di prodotti vegetali *ready to eat* e latte bovino.

Materiali e metodi. Nell'ambito della provincia di Napoli, sono stati raccolti 99 campioni di molluschi eduli lamellibranchi, 19 di prodotti vegetali della IV gamma e 133 di latte di massa. I campioni sono stati arricchiti in brodo selettivo in anaerobiosi. Dopo aver effettuato l'alcool-*shock*, aggiungendo 2 mL della brodocoltura a 2 mL di etanolo, il *pellet* raccolto è stato strisciato su terreno solido selettivo. Le colonie batteriche riferibili a *C. difficile*, sono state identificate e poi caratterizzate mediante tecniche molecolari.

Risultati. I molluschi bivalvi, con il 51% di positività, sono risultati i campioni più contaminati da *C. difficile*, mentre la positività per campioni di insalata *ready to eat* e di latte di massa è risultata essere del 16% e del 4%, rispettivamente. Complessivamente il 66% degli isolati è risultato tossigenico, possedendo i geni per l'espressione di almeno una delle tossine.

Conclusioni. Tra gli alimenti considerati, la frequente contaminazione dei molluschi eduli lamellibranchi e dei prodotti *ready to eat* solleva problemi di sanità pubblica. L'elevato consumo di molluschi bivalvi ed il continuo incremento del mercato dei prodotti *ready to eat* potrebbe, pertanto, costituire per l'uomo una potenziale fonte di esposizione a ceppi tossigenici di *C. difficile*. Inoltre, le spore di *C. difficile* sono in grado di resistere all'esposizione ad una temperatura di 71°C, temperatura minima di cottura degli alimenti consigliata da autorevoli agenzie governative internazionali. Ulteriori studi sono necessari per comprendere il ruolo degli alimenti nella trasmissione di *C. difficile* all'uomo.

IL VIRUS DELL'EPATITE E UN PATOGENO EMERGENTE: RUOLO DELLA FAUNA SELVATICA

Ugo Pagnini (a), Tiziana Zottola (b), Renato Ugo Condoleo (b), Giuseppe Iovane (a)
(a) *Dipartimento di Patologia e Sanità Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi, Napoli*
(b) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Latina*

Introduzione. L'epatite E è una delle principali cause di epatite virale acuta nei Paesi tropicali e subtropicali a causa di un piccolo virus RNA, il virus dell'epatite E (HEV). La capacità dimostrata di infezione *cross*-specie da parte di alcuni ceppi di animali di HEV suscita preoccupazione per la salute pubblica per il potenziale impatto di infezioni da ceppi di HEV zoonotici. I maiali sono un serbatoio riconosciuto per HEV, e allevatori di maiali presentano in elevato rischio di infezione. RNA di HEV di origine suina è stato individuato nel letame di origine suina, acque reflue e ostriche, e il consumo di molluschi contaminati è stato anche implicato in casi sporadici di epatite E. Pertanto, i ceppi animali di HEV rappresentano non solo un rischio di zoonosi, ma anche problemi di sicurezza alimentare e ambientale. Anche se, ceppi di HEV suina sono stati rilevati negli allevamenti di suini in molti paesi europei, solo poche informazioni attualmente disponibili circa la circolazione e la prevalenza di HEV in cinghiali in Italia. Questo animale selvatico può lasciare il suo habitat naturale per entrare in contatto con animali domestici. Per questo motivo, è una fonte potenziale di malattie infettive non solo per gli animali domestici e selvatici, ma anche per l'uomo.

Metodi. Nel corso di una indagine epidemiologica condotta in Regione Lazio, in collaborazione con IZS di Lazio e Toscana abbiamo indagato la presenza di HEV in una popolazione di cinghiali in Italia. La prevalenza di infezione da HEV è stata determinata in 228 cinghiali (*Sus scrofa*) campionati durante la stagione venatoria 2010-2011. Una indagine sierologica per rilevare anticorpi anti-HEV è stata eseguita utilizzando un test ELISA commerciale precedentemente convalidato per l'uso nel cinghiale. Inoltre, campioni di fegato sono stati raccolti, e RNA di HEV è stato rilevato mediante nested- RT-PCR, per un frammento di ORF2.

Risultati e conclusioni. La sieroprevalenza media nel gruppo degli animali studiati è stata del 64%. Quindici dei 35 campioni di cinghiale testati (42,8%) sono risultati positivi per RNA di HEV. I prodotti della PCR positivi, sono stati escissi dal gel di agarosio, purificati e la caratterizzazione genetica effettuata mediante sequenziamento e allineamento con sequenze precedentemente descritte in letteratura. Purtroppo, non è stato possibile sequenziare tutti i campioni a causa della bassa quantità di DNA in alcuni campioni. L'analisi filogenetica delle sequenze nucleotidiche da 6 prodotti di PCR positivi hanno indicato che tutti i ceppi appartenevano al genotipo 3.

IMPEGO DI FAGI LITICI NEL CONTROLLO DELLA SALMONELLOSI

Domenico Iannelli

Facoltà di Biotecnologie, Università degli Studi Federico II, Napoli

Introduzione. Le critiche più frequenti indirizzate alla terapia fagica sono: i fagi inducono anticorpi neutralizzanti (anticorpi che neutralizzano l'attività litica dei fagi contro i batteri); sono attivi solo quando somministrati poco tempo dopo l'infezione batterica; inducono la rapida comparsa di ceppi batterici fago-resistenti.

Metodi. Fagi litici per i diversi sierotipi di *Salmonella enterica* sono stati isolati per mezzo di protocolli standard da feci di pazienti affetti da gastroenterite. La crescita di *Salmonella enterica* serovar Paratyphi (Salp572 (Φ 1S)) è avvenuta in presenza del fago Φ 1 (scelto tra 8 fagi per il suo *host-range*). In questo modo è stato selezionato un ceppo fago-resistente (Salp572 (Φ 1R)). Le proprietà dei ceppi Salp572 (Φ 1S) e Salp572 (Φ 1R) e del fago Φ 1 sono stati studiati in un modello murino di infezione sperimentale.

Risultati. Dalle feci di pazienti con gastroenterite sono stati isolati diversi fagi litici contro la *Salmonella enterica* serovar Paratyphi B (Salp572). Dal ceppo sensibile al fago Φ 1 (Salp572 Φ 1S) è stato isolato un ceppo resistente allo stesso fago (Salp572 Φ 1R). Le proprietà dei due ceppi (sensibile e resistente) e del fago Φ 1 sono stati studiati in un modello sperimentale di terapia fagica contro la *Salmonella enterica* serovar Paratyphi. I fagi hanno indotto anticorpi non neutralizzanti; i fagi sono risultati attivi 2 settimane dopo l'infezione sperimentale dei topi; il ceppo fago-resistente Salp572 Φ 1R è risultato avirulento ed è stato rapidamente eradicato dal sistema immune dell'ospite. Risultato molto importante, diversi ceppi batterici fago-resistenti (isolati da ceppi diversi di *S. enterica*) sono risultati essere eccellenti vaccini, capaci di proteggere contro dosi letali di ceppi eterologhi di *S. enterica*. In conclusione, la fago terapia ha funzionato da farmaco (lisando i batteri) e da vaccino (inducendo nell'ospite anticorpi protettivi contro i batteri).

Conclusioni. Lo studio è un esempio di medicina darwiniana. Lo studio è la applicazione pratica di un concetto fondamentale della biologia dell'evoluzione: il costo della resistenza. Il batterio, per diventare resistente al fago, si libera degli zuccheri di superficie ai quali aderisce il fago. Il fago, legandosi a questi zuccheri, allenta la pressione selettiva sul batterio. Gli zuccheri di cui il batterio si è liberato sono però gli stessi che gli sarebbero serviti per aderire all'ospite (topo, uomo) e difendersi dal sistema immune. In conclusione, la resistenza al fago avviene per il batterio al costo della perdita della virulenza.

Comunicazioni orali e Poster

P1 SALMONELLA TYPHIMURIUM E VARIANTE MONOFASICA: PREVALENZA E DIAGNOSI DIFFERENZIALE CON METODO MOLECOLARE

Anna Archenti (a), Patrizia Biagiola (a), Roberta Casa (a), Gabriella Gentili (a), Debora Pasquali (a), Anna Maria Dionisi (b), Anna Guaita (c), Mirella Maria Pontello (c)

(a) *Laboratorio di Prevenzione, ASL, Milano*

(b) *Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore Sanità, Roma*

(c) *Dipartimento di Sanità Pubblica, Microbiologia, Virologia, Università degli Studi, Milano*

Introduzione. Nel giugno 2011 il Laboratorio di Prevenzione (LP) di Milano ha messo a punto e introdotto il protocollo utilizzato dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) per l'identificazione molecolare, mediante PCR, della variante monofasica (sierotipo 1,4,[5],12:i:-) di *Salmonella* Typhimurium, non facilmente discriminabile con le tradizionali tecniche di sierotipizzazione. Con il metodo molecolare è possibile amplificare un tratto del gene *fljB* che codifica per l'antigene H:2 presente nel sierotipo Typhimurium e assente nella variante monofasica. Lo scopo del lavoro è stato quello di applicare il metodo per confermare l'assenza del gene *fljB* e di valutare la distribuzione di questa siero-variente sul territorio di competenza, considerata la sua virulenza e l'ampio spettro di resistenza agli antibiotici.

Materiali e metodi. Nell'anno 2011 sono pervenuti al Laboratorio di Prevenzione 884 ceppi di *Salmonella* provenienti da 31 strutture comprese nel bacino di utenza di ASL Milano. I campioni di origine umana sono stati sierotipizzati mediante agglutinazione su vetrino utilizzando antisieri specifici, secondo lo schema Kauffman-White. I ceppi, identificati come presunte varianti monofasiche (1,4, [5], 12:i:-), sono stati analizzati con la tecnica PCR Multiplex, che utilizza due coppie di *primers*: InvA139 e InvA141, specifica per il gene InvA (284 bp), presente in tutti i ceppi di *Salmonella* e *fljB* -s e *fljB* -as specifica per il gene *fljB* (526 bp), presente nei ceppi difasici e non in quelli monofasici. È stato utilizzato un ceppo ATCC di *Salmonella* Typhimurium come controllo positivo e il prodotto amplificato è stato rilevato mediante elettroforesi su gel di agarosio.

Risultati. Degli 884 ceppi analizzati, 348 sono stati identificati con metodo sierologico come variante monofasica; di questi l'89% (311) si sono confermati tali, mediante PCR, mentre l'11% (37) sono risultati Typhimurium. È stata inoltre considerata la distribuzione geografica della variante monofasica; la frequenza maggiore è stata riscontrata nelle zone limitrofe a Nord di Milano, con 128 casi su 311, pari al 41%.

Conclusioni. I risultati hanno confermato la validità del metodo molecolare, che, in prospettiva futura, per rapidità e attendibilità di identificazione, dovrebbe affiancarsi sempre più alle tradizionali procedure sierologiche.

STUDIO SULLA PRESENZA DI SALMONELLA ENTERITIDIS E TYPHIMURIUM NEGLI ALLEVAMENTI DI GALLINE OVAIOLE DELLA CAMPANIA

Grazia Ascione (a), Anna Cerrone (a), Silvia Juliano (a), Lorella Barca (b), Eloise Peirce (c), Maria Rosaria Carullo (d), Loredana Baldi (b), Achille Guarino (a), Giorgio Galiero (a)

(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli

(b) Osservatorio Epidemiologico Veterinario Regione Campania, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli

(c) Osservatorio Regionale Sicurezza Alimentare, Regione Campania, Portici, Napoli

(d) Centro Pilota Tipizzazione Salmonella, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli

Introduzione. Le infezioni da *Salmonella* rappresentano in Italia una delle maggiori cause di malattia a trasmissione alimentare nell'uomo, le uova e gli ovo prodotti vengono considerati tra i maggiori responsabili di tali infezioni. Risulta quindi indispensabile il controllo di filiera per garantire la salubrità degli alimenti per l'uomo partendo proprio dalla produzione primaria. Il Regolamento (CE) 2160/2003 stabilisce che deve essere fissato un obiettivo comunitario di riduzione della prevalenza di infezione da *Salmonella* Enteritidis e Typhimurium. L'Italia si è posta l'obiettivo di una progressiva riduzione di tale prevalenza fino a valori al di sotto del 6%. Al fine di verificare il livello di diffusione di infezione in Regione Campania è stato condotto uno studio su allevamenti con più di 250 capi.

Metodi. Dal 2009 al 2011 sono stati analizzati 930 campioni provenienti da allevamenti di galline ovaiole ubicati in Regione Campania, i campioni erano costituiti da deiezioni e campioni ambientali, polvere e sovrascarpe. Più in particolare nel 2009 sono stati campionati 49 allevamenti, nel 2010 sono stati campionati 49 allevamenti e nel 2011 ne sono stati campionati 46. I campioni sono stati analizzati utilizzando il metodo ISO 6579:2008 (Metodo orizzontale per la ricerca di *Salmonella* spp.) e quelli positivi sono stati sottoposti a tipizzazione sierologica utilizzando lo schema di Kauffman-White e al test di sensibilità ai chemio antibiotici (tecnica di Kirby Bauer).

Risultati. Dalle analisi effettuate è emerso che:

- nel 2009 su 49 allevamenti saggiati 5 sono risultati positivi per *Salmonella* spp. di cui uno solo positivo per *S. Enteritidis* (2,04%);
- nel 2010 su 49 allevamenti saggiati 6 sono risultati positivi per *Salmonella* spp. ma tutti negativi per *S. Enteritidis* e Typhimurium;
- nel 2011 su 46 allevamenti saggiati 4 sono risultati positivi per *Salmonella* spp. di cui uno per *S. Enteritidis* e uno per *S. Typhimurium* (4,34%).

Conclusioni. I risultati del presente studio evidenziano che le indagini compiute negli allevamenti distribuiti sul territorio regionale sono fondamentali per aver un quadro epidemiologico certo delle infezioni da *Salmonella* spp. I ceppi isolati dal 2009 al 2011 hanno dimostrato che *Salmonella* spp. è un patogeno molto diffuso in questo tipo di allevamento ma che *S. Enteritidis* e Typhimurium si mantengono su livelli di prevalenza decisamente contenuti ed in linea con gli obiettivi che il dettato normativo nazionale impone.

CARATTERIZZAZIONE DEI CEPPI DI *S. TYPHIMURIUM* E VARIANTE MONOFASICA DI *S. TYPHIMURIUM* (*S. 4,[5],12:i:-*) DI ORIGINE VETERINARIA ISOLATI NEL TRIVENETO NEL PERIODO 2005-2010

Lisa Barco, Marzia Mancin, Cristina Saccardin, Elisa Marafin, Maria Cristina Dalla Pozza, Enzo Cortini, Marco Ruffa, Antonia Anna Lettini, Antonia Ricci
Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Padova

Introduzione. *S. 4,[5],12:i:-* è considerata una variante monofasica di *S. Typhimurium* (STM) per la somiglianza antigenica e genetica con *S. Typhimurium* (ST). Tale sierotipo, emergente negli ultimi anni, è associato ad un crescente numero di casi umani ed animali. L'obiettivo del presente lavoro è quello di indagare le caratteristiche epidemiologiche e fenotipiche dei ceppi di STM e ST isolati da campioni veterinari nel Triveneto negli ultimi anni.

Materiali e metodi. Nell'ambito dello studio è stato analizzato un dataset di 877 ceppi di *Salmonella* appartenenti ai sierotipi STM e ST, isolati nel periodo 2005-2010 dal Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi nel Nord-Est Italia. Il dataset includeva solamente il primo isolamento di un ceppo da una specifica origine e i successivi isolamenti dalla stessa origine solo nel caso in cui questi presentassero differenti caratteristiche fenotipiche. I ceppi sono stati sierotipizzati, quindi la conferma del sierotipo è stata eseguita mediante PCR che rileva la presenza o meno del gene *fljB*. Gli isolati sono stati quindi fagotipizzati ed è stato valutato il profilo di antibiotico-resistenza tramite antibiogramma.

Risultati. Degli 810 ceppi analizzati, 210 appartenevano al sierotipo STM e 667 a ST. Relativamente a quest'ultimo sierotipo il 49,9% dei ceppi è stato isolato da animali, mentre per STM la maggior parte degli isolamenti era di origine alimentare (43,3%). I ceppi di ST complessivamente sono stati isolati da più di 40 specie differenti, mentre gli isolati di STM erano riconducibili a meno di 10 specie. Per entrambi i sierotipi le principali specie di isolamento erano nell'ordine suino, pollo e bovino. Molto rappresentati anche gli isolamenti da uccelli, animali selvatici e da compagnia. La fagotipizzazione degli isolati di ST ha permesso di discriminare 45 diversi fagotipi, tra i quali i più frequenti erano nell'ordine DT104, U302, DT193, DT2, DT120 e DT 99. Sui ceppi di STM invece sono stati riscontrati 12 fagotipi e i più comuni risultavano essere U311, DT193, DT120, DT20a e DT7. Il profilo di resistenza prevalente identificato per entrambi i sierotipi era ASSuT, in particolare è stato identificato nel 11,3% e 55% degli isolati di ST e STM, rispettivamente.

Conclusione. L'analisi del dataset descritto nel presente lavoro ha permesso di evidenziare che sebbene ST e STM siano due sierotipi molto simili e strettamente correlati, il sierotipo STM risulta meno eterogenea rispetto a ST per quanto concerne le caratteristiche fenotipiche e particolarmente adattato a specifiche nicchie.

P2 ISOLAMENTO DI SALMONELLA KAPEMBA IN CARNE MACINATA BOVINA E SALSICCIA SUINA

Roberta Baldoni (a), Rosa Alfieri (b), Anna Farro (b), Alessandro Parlato (c), Sabatino Russo (a), Vincenzo Zinno (a), Danilo Mazzei (a), Ivana Costanzo (c), Antonino Parlato (b)

(a) *Area Sanità Pubblica Veterinaria, ASL NA 2 Nord, Napoli*

(b) *Area Dipartimentale di Epidemiologia e Prevenzione, ADEP, ASL NA 2 Nord, Napoli*

(c) *Medico Veterinario Libero Professionista, Napoli*

Introduzione. La salmonellosi è una delle principali malattie di origine alimentare ampiamente diffusa nel mondo. Le indagini epidemiologiche rispetto a tale microrganismo sono estremamente complesse per il gran numero di animali serbatoio e per le numerose, potenziali, fonti di infezione per l'uomo. È possibile, infatti, che venga facilmente rinvenuta anche da tamponi ambientali oltre che da campioni alimentari. Nel gennaio 2012 la segnalazione della Direzione Sanitaria del Presidio Ospedaliero di Pozzuoli (Na) relativa ad una gastroenterite da *Salmonella* gruppo D in un piccolo paziente (16 mesi) all'ADEP, determinava l'avvio dell'indagine epidemiologica dalla quale si evinceva che il soggetto aveva consumato pasti a base di carne presso una scuola materna. L'indagine epidemiologica poneva in evidenza, inoltre, che diversi bambini della scuola materna avevano presentato sintomi ascrivibili a salmonellosi. Quanto sopra determinava l'avvio delle indagini da parte del Servizio Veterinario e dell'ADEP della ASL Napoli 2 Nord.

Metodi. La procedura validata e condivisa dai servizi coinvolti ha previsto l'effettuazione di un'indagine epidemiologica condotta "al letto dell'ammalato" al fine di identificare il "fattore di esposizione" alla *Salmonella*. Tempestivamente, veniva attivata la prevista procedura operativa, di competenza veterinaria finalizzata alla individuazione della fonte di contaminazione, anche attraverso attività di campionamento degli alimenti rinvenuti nel locale di preparazione dei pasti di pertinenza della mensa scolastica e nel laboratorio della macelleria che aveva fornito la materia prima. Venivano inoltre testati gli operatori della mensa per evidenziare eventuale positività alla *Salmonella* a seguito di copro coltura.

Risultati. Le azioni esperite mettevano in evidenza, la presenza di *Salmonella* gruppo D in entrambi i casi consentendo così la presunta correlazione della contaminazione dell'alimento con la patologia manifestatasi nel paziente. Gli operatori della mensa risultavano negativi ai test per la ricerca di *Salmonella*. Di particolare rilevanza è la positività riscontrata, nel corso delle attività ispettive, dei campioni di carne macinata e salsiccia suina alla *Salmonella* Kapemba dimostrando pertanto, la contaminazione crociata degli alimenti determinata da attrezzature non correttamente sanificate in macelleria.

Conclusioni. La fonte di contaminazione primaria è certamente individuabile nella materia prima manipolata in macelleria, ma allo stato non è possibile effettuare correlazione certa tra il ceppo rinvenuto nell'alimento e quello che ha determinato la patologia nel bambino, in quanto non viene effettuata la sierotipizzazione a mezzo PCR dei ceppi rinvenuti sui materiali biologici umani, determinando un anello critico della catena epidemiologica.

P3 ASL DELLA PROVINCIA DI VARESE LABORATORIO MEDICO LA TIPIZZAZIONE DELLE SALMONELLE IN PROVINCIA DI VARESE. ATTIVITÀ E PROSPETTIVE DI MIGLIORAMENTO

Maria Luisa Bignamini (a), Davide Greco (a), Ivan Bonomi (a), Laura Bressan (a), Nicola Concione (b)

(a) *Laboratorio Medico, ASL, Varese*

(b) *Responsabile Laboratorio Medico, ASL, Varese*

Introduzione. La salmonellosi è una malattia diffusa in tutto il mondo responsabile della maggior parte degli episodi tossinfettivi legati all'alimentazione. In Italia è attivo Enter-net Italia Sistema di Sorveglianza delle Infezioni Enteriche coordinato dall'ISS. Attraverso il sistema vengono gestiti i dati provenienti dai laboratori periferici e inviati periodicamente al Sistema di Sorveglianza Europeo. L'elaborazione dei dati consente di monitorare eventuali incrementi ed anomalie dei sierotipi isolati.

Obiettivi. a) Stesura reportistica periodica a fini epidemiologici e programmatori tra Medicina Preventiva delle Comunità e Laboratorio Medico; b) Stesura reportistica periodica a fini epidemiologici e programmatori per la Regione Lombardia; c) Attività relative alla sorveglianza delle infezioni trasmesse da alimenti e acqua.

Metodi. Il modello organizzativo della sorveglianza Enter-net prevede l'invio degli stipiti batterici e della relativa scheda epidemiologica da parte dei laboratori al centro di riferimento regionale, il centro regionale ha il compito di completare le analisi microbiologiche (tipizzazione, PFGE, test di sensibilità agli antimicrobici) e cura le attività di analisi e *reporting* dei dati. In particolare, punti nevralgici per un buon funzionamento del sistema sono la capacità di sollecitare le strutture ospedaliere e i laboratori privati ad inviare i ceppi isolati al laboratorio ASL di riferimento per le successive analisi, e l'inserimento dei dati nel sistema informativo, così da disporre di elementi per una lettura approfondita del contesto epidemiologico

Risultati. Le tabelle riassumono l'attività del Laboratorio relativa alla sierotipizzazione di *Salmonella*, del biennio 2010-2011 i quattro sierotipi più frequenti sono: *S. Typhimurium*, *S. Typhimurium* variante monofasica, *S. Enteritidis* e *S. Napoli*. I dati di Varese sono in sintonia con quelli del resto della Lombardia e del territorio nazionale; tipica, del nostro territorio è la frequenza di isolamento di *S. Napoli*. Per quanto riguarda l'isolamento di *Campylobacter* i ceppi tutti isolati da coproculture sono stati identificati come *C. jejuni*

Conclusioni. Non possiamo non osservare che una quota di casi non arriva al laboratorio. Per ovviare alla criticità emersa ed alla disomogeneità della distribuzione per provenienza, soprattutto per i ceppi di *Campylobacter*, il Laboratorio ha nuovamente intrapreso un'opera di sensibilizzazione degli operatori del territorio. Solo coinvolgendo tali operatori e solo raggiungendo tempestività di comunicazione e di invio dei ceppi per la tipizzazione, è possibile tenere monitorata la situazione e permettere a chi elabora tutti i dati nazionali di avvertire eventuali situazioni di emergenza e variazioni nell'andamento degli isolamenti.

P4 SVILUPPO DI UN METODO MOLECOLARE PER LA CARATTERIZZAZIONE DEL VIRULOTIPO DI *SALMONELLA* TYPHIMURIUM

Giorgia Borriello, M. Gabriella Lucibelli, Amalia Gallo, Francesca Bove, Renata Iorio, Rosanna Borrelli, Rubina Paradiso, Giorgio Galiero, Achille Guarino
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli

Introduzione. Le infezioni indotte da *Salmonella* nel vitello bufalino sono caratterizzate dalla seria compromissione del tratto gastroenterico con diarrea e conseguente grave disidratazione, talvolta accompagnate da sintomatologia di tipo sistemico, con il coinvolgimento di articolazioni, polmoni e tessuto cerebrale. In Italia sono riportati isolamenti di varie *serovars*, ma nessun sierotipo di *Salmonella* sembra essere ospite-adattato al bufalo, anche se più frequentemente si riscontrano *S. Typhimurium* e *S. Muenster*. La patogenicità delle diverse *serovars* per la specie bufalina è molto variabile ed è influenzata dalla via di ingresso, dalla dose infettante, dalla naturale o acquisita resistenza dell'ospite e dalla eventuale compartecipazione di altri agenti eziologici. La gravità della malattia, inoltre potrebbe essere legata alla differente virulenza del sierotipo coinvolto. Lo scopo del presente lavoro è stato di caratterizzare a livello genotipico e molecolare diversi ceppi di *S. Typhimurium* isolati in corso di patologia enterica in vitelli bufalini.

Metodi. Lo studio è stato condotto nella Regione Campania su 191 vitelli bufalini entro il primo mese di vita, affetti da gastroenterite. Ceppi di *Salmonella* spp. sono stati isolati dalle feci mediante metodo microbiologico, e sierotipizzati secondo lo schema di Kaufmann-White. Gli isolati di *S. Typhimurium* sono stati fagotipizzati e genotipizzati mediante amplificazione PCR di 24 geni di virulenza. Tre differenti virulotipi di *S. Typhimurium* sono stati utilizzati per condurre delle infezioni miste nel topo.

Risultati. Dall'analisi dei campioni di feci sono stati isolati 62 ceppi di *Salmonella* tra cui 13 *Typhimurium*, 7 *Muenster* e 7 *Give*. La fagotipizzazione ha individuato 9 fagotipi diversi, mentre la tipizzazione molecolare ha identificato 9 virulotipi diversi. I risultati delle prove di infezione nel topo hanno indicato che il ceppo più virulento era diverso dagli altri per la presenza del gene *agfA*, codificante per un fattore di adesione fimbriale.

Conclusioni. Le caratterizzazioni molecolare e fenotipica degli isolati di *S. Typhimurium* hanno evidenziato che all'interno del sierotipo *Typhimurium* ci sono diversi patotipi, e il presente metodo molecolare ha mostrato di poter evidenziare diversi virulotipi. Studi futuri saranno necessari per verificare i virulotipi individuati con le diverse sintomatologie cliniche riscontrate, al fine di individuare specifici protocolli di profilassi per il controllo effettivo delle salmonellosi nel comparto zootecnico e diminuire il rischio di contaminazione della filiera agro-alimentare.

P5 CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE E FENOTIPICA DI CEPPI DI *ESCHERICHIA COLI* (ETEC, STEC E NTEC) ISOLATI DA VITELLI BUFALINI AFFETTI DA GASTROENTERITE

Giorgia Borriello, M. Gabriella Lucibelli, Clementina Auriemma, Flora Alfano, Luigi Luongo, Nunzia Riccone, Rita Nappi, Giorgio Galiero, Achille Guarino
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli

Introduzione. Le infezioni da *Escherichia coli* possono essere provocate sia nell'uomo che negli animali da diversi patotipi, principalmente ETEC, EHEC inclusi STEC, ed EPEC. Questi patotipi possono indurre una varietà di sintomi diversi, come diarrea, colite emorragica, infezioni extra-intestinali. I meccanismi patogenetici coinvolti nella malattia possono essere attribuiti a fattori di virulenza diversi, tra cui enterotossine, fattori di colonizzazione quali flagelli, fimbrie, capsule, lipopolisaccaride, emolisine e adesine. A questi si possono aggiungere ulteriori fattori quali il fattore citotossico necrotizzante (CNF), la tossina citoletale (CDT) e l'intimina. *E. coli* è tra i principali agenti patogeni dei vitelli bufalini entro il primo mese di vita, nei quali è responsabile di gastroenterite. Gli scopi di questo studio sono stati di valutare la presenza di ETEC, STEC e NTEC in vitelli bufalini affetti da gastroenterite e di caratterizzare i ceppi isolati per la presenza di fattori di virulenza e la resistenza antibiotica.

Metodi. Lo studio è stato condotto nella Regione Campania su 248 vitelli bufalini entro il primo mese di vita, affetti da gastroenterite. I ceppi di *E. coli* sono stati isolati/identificati dalle feci mediante metodo microbiologico/biochimico. Gli isolati sono stati poi caratterizzati per specifici fattori di virulenza mediante PCR. L'attività emolitica è stata valutata in seguito a crescita su agar sangue di montone. Tutti i ceppi sono stati caratterizzati per la suscettibilità a 11 antibiotici mediante la tecnica di Kirby-Bauer (CLSI).

Risultati. Dall'analisi dei campioni di feci sono stati isolati 188 ceppi di *E. coli* tra cui 4 (2%) ETEC, 13 (6%) STEC e 40 (21%) NTEC. Tre ceppi ETEC sono risultati LT-positivi, mentre uno stipite è risultato ST-positivo. Gli STEC sono risultati tutti STX e intimina-positivi, e sono stati classificati come AEEC. Tra questi, 5 hanno mostrato anche attività emolitica e sono stati classificati come EHEC. Tutti i NTEC sono risultati CNF-positivi e hanno esibito anche attività emolitica. I ceppi di *E. coli* sono stati infine caratterizzati per la resistenza a 11 antibiotici, e hanno mostrato resistenze elevate, particolarmente per AMC (90,7%), OT (84,1%) e AMP (82,2%).

Conclusioni. I risultati di questo studio hanno mostrato che *E. coli* è un patogeno importante del vitello bufalino, e forniscono un quadro chiaro della distribuzione dei diversi patotipi in questa specie animale. In particolare, i ceppi NTEC sono risultati quelli più diffusi nei vitelli bufalini affetti da gastroenterite, e l'ampio numero dei fattori di virulenza espressi evidenzia il loro elevato potere patogeno.

RISCHIO ENTEROBATTERI PER I VEGETALI CRUDI COMMERCIALIZZATI PRONTI PER IL CONSUMO

Vittorio Caponigro, Laura De Stefano, Mario Salzano
Centro di Ricerca per l'Orticoltura, CRA, Pontecagnano, Salerno

Caratteristiche microbiologiche. I prodotti alimentari costituiti da ortofrutta cruda preparata pronta per il consumo sono interessati da un microbiota residente e incidentale: il residente costituito da microrganismi ad habitat terricolo e acquatico (batteri Gram-negativi come pseudo monadi ed enterobatteri, Gram-positivi come lattici e sporigeni, funghi e lieviti); l'incidentale costituito da enterobatteri come *E. coli*, anche con ceppi patogeni per l'uomo, *Salmonella*, *Yersinia*, batteri patogeni ambientali come *Aeromonas* spp. e *Listeria monocytogenes*, virus (norwalk, epatite A, rotavirus) e protozoi (*Giardia*, *Cyclosporidium*).

Punti critici. La contaminazione con microrganismi patogeni incidentali è generalmente rara, ma può dar luogo a casi di infezione alimentare e può avvenire nelle fasi di coltura vegetale (produzione primaria), gestione pre-lavorazione del prodotto (raccolta e conservazione), trasformazione, distribuzione e consumo.

Ostacoli. Gli ostacoli antimicrobici applicati a questi prodotti consistono attualmente nella profilassi igienica a tutti gli stadi della filiera, il lavaggio (anche con soluzioni a bassa concentrazione di microbiciidi come cloro, perossidi, acidi organici), la refrigerazione. Nessuno di tali ostacoli è di provata efficacia, ma la profilassi igienica è relativamente più affidabile del lavaggio e della refrigerazione, quest'ultima anche difficile da applicare in modo integrale. Per le insalate, prodotti pronti per l'uso prevalenti, l'efficacia antimicrobica del lavaggio è modesta ed evanescente, perché appena scalfisce la popolazione microbica, protetta da biofilm, che recupera e supera i livelli pre-lavaggio durante la settimana di vita commerciale, anche a bassa temperatura. Ma il lavaggio con soluzioni antimicrobiche comporta anche un rischio di sconvolgere gli equilibri nella popolazione microbica a favore di patogeni.

Gestione del rischio. Un controllo basato sul monitoraggio dei prodotti nella fase di trasformazione è praticamente impossibile, per la dimensione del campionamento necessario a causa della grande eterogeneità della materia prima, dovuta a fattori che influiscono sulla condizione microbiologica come specie, varietà, tipo di suolo, qualità e tipo di mezzi e pratiche colturali, stagione di coltura, apprestamenti di protezione, modalità di raccolta, ecc. Gli interventi suscettibili di maggiore efficacia vanno orientati alla profilassi igienica della produzione primaria, in particolare assicurando una buona qualità microbiologica dei mezzi di produzione, come l'acqua (monitoraggio delle fonti, modalità di somministrazione a basso impatto sulla vegetazione epigea, esclusione di acque superficiali di origine incontrollata) e i fertilizzanti (monitoraggio di quelli organici o loro esclusione), e l'igiene delle operazioni (operatori, strumenti e macchine, procedure) e degli ambienti e mezzi di gestione delle raccolte.

OCCORRENZA DI SALMONELLA IN ACQUE DOLCI SUPERFICIALI E DI FALDA

Vittorio Caponigro (a), Laura De Stefano (a), Mario Salzano (a), Federico Capuano (b), Vincenzo Caligiuri (b), Yolande T.R. Proroga (b), Maria Rosaria Carullo (b)

(a) Centro di Ricerca per l'Orticoltura, CRA, Pontecagnano, Salerno

(b) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli

Introduzione. Il genere *Salmonella* comprende oltre 2.000 sierotipi, ma sono una quindicina quelli patogeni più frequenti tra gli isolati clinici. La diffusione dalle fonti primarie (escrezioni umane e animali) dipende da molti fattori, tra cui anche la capacità di sopravvivere nell'ambiente in assenza di ospiti, e presenze significative sono state rilevate anche in corpi d'acqua di vario tipo. Il sistema idrico del bacino del fiume Sele, con la presenza diffusa della produzione animale, e la rete fognaria che tarda a tenere il passo con l'espansione degli insediamenti umani, è potenzialmente esposto. Pertanto abbiamo cercato di verificare l'eventualità di presenze di *Salmonella* nelle acque superficiali e di falda usate per l'irrigazione a Nord del Sele, dove è minore la pressione dell'allevamento animale.

Metodi. Per un anno e mezzo circa abbiamo esaminato mensilmente campioni di acque superficiali (n. 236, da maggio 2010 a maggio 2011) e profonde (n. 153, da novembre 2010 a ottobre 2011), prelevate da una dozzina di stazioni per ciascun tipo, distribuite tra i comuni di Eboli, Battipaglia e Pontecagnano. I test di presenza sono stati eseguiti mediante PCR-RT (CFX96 BIORAD) con kit Euroclone. I ceppi isolati sono stati sierotipizzati mediante caratterizzazione degli antigeni somatici e flagellari utilizzando antisieri.

Risultati. Campioni di acque superficiali positivi per *Salmonella* sono stati rilevati con discreta frequenza nella seconda metà del 2010, interessanti un buon numero di stazioni per mese, mentre nel 2011 i rilevamenti positivi sono stati piuttosto sporadici, sia per le acque superficiali che per quelle profonde, e hanno interessato poche stazioni per mese. La probabilità di presenza di *Salmonella* è risultata dieci volte più alta per le acque superficiali, dove è aumentata sensibilmente con l'aumento della temperatura del periodo (una-due settimane) precedente il prelievo (da 0,16 a 0,8 nell'intervallo tra 7 e 26 °C), mentre è variata poco per quelle di falda (da 0,05 a 0,1 per lo stesso intervallo di temperatura). Con l'aumento della pioggia precedente la probabilità tendeva ad aumentare leggermente per le acque superficiali, a diminuire per quelle di falda. Relazioni piuttosto indicative, data la coincidenza soltanto parziale dei periodi di campionamento per i due tipi di acque. Non tutti gli isolati sono stati identificati: quelli prevalenti sono stati *S. Napoli* (16), *S. Typhimurium* (9) e *S. Manhattan* (7).

Conclusioni. La presenza di *Salmonella* nelle acque di falda è risultata sporadica e tuttavia inattesa. La variazione notevole da un anno all'altro della frequenza di positivi per le acque superficiali potrebbe essere dovuta anche all'intervento di fattori non considerati nel disegno dello studio.

P6 **SORVEGLIANZA DELLA DIARREA EMORRAGICA NELLA REGIONE LOMBARDIA, 2010-2011**

Alfredo Caprioli (a), Stefania Salardi (b), Sara Testa (b), Fabio Paglialonga (b), Rosaria Colombo (b), Maurizio Bigotti (c), Gaia Scavia (a), Fabio Minelli (a), Erminio Torresani (b), Gianluigi Ardissimo (b)

(a) *Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico, Fondazione Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, Milano*

(c) *Dipartimento di Patologia Sperimentale, Università degli Studi, Bologna*

Introduzione. Le infezioni da *Escherichia coli* produttori di verocitotossina (VTEC) si manifestano frequentemente con una diarrea emorragica (DE). Nei primi anni di vita, questa può evolvere in Sindrome Emolitico Uremica (SEU), una malattia di notevole gravità caratterizzata da insufficienza renale acuta. La SEU si manifesta generalmente 4-5 giorni dopo l'inizio della diarrea e questo periodo rappresenta una finestra in cui esercitare opzioni terapeutiche volte a prevenire o attenuare questa complicanza. Una rete di sorveglianza delle DE è stata istituita recentemente in Lombardia, una Regione con elevata incidenza di SEU. Gli obiettivi della sorveglianza erano: i) descrivere l'eziologia della DE nell'area di studio; ii) identificare precocemente i casi di infezione da VTEC a rischio di sviluppare SEU per prevenire o mitigare le possibili complicanze renali.

Metodi. Il sistema di sorveglianza è stato stabilito nel giugno 2010, con la partecipazione di 53 reparti ospedalieri pediatrici. La definizione di caso includeva pazienti in età pediatrica con diarrea e presenza di sangue franco nelle feci. Un campione fecale raccolto al momento dell'osservazione era sottoposto alla ricerca dei patogeni enterici con metodi colturali standard e a un esame rapido per la presenza di VTEC con un test immuno-cromatografico commerciale e con *Reverse Dot Blot analysis*. I campioni positivi ai test rapidi sono stati ulteriormente saggiati mediante *real-time* PCR per la presenza di geni *vtx*, *eae* e sierogruppo-specifici e quindi sottoposti all'isolamento del ceppo VTEC infettante.

Risultati. Alla fine del 2011 sono stati esaminati 465 casi di DE. Gli agenti patogeni identificati più frequentemente sono stati *Salmonella* (21%) e *Campylobacter* (13%). La presenza di VT e/o geni *vtx* è stata identificata in 23 casi (4,9%), 7 dei quali risultavano anche positivi per *Campylobacter* (4) o *Salmonella* (3). Nove casi erano positivi per VT1, 11 per VT2 e 4 per entrambe. Gli altri saggi hanno mostrato evidenza di infezioni con VTEC di sierogruppo O157, O26, O103. Nessuno dei casi aveva evidenza di infezione con VTEC O104:H4, associato nel 2011 a una grave epidemia in Germania e altri Paesi europei.

Conclusioni. La sorveglianza delle DE in Lombardia ha indicato che solo una percentuale limitata di casi (intorno al 5%) è associata a infezioni da VTEC. Questo risultato sembra confermare che l'incidenza delle infezioni da VTEC in Italia è relativamente bassa, se confrontata con quella riportata per altri Paesi dell'Europa

settentrionale e centrale. Questa indicazione è in buon accordo con i risultati della sorveglianza della SEU, in atto nel nostro Paese dal 1988.

Si ringrazia la collaborazione dei partecipanti alla rete di sorveglianza e il supporto del "PROGETTO ALICE ONLUS - Associazione per la lotta alla SEU".

ALLERTA EUROPEE E PRODOTTI DI ORIGINE VEGETALE: IL CASO SALMONELLA NAPOLI NELLA PIANA DEL SELE

Federico Capuano (a), Paola Picotto (b), Elisabetta Delibato (c), Simona Di Pasquale (c), Raffaello Lena (b), Marina Nadia Losio (d), Giancarlo Durante (e), Laura Mancini (c), Vittorio Caponigro (f), Anna Maria Dionisi (c), Maria De Giusti (g), Ida Luzzi (h), Dario De Medici (c), Silvio Borrello (b)

(a) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli*

(b) *Direzione della Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Ministero della Salute, Roma*

(c) *Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(d) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna, Brescia*

(e) *Dipartimento di Prevenzione, ASL, Salerno*

(f) *Centro di Ricerca per l'Orticoltura, CRA, Pontecagnano, Salerno*

(g) *Sezione di Igiene, Università di Roma Sapienza, Roma*

(h) *Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore Sanità, Roma*

L'aumento del consumo di vegetali freschi ha recentemente causato diversi focolai di tossinfezione dovuti alla contaminazione di questi prodotti da parte di microrganismi patogeni da ricondurre principalmente alle pratiche di coltivazione, manipolazione e lavorazione. Le fonti d'acqua contaminate, impiegate per irrigare le colture e lavare i raccolti prima del conferimento alla trasformazione, rappresentano uno dei principali fattori di rischio implicati in un grande numero di questi focolai.

Inoltre, in questi ultimi anni il sistema europeo di allerta RASFF, ha più volte richiamato l'attenzione dei Paesi membri riguardo al pericolo *Salmonella* nei prodotti vegetali, e diverse sono state le allerta comunitarie che hanno interessato vegetali coltivati in Italia. Nei periodi 2004-2005 e 2008-2009, tali allerta hanno riguardato principalmente la rucola prodotta in Campania e alcuni vegetali contaminati da *S. Napoli*, un sierotipo responsabile del 2-3% di casi di infezione nell'uomo e raramente isolato da animali da reddito.

Per rispondere alle allerta comunitarie, il Ministero della Salute ha costituito un gruppo di studio multidisciplinare per affrontare le problematiche relative alla contaminazione microbiologica dei prodotti vegetali. In particolare, l'attività del gruppo si è focalizzata sulla valutazione del rischio associato al consumo di vegetali freschi e sulla definizione di strategie di prevenzione e protezione da rischi correlati a pericoli microbiologici veicolati dai vegetali di I e IV gamma.

Per definire il rischio correlato alla presenza di *S. Napoli* nei vegetali coltivati nella Piana del Sele è stato effettuato un monitoraggio su campioni di acqua irrigua e campioni vegetali di I gamma che sono stati analizzati sia con metodiche colturali sia di *real-time* PCR. I ceppi isolati sono stati sottoposti a tipizzazione fenotipica e genotipica attraverso elettroforesi in campo pulsato (PFGE).

Da questo monitoraggio è stato possibile riscontrare presenza di *Salmonella* in 58 su 238 (24,36%) campioni di acqua irrigua di cui il 25% è rappresentato da *Salmonella* Napoli. L'associazione dei casi umani con il consumo di rucola esportata dall'Italia è stata dimostrata dalle indagini di epidemiologia molecolare mediante PFGE.

P7 YERSINIA ENTEROCOLITICA: INDAGINE DI PREVALENZA IN SUINI DA RIPRODUZIONE

Maria Elena Careddu (a), Leda Olivetto (a), Annarita Ribero (a), Stefania Fontanarosa (a), Cinzia Bianchi (a), Lucia Decastelli (b), Francesca Rubinetti (c), Nicoletta Vitale (c)
(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Cuneo
(b) S.C. Controllo Alimenti, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino
(c) Osservatorio Epidemiologico Regionale, Torino

Negli ultimi decenni l'importanza di *Y. enterocolitica*, quale agente di tossinfezioni alimentari, è in costante aumento. La principale fonte d'infezione per l'uomo è rappresentata dall'ingestione di alimenti di origine animale, in particolare da carne suina cruda o poco cotta. Per stimare la prevalenza di *Yersinia enterocolitica* nel comparto suino è stato condotto uno studio *cross sectional* su un campione casuale di 66 aziende suinicole da riproduzione della provincia di Cuneo. In ogni allevamento sono stati prelevati 10 campioni, ognuno costituito da *pool* di feci, provenienti da box o sale parto o recinti in cui stabulavano almeno 10 animali. I campioni sono stati sottoposti ad analisi nella stessa giornata del campionamento, partendo da pesate di 25 grammi. L'isolamento della *Yersinia* ha utilizzato i seguenti terreni: *Yersinia* PSB broth (PSB), *Yersinia selective agar* (CIN), *Mac Conkey agar* (MCK), Agar Sangue (AS). La procedura prevedeva un arricchimento con PSB, una incubazione a $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ per 21 giorni, ogni 7 gg (3 semine) seminavamo le brodoculture su CIN agar: dopo il 7° giorno da inizio arricchimento prelevavamo i campioni incubati a freddo e li condizionavamo a T ambiente, seminavamo su CIN agar, poi incubato a $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ per 24 ore, riponendo le brodoculture in frigorifero fino alla semina successiva. Se vi era crescita sospetta prelevavamo con ansa sterile la colonia batterica ed eseguivamo il test dell'ureasi da agar sangue sulle colonie sospette (*Yersinia* spp. ureasi +) e si procedeva con identificazione biochimica con galleria API 20E. I ceppi sospetti venivano inviati poi alla S.C. Controllo alimenti di Torino per la PCR dove sono stati ottimizzati due protocolli in PCR *end point* per la determinazione dei geni responsabili della patogenicità: una *simplex* per la ricerca del gene *ail* e una *multiplex* per la ricerca dei geni *inv* e *yst*.

Su 66 aziende 37 (56,1%; 43,3-68,3%) sono risultate positive per *Yersinia* spp.; sul totale campioni (660) i positivi erano 78. Solo 32 ceppi su 78 isolati sono risultati essere *Y. enterocolitica* e di questi solo 9 (in 6 aziende-9,09%; 3,4-18,7%) avevano caratteristiche di patogenicità per l'uomo (O:3). È importante quindi che le metodiche di ricerca del patogeno consentano di differenziare i ceppi patogeni. La reazione a catena della polimerasi (PCR), che potrebbe costituire un metodo utile per lo *screening* preliminare di *Y. enterocolitica* patogena nei campioni animali, alimentari e ambientali, deve essere affiancata ad un metodo microbiologico. Il passaggio di arricchimento prima della PCR è essenziale per aumentare la sensibilità e per diminuire il rischio di falsi positivi a causa dell'individuazione di cellule morte (come suggerito dal Monitoring and identification of human enteropathogenic *Yersinia* spp., Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards (Question No EFSA-Q-2007-037) adopted by the BIOHAZ Panel on 6 December 2007).

P8 TOSSINFEZIONE ALIMENTARE AD EZIOLOGIA MULTIPLA DA CONSUMO DI MOLLUSCHI EDULI BIVALVI (*CRASSOSTREA GIGAS* E *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*)

Francesco Casalnuovo (a), Anna Scognamiglio (a), Paola Rippa (a), Achille Guarino (b)

(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Catanzaro

(b) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli

Introduzione. L'azione contemporanea di più agenti patogeni responsabili di Tossinfezioni Alimentari (TA), può dare origine ad un episodio caratterizzato da un decorso e da una sintomatologia atipica e diversificata, come accaduto in seguito all'ingestione di pesce crudo contaminato. L'indagine epidemiologica rivela di un gruppo di 5 adulti e di 2 ragazzi minorenni che hanno consumato molluschi bivalvi crudi, ed in particolare 3 adulti hanno consumato ostriche concave (*Crassostrea gigas*) e cozze (*Mytilus galloprovincialis*), mentre il resto del gruppo ha consumato solo i mitili. Le ostriche, pescate nell'oceano atlantico nord-orientale ed i mitili, prodotti in Italia, erano commercializzati dalla stessa azienda ittica. L'anamnesi rileva che a distanza di circa 36 ore dalla consumazione del pasto, l'intero gruppo ha accusato disturbi generali e gastrointestinali, variabili per entità e durata tra i singoli soggetti coinvolti. In particolare, i 3 soggetti che avevano consumato le ostriche accusarono febbre alta e forti disturbi gastrointestinali (nausea, vomito, diarrea, crampi addominali, spossatezza), mentre i soggetti che avevano ingerito solo mitili, presentarono solo gli stessi sintomi gastrointestinali più attenuati, mentre era assente la febbre. Nessuno dei soggetti colpiti si rivolse a presidi sanitari né si sottopose a indagini di laboratorio, ma solo ad un trattamento antibatterico probabilmente prescritto dal medico di famiglia. I disturbi si sono protratti per oltre una settimana, mantenendo l'aspetto multiforme della sintomatologia e della gravità. L'episodio venne invece segnalato ai Servizi Veterinari dell'Azienda Sanitaria competente, che provvide a sottoporre ad accertamenti di laboratorio i prodotti ittici sospettati.

Metodi. Campioni di ostriche e di mitili prelevati dalle partite sospettate, furono sottoposti a prove microbiologiche presso il laboratorio Alimenti della Sezione Zooprofilattica di Catanzaro, mediante metodi normati ed accreditati per *Salmonella* spp., *Vibrio* spp., *E. coli*, *Shigella* spp., *Staphylococcus* spp., coliformi totali.

Risultati. Le ostriche risultarono contaminate da *Salmonella* Typhimurium (B:4,12:i:1,2) ed *E. coli* (330 MPN/100gr), mentre dalle cozze vennero isolati *E. coli* (50 MPN/100gr) e *Vibrio alginolyticus*. È emersa quindi una molteplice e significativa presenza di agenti microbici notoriamente in grado di provocare singolarmente episodi più o meno gravi di disturbi gastrointestinali.

Conclusioni. È nota la capacità di *Salmonella* Typhimurium ed *E. coli* di determinare TA, così come anche la capacità di *Vibrio alginolyticus* di causare disturbi gastrointestinali oltre ad infezioni cutanee. La contemporanea presenza e l'azione sinergica di questi agenti patogeni negli alimenti, potrebbe di fatto aver amplificato e diversificato il quadro sintomatologico ed il decorso dell'episodio tossinfettivo a carico dei singoli pazienti. Inoltre confermata la scarsa propensione alla notifica ufficiale degli episodi di TA.

P9 IL CINGHIALE COME SERBATOIO DI PATOGENI ENTERICI

Francesco Casalnuovo (a), Giuseppe Lucifora (a), Natalino De Gori (b), Nicola Parisi (b), Caterina Rivero (a), Nicodemo Macri (a)

(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Catanzaro

(b) Servizio Veterinario, Azienda Sanitaria Provinciale, Catanzaro

Introduzione. Il cinghiale è serbatoio noto di virus, batteri e parassiti trasmissibili agli animali domestici e all'uomo. Recenti indagini hanno ipotizzato il collegamento tra cinghiali selvatici e focolai di tossinfezione alimentare da VTEC. Ripopolamento, legislazione venatoria restrittiva e istituzione di parchi naturali negli ultimi trent'anni hanno favorito l'incremento della popolazione di cinghiali in gran parte delle zone boschive e montuose italiane. Questi si avvicinano alle periferie urbane e devastano pascoli e coltivazioni, aumentando, quindi, le possibilità di contatto con animali domestici e uomo. In alcuni casi sono stati predisposti piani di abbattimento selettivo per depopolare parchi e aree agricole.

Obiettivo. Indagare l'eventuale ruolo biologico di questa specie nei confronti di patogeni enterici a rischio zoonosico. Nell'ambito dei piani di depopolamento organizzati nella provincia di Catanzaro è stata favorita la raccolta attiva di reperti d'organo da soggetti cacciati.

Metodi. I campioni sono stati raccolti nel periodo settembre-dicembre 2010 e luglio-settembre 2011, in un territorio di tipo collinare e montuoso; l'uso del suolo è agricolo (ortaggi, vigneti, nocciolati, cereali) e boschivo. Sono stati acquisiti i principali dati del soggetto e la zona di cattura. Le feci di 56 individui, direttamente prelevate dal retto, sono state sottoposte a prove batteriologiche per *Salmonella* spp., *Yersinia* spp., *E. coli* O157 e *Campylobacter* spp. Le prove microbiologiche sono state eseguite secondo: ISO 6579:2008 per *Salmonella*, ISO 10273:2006 per *Yersinia*, ISO 10272:2006 per *Campylobacter* e ISO 16654:2003 per *E. coli* O157. Isolati di *Salmonella* sono stati identificati sierologicamente; colonie di *E. coli* sono state identificate come O157 con test di agglutinazione al lattice (Oxoid) e confermate tramite PCR.

Risultati. I soggetti repertati sono stati catturati in zone coltivate (60% dei casi); sono di sesso femminile (63%) e oltre l'anno di età (55%). Le prove per *Campylobacter* e *Yersinia* sono risultate negative. Il 7% (4/56) dei campioni è risultato positivo per *Salmonella*. I ceppi sono stati identificati come *S. Veneziana* (F:11:i:enx) e *S. enterica subsp. salamae* (T:42:z:1,5). I soggetti provengono da due battute di caccia: due femmine, di tre e quattro anni, cacciate in zona boschiva; due femmine, di uno e quattro anni, raccolte in zona coltivata. L'1,7% (1/56) dei campioni è stato identificato come VTEC O157 e riscontrato positivo per VT2-EAE.

Conclusioni. I dati ottenuti, in linea con i risultati di analoghi lavori, confermano il ruolo del cinghiale come possibile serbatoio di patogeni enterici. I risultati incoraggiano a proseguire nell'attenzione posta a questo selvatico, affinando la collaborazione tra i diversi enti interessati.

INDAGINI ED INTERVENTI A SEGUITO DI TOSSINFEZIONE ALIMENTARE DA *SALMONELLA* *ENTERICA* 4,[5],12:i:- IN ATTIVITÀ AGRITURISTICA

Mariagrazia Cella (a), Maria Rosaria Ferone (a), Tiziana Del Pio Luogo (a), Lisa Barco (b), Denis Vio (c), Fulvio Zorzut (a), Maurizio Cocevari (a), Gabriella Conedera (c)

(a) *Igiene Alimenti e Nutrizione SIAN, Servizio Veterinario, Dipartimento di Prevenzione Igiene e Sanità Pubblica, ASS I Triestina, Trieste*

(b) *Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Padova*

(c) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, SCT4 Friuli Venezia Giulia, Pordenone*

Introduzione. *Salmonella enterica* 4,[5],12:i:- o “variante monofasica di *S. Typhimurium*” ha acquisito crescente importanza negli ultimi anni, riconoscendo il suino e i prodotti derivati come principali fonti d’infezione umana. Rappresenta a livello europeo uno dei *serovar* più frequenti collocandosi nel 2010 al 4° posto nell’uomo, 3° nelle carni suine e 2° nel suino (Report EFSA-ECDC 2012). Viene qui descritto un vasto episodio tossinfettivo verificatosi nel 2010 in un agriturismo tipico della provincia di Trieste “osmizza”, durante pochi giorni di apertura.

Metodi. Dopo il primo ricovero ospedaliero (30 marzo 2010), sono stati notificati al Dipartimento di Prevenzione numerosi casi di persone che avevano consumato pasti nello stesso agriturismo e manifestato sintomatologia gastro-enterica (vomito, diarrea, febbre). Tutte le coproculture eseguite, 70 da 153 casi sintomatici, e 9 da familiari e addetti dell’agriturismo, sono risultate positive per *S. 4,[5],12:i:-*. Nel corso dei sopralluoghi effettuati da Servizio Veterinario e SIAN, sono stati prelevati alimenti e campioni fecali dagli animali presenti (pollame, suini), per analisi microbiologiche presso l’IZS; i ceppi di *Salmonella* spp. isolati sono stati sottoposti a sierotipizzazione e ulteriori caratterizzazioni.

Risultati. *S. 4,[5],12:i:-* è stata isolata da feci di suini (12/19), pollina, alimenti di produzione propria quali insaccati freschi, salumi stagionati, carni e prodotti suini congelati (9/14). Sono risultati negativi uova e alimenti acquistati esternamente. Anche 6/7 operatori sono risultati escretori di *S. 4,[5],12:i:-*. Tutti gli isolati da alimenti e animali e i quattro ceppi di origine umana tipizzati presentavano fagotipo DT193 e profilo di antibiotico-resistenza ASSuT. La PFGE effettuata su 23 ceppi (8 da alimenti, 10 da suini, 1 da pollina, 4 da persone coinvolte) ha evidenziato lo stesso pulsotipo STMXB.0131, fatta eccezione per 4 ceppi (3 suini, 1 da cotechino) che presentavano un profilo differenziatesi per una banda aggiuntiva.

Conclusioni. Le indagini epidemiologiche ed i risultati analitici suggeriscono la contaminazione sia della materia prima che del prodotto finito, riscontrandosi positività in alimenti (in profondità negli insaccati e in superficie in altri salumi), animali (elevata prevalenza nei suini) e operatori. I sopralluoghi hanno evidenziato alcune criticità strutturali, gestionali e nelle pratiche di lavorazione. Sono scaturite varie attività, a tutela del consumatore e per la sicurezza delle produzioni locali, tra cui un progetto che prevede

verifica di strutture e buone prassi di lavorazione, formazione degli operatori, monitoraggio microbiologico di prodotti e ambiente. I risultati ottenuti nel 2011 evidenziano l'efficacia di tali azioni, l'aumentata consapevolezza degli operatori, lo stretto raccordo tra Servizio Veterinario e IZS.

QUALITÀ MICROBIOLOGICA DI PRODOTTI LATTIERO CASEARI DI BUFALA: UN ANNO D'INDAGINE

Germana Colarusso (a), Alfonso Giannoni (b), Loredana Baldi (c), Vincenzo Caligiuri (c), Donatella Nava (c), Roberta Pellicanò (a), Salvatore Capo (c), Immacolata La Tela (c), Achille Guarino (c)

(a) *Osservatorio Regionale Sicurezza Alimentare, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli*

(b) *Settore Veterinario, Assessorato alla Sanità della Regione Campania, Napoli*

(c) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli*

Introduzione. Diversi sono i Piani di monitoraggio che in Campania consentono un controllo continuo della qualità del latte e della mozzarella di bufala ed in particolare la Legge Regionale 3/2005 per la tutela della bufala mediterranea. Tale legge prevede nell'art. 2 l'attuazione di controlli morfologici chimico-fisici e microbiologici, sui prodotti derivati dal latte di bufala durante le fasi di produzione o commercializzazione, prevedendo anche sanzioni aggiuntive a quelle già previste in ambito nazionale per le frodi in commercio.

Metodi. Nell'anno 2010 per il Piano suddetto sono stati effettuati 4.385 analisi microbiologiche per la determinazione sia di parametri di sicurezza alimentare che d'igiene di processo (Reg. CE 2073/05) così ripartite: 658 analisi per *E. coli*, 378 analisi per *E. coli* O157, 668 analisi per Stafilococchi coagulasi positivi, 569 analisi per enterotossine stafilococciche, 658 analisi per *Listeria monocytogenes*, 502 analisi per *Campylobacter* ed 952 analisi per *Salmonella*. I campioni, prelevati nel corso dell'intero anno da parte del Servizio Veterinario delle AASSLL, sono rappresentati per il 90% da mozzarella di bufala (DOP e non), 8% da mozzarella mista, 1% ricotta di bufala, 0,05% prodotti vari (ricotta mista, yogurt). I campioni sono stati raccolti sia in fase di produzione (96%) dove sono stati controllati 389 caseifici in fase di commercializzazione (4%) con prelievi che hanno coinvolto 578 strutture sull'intero territorio regionale. Le analisi sono state effettuate con metodiche ISO.

Risultati. Si sono registrate 34 non conformità, pari al 1% del totale delle analisi microbiologiche considerate. Nello specifico le non conformità microbiologiche inerenti i criteri di sicurezza alimentare hanno riguardato la presenza di *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* entrambe riscontrate su mozzarella mista. Il maggior numero di irregolarità ha riguardato la presenza di *E. coli* in aumento rispetto alle rilevazioni degli anni precedenti. Sono interessate dalle non conformità matrici differenti prelevate solo in fase di produzione. Le non conformità sono state gestite attraverso il riconrollo periodico che hanno costantemente dato esito conforme.

Conclusioni. La percentuale di non conformità rispetto al numero di ricerche specifiche appare ridotta: pertanto il rischio microbiologico per i prodotti considerati è basso. Si evidenzia una certa carenza sull'igiene di processo che suggerisce una necessaria revisione dei piani di autocontrollo aziendali da parte dell'Operatore *in primis* ma anche da parte dell'autorità competente chiamata a valutare l'efficacia e l'appropriatezza del piano di autocontrollo aziendale.

P10 YERSINIA ENTEROCOLITICA PATOGENA NEI VEGETALI: VALUTAZIONE DELLA SOPRAVVIVENZA E DELLA PERSISTENZA AI PROCESSI DI SANIFICAZIONE MEDIANTE *REAL-TIME* PCR

Elisabetta Delibato (a), Paola Sinibaldi Vallebona (b), Fabrizio Anniballi (a), Emma Filetici (a), Ida Luzzi (a), Marina Nadia Losio (c), Dario De Medici (a)

(a) *Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Università degli Studi Tor Vergata, Roma*

(c) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna, Brescia*

Negli ultimi anni *Yersinia enterocolitica* ha acquistato sempre maggiore importanza quale agente di tossinfezioni alimentari. Infatti si è registrato un aumento nell'incidenza di tale patogeno in diversi Paesi europei, probabilmente, non solo in relazione alla crescente diffusione dell'allevamento intensivo ed ai sistemi di produzione ad esso correlati, ma anche dovuta al consumo di alimenti di origine vegetale sottovalutati fino ad oggi, come probabili veicoli. Il metodo colturale di riferimento, per la ricerca di tale patogeno, richiede più di 7 giorni, ed è quindi necessario sviluppare nuovi metodi sensibili e rapidi per la sua determinazione. A tale scopo, nel presente lavoro, durante una prima fase, è stato ottimizzato e validato, in accordo alla ISO 16140, un metodo di *real-time* PCR per la determinazione della *Yersinia enterocolitica* patogena nei vegetali. Dai risultati della validazione le performance analitiche del metodo hanno evidenziato il 100% di selettività, specificità relativa, sensibilità relativa e accuratezza relativa.

Quindi, tale metodica è stata utilizzata per valutare la sopravvivenza, alla temperatura di refrigerazione, di *Yersinia enterocolitica* nei vegetali durante la *shelf-life* del prodotto, e per verificare l'efficacia dei processi di sanificazione in ambito domestico e durante la fase di lavorazione della IV gamma. Dall'osservazione delle curve di amplificazione, ottenute utilizzando la *real-time* PCR, attestanti la positività di tutte le aliquote contaminate e conservate alla temperatura di refrigerazione, si evince che il patogeno sopravvive e cresce fino al 6° giorno dopo la contaminazione. I risultati ottenuti durante la fase di valutazione della resistenza ai differenti processi di sanificazione, mostrano in tutti i campioni trattati, la presenza di cellule vitali e resistenti ai vari processi di sanificazione, con una riduzione parziale della carica del patogeno nelle concentrazioni più basse quando trattati con 220 ppm di ipoclorito di sodio per 15 minuti.

Dai risultati ottenuti, durante la prima fase, si evidenzia che l'utilizzo della *real-time* PCR riveste un ruolo fondamentale nel controllo microbiologico dei prodotti vegetali di I e IV gamma, in quanto è in grado di fornire i risultati nell'arco delle 24 ore, consentendo così, sia nell'ambito del controllo ufficiale che nell'autocontrollo, di prendere decisioni tempestive riguardanti il rilascio di lotti di prodotto o la possibilità del loro ritiro dal commercio.

Inoltre, alla luce dei *challenge test* effettuati, scaturisce l'importanza dell'applicazione delle BPA e del sistema HACCP anche nella produzione primaria, al fine di poter garantire un adeguato controllo delle materie prime e dell'acqua di irrigazione, per ridurre/eliminare eventuali pericoli biologici ed ottenere il pieno raggiungimento degli obiettivi di sicurezza alimentare.

SIMULAZIONE E GESTIONE DI EVENTI DI INQUINAMENTO MARINO: IL PROBLEMA DELLA MITICOLTURA IN CAMPANIA

Diana Di Luccio (a), Stefania Cavallo (b), Paolo Sarnelli (c), Antonio Ricchi (a), Eloise Peirce (b), Rosa D'Ambrosio (b), Loredana Baldi (d), Achille Guarino (d)

(a) Università degli Studi Parthenope, Napoli

(b) Osservatorio Regionale Sicurezza Alimentare, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli

(c) Regione Campania, Napoli

(d) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli

La qualità delle acque marino-costiere rappresenta senz'altro il grado di compatibilità ambientale delle molteplici attività che si svolgono sul territorio. Insediamenti urbani, impianti industriali, agricoltura e zootecnica, fenomeni meteorologici e sfruttamento del territorio producono effetti che, singolarmente o insieme, possono sconvolgere gli ecosistemi acquatici. Data l'elevata variabilità delle fonti di inquinamento situate lungo la costa della Campania (scarichi di troppo pieno, condotte fognarie sottomarine, foci dei fiumi, ecc.), è necessario, al fine di garantire la sicurezza alimentare, effettuare un monitoraggio continuo delle acque, e prevedere il blocco immediato della raccolta mitili qualora, sostanze potenzialmente tossiche emesse da sorgenti puntuali possano, in tempi più o meno brevi, raggiungere le zone di allevamento e favorire, in relazione ai tempi di contatto mitile-inquinante, fenomeni di bioaccumulo negli organismi filtratori, che possono tradursi in problematiche di tipo igienico-sanitario derivanti dalla vendita e dal consumo di prodotto potenzialmente inquinato.

È proprio da questa esigenza che nasce la collaborazione tra l'Assessorato alla Sanità della Regione Campania - AGC 20 Sett.Veterinario, il Dipartimento di Scienze Applicate dell'Università degli Studi di Napoli Parthenope e l'ORSA (Osservatorio Regionale Sicurezza Alimentare) per lo sviluppo di un sistema modellistico accoppiato atmosfera-mare-dispersione degli inquinanti, basato su tecnologie di calcolo distribuito ad alte prestazioni e dotato di un'interfaccia web avanzata.

Il fine ultimo del progetto è un prodotto di semplice utilizzo dedicato agli operatori del settore pianificazione, gestione e mantenimento di impianti per la miticoltura, in cui, più modelli numerici contribuiscono, integrati tra loro a prevedere l'evoluzione dei fenomeni diffusivi di particelle lagrangiane in mare, in relazione al regime correntometrico ed alle condizioni meteorologiche.

I forzanti atmosferici necessari, sono generati con l'ausilio del modello numerico *Weather Research and Forecasting* (WRF), per le condizioni iniziali ed al contorno si è fatto riferimento ai dati prodotti in seno al progetto europeo MyOCEAN.

Il *Regional Oceanic Modelling System* (ROMS) è il modello numerico sfruttato per la comprensione delle dinamiche di bacino e dei fenomeni che influenzano la dispersione degli inquinanti in mare.

Diverse componenti *software* sono state sviluppate per ottenere una catena modellistica funzionante in maniera operativa con il minimo intervento da parte dei gestori dell'infrastruttura. Il prodotto sviluppato è in grado di prevedere l'evoluzione della concentrazione in mare di una determinata specie di inquinante e, attraverso un sistema ad accesso ubiquitario basato su di una interfaccia web è possibile impostare condizioni di attenzione o allarme relative all'interazione degli inquinanti con le aree di produzione.

P11 **SORVEGLIANZA INTEGRATA DELLE SALMONELLOSI IN ITALIA: LE RETI ENTER-NET ED ENTER-VET**

Anna Maria Dionisi (a), Lisa Barco (b), Claudia Lucarelli (a), Marzia Mancin (b), Ildo Benedetti (a), Antonia Anna Lettini (b), Sergio Arena (a), Slawomir Owczarek (a), Emma Filetici (a), Antonia Ricci (b), Ida Luzzi (a)

(a) *Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore Sanità, Roma*

(b) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Padova*

Introduzione. *Salmonella* spp. rappresenta un importante agente zoonotico con un notevole impatto economico per la sanità pubblica sia nel campo umano che veterinario. Ogni anno vengono riportati alle reti di sorveglianza per i patogeni enterici, Enter-net ed Enter-vet, più di 5.000 casi di infezione da *Salmonella* nell'uomo e più di 4.000 isolamenti in ambito veterinario. In questo lavoro riportiamo la distribuzione dei principali sierotipi di *Salmonella* in campo umano e veterinario dal 2007 al 2010 con particolare attenzione ai ceppi multiresistenti agli antibiotici.

Metodi. I ceppi di *Salmonella* inviati dai centri di riferimento sono stati caratterizzati mediante antibiogramma, fagotipizzazione ed Elettroforesi in Campo Pulsato (PFGE).

Risultati. In Italia *S. Typhimurium* (ST) rappresenta il sierotipo più frequentemente isolato nelle infezioni umane seguito, fino al 2008, da *S. Enteritidis* e dalla variante monofasica della *S. Typhimurium* (STM); quest'ultima dal 2009 si attesta al secondo posto e nel 2010 ha rappresentato il 20% di tutti i sierotipi isolati. Più del 50% dei ceppi di ST isolati da casi umani mostra resistenza all'ampicillina, streptomina, sulfonamide e tetraciclina (R-type ASSuT), mentre i ceppi resistenti anche al cloramfenicolo (R-type ACSSuT) sono diminuiti rappresentando l'11,3% nel 2010. Tra gli isolati di STM la prevalenza dei ceppi con R-type ASSuT ha raggiunto l'87%. Per quanto riguarda gli isolati veterinari, fino al 2009 ST rappresentava il sierotipo più comune, seguito da STM; nel 2010 si è verificata la situazione opposta e STM è divenuto il primo sierotipo. Per quanto riguarda l'antibiotico resistenza nel 2010 il 60,2% e l'88,2% dei ceppi di ST e STM sono risultati multiresistenti. In particolare più del 70,5% degli isolati veterinari di STM mostravano un *pattern* di resistenza ASSuT. Lo stesso profilo di resistenza era comune anche tra gli isolati di ST (16,1% nel 2010), ma per quest'ultimo il *pattern* di resistenza ACSSuT rimane il più frequente (21,4% nel 2010). I risultati della fagotipizzazione e della PFGE mostrano che tra i ceppi multiresistenti di ST circolano differenti cloni sia in campo umano che veterinario mentre i ceppi di STM con *pattern* di resistenza ASSuT sembrano avere caratteristiche clonali: più del 60% degli isolati appartengono al fagotipo DT193 e U311 mentre i profili di restrizione prevalenti sono STYMXB.0079 e STYMXB.0131.

Conclusioni. La rete integrata di sorveglianza per i patogeni enterici rappresenta un importante strumento per lo studio epidemiologico delle infezioni da *Salmonella*. I dati epidemiologici e di tipizzazione fenotipica e molecolare degli isolati umani e veterinari forniscono informazioni necessarie per individuare i fattori di rischio nelle infezioni umane.

INDAGINE SULLA PRESENZA DI BATTERI ENTEROPATOGENI IN COLOMBI URBANI NELLA REGIONE CAMPANIA

Ludovico Dipineto (a), Antonio Gargiulo (a), Tamara Pasqualina Russo (a), Rita Schettini (a), Karina Mallardo (a), Mariarosaria Calabria (a), Ugo Pagnini (a), Vincenzo Caputo (b), Alessandro Fioretti (a)

(a) *Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi Federico II, Napoli*

(b) *Centro di Riferimento Regionale per l'Igiene Urbana Veterinaria, CRIUV, Regione Campania, Napoli*

Introduzione. I colombi (*Columba livia*) sono ampiamente distribuiti nelle aree urbane di molte città italiane ove vivono a stretto contatto con l'uomo. Oltre ad essere responsabili di danni architettonici, i colombi sono considerati importanti vettori di diversi batteri, virus, funghi e protozoi, molti dei quali patogeni anche per l'uomo. Lo scopo della presente indagine è stato quello di valutare la prevalenza di *Campylobacter* spp., *E. coli* O157, *Salmonella* spp. e dei geni (*cdt*, *stx*, *eae*) codificanti i relativi fattori di virulenza in popolazioni di colombi nell'area costiera della Regione Campania.

Metodi. Sono stati esaminati 900 colombi nelle 60 municipalità dell'area costiera analizzata (*i.e.* province di Napoli, Caserta, Salerno). In ogni municipalità si esaminavano 15 colombi e su ciascuno dei quali veniva effettuato un tampone cloacale. I volatili venivano catturati sia in municipalità coinvolte dall'emergenza rifiuti (n=23) e sia in quelle non coinvolte da tale emergenza (n=37), analizzando rispettivamente 345 e 555 colombi. Per valutare la stagionalità dei batteri indagati, il periodo di campionamento veniva diviso in periodo caldo (primavera/estate) e periodo freddo (autunno/inverno) in cui venivano esaminati 450 colombi/periodo. I campioni venivano sottoposti ad esami colturali, PCR e sierotipizzazione.

Risultati. *Campylobacter* spp. (identificati come *C. jejuni*), *E. coli* O157 e *Salmonella* spp. (sierotipizzate come *S. Typhimurium*) mostravano rispettivamente una prevalenza del 48,3% (435/900), 7,8% (70/900) e 0,9% (8/900). Tutti gli isolati di *C. jejuni* veicolavano i geni *cdt* e tutti gli isolati di *E. coli* O157 veicolavano i geni *stx* con il 14,3% che (10/70) veicolava anche il gene *eae*. I colombi analizzati nelle municipalità coinvolte dall'emergenza rifiuti e nel periodo caldo mostravano una prevalenza significativamente più alta di quelli esaminati nelle municipalità senza emergenza rifiuti e nel periodo freddo, rispettivamente.

Conclusioni. I risultati della presente indagine evidenziano che i colombi urbani dell'area costiera della Regione Campania possono costituire un *reservoir* dei patogeni indagati rappresentando, quindi, una fonte di infezione per altri volatili, per gli animali da reddito e per l'uomo.

RICERCA DI LARVE DI ANISAKIDI NELLE PREPARAZIONI GASTRONOMICHE CONTENENTI PRODOTTI DELLA PESCA DESTINATI AD ESSERE CONSUMATI CRUDI O PRATICAMENTE CRUDI MEDIANTE METODO DIGESTIVO E SUA APPLICABILITÀ NEL CONTROLLO UFFICIALE

Pasquale Fraulo (a), Carmelo Morena (a), Antonella Costa (b), Achille Guarino (a)
(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Salerno
(b) Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo

Introduzione. L'EFSA con parere scientifico ha dichiarato che tutti i pesci di acqua di mare e dolce possono contenere larve di parassiti potenzialmente pericolosi per la salute umana, se consumati crudi o poco cotti. Inoltre, nessuna area adibita alla pesca può ritenersi esente da anisakidi. A tale proposito, la normativa nazionale e comunitaria, già da tempo, ha introdotto l'obbligo della bonifica mediante freddo. Il riscontro di larve di parassiti vive, in prodotti ittici destinati ad essere consumati crudi o quasi crudi, rivela la mancata o non efficace applicazione dell'obbligo di bonifica, potendo configurare l'ipotesi di reato ai sensi della legislazione vigente. Appare necessario, pertanto, che il sistema di controllo ufficiale disponga di una metodica analitica idonea, ossia dotata di elevata sensibilità, ripetibilità, rapidità e facilità di esecuzione ed in grado di rilevare la presenza anche di una sola larva di parassita nei prodotti esaminati (salati, marinati, affumicati o semplicemente preparati) e di distinguere la presenza di larve vive dalle larve morte.

Metodi. È stata messa a punto una metodica analitica basata sulla digestione artificiale in soluzione cloro-peptica, mantenuta sotto agitazione a 44-46°C per circa 30 minuti. Le larve presenti nella soluzione digerita sono state evidenziate con l'osservazione visiva del sedimento raccolto in piastre di Petri. La identificazione morfologica delle larve è stata condotta microscopicamente previa chiarificazione con Lattofenolo di Amman.

Risultati. Sono state condotte circa 250 prove di cui 120 per la validazione del metodo. Quest'ultimo è stato sperimentato su prodotti ittici freschi, salati e marinati compresi molluschi cefalopodi. Tutte le larve introdotte artificialmente nelle diverse matrici sono state rilevate dal metodo, che ha riportato elevati livelli di *performance* (sensibilità: 100%, specificità 100%, ripetibilità: 100%). È stato necessario aumentare i tempi di digestione a circa 45-60 minuti per i molluschi cefalopodi. Tutte le larve vive introdotte artificialmente nei campioni sono state recuperate ancora vive e vitali. Il metodo ha superato la verifica di accreditamento dell'organismo ufficiale.

Conclusioni. La metodica oggetto di studio è risultata particolarmente indicata per l'impiego in ambito di controllo ufficiale. L'elevata sensibilità e la capacità di non interferire sulla vitalità delle larve, la rende particolarmente idonea per rivelare il mancato rispetto dell'obbligo di bonifica delle materie prime. Durante le prove sperimentali su campioni di campo è stata accertata la idoneità del metodo per la ricerca di larve vive di *Anisakis* spp. e di altri anisakidi, tra cui il genere *Contracaecum* sp. più piccolo e delicato degli altri.

SALMONELLOSI IN AMBIENTE DOMESTICO: INDAGINE EPIDEMIOLOGICA

Silvia Gallina (a,b), Alberto Bellio (a), Simona Zoppi (c), Valeria D'Errico (c), Maria Paola Ferrero (d), Lorenzo Rocca (e), Maria Corvonato (a,b), Daniela Manila Bianchi (a), Lucia Decastelli (a)

(a) S.C. *Controllo Alimenti e Igiene delle Produzioni, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino*

(b) *Centro Riferimento per la Tipizzazione di Salmonella in Piemonte, Torino*

(c) S.C. *Diagnostica Generale, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino*

(d) *Ospedale Koelliker, Torino*

(e) *Servizio Veterinario, ASL TO1, Torino*

Introduzione. I rettili sono considerati *reservoir* di *Salmonella* spp. e possono essere responsabili di infezione nell'uomo. Numerosi casi di salmonellosi in bambini sono stati ricondotti alla presenza di acquari contenenti tartarughe d'acqua dolce presso le loro abitazioni.

Metodi. Nel mese di ottobre 2011 veniva isolato presso l'Ospedale Koelliker (Torino), dalle feci di una bambina con sintomatologia gastroenterica, un ceppo di *Salmonella* spp. Presso l'abitazione della paziente erano presenti una tartaruga d'acqua dolce ed un criceto. La presenza di *Salmonella* spp. nelle feci della bambina ha attivato il sistema di sorveglianza delle malattie enteriche come previsto dal DPR 320/54. È stato così coinvolto il Servizio Veterinario (Area A) dell'ASL TO1 che ha provveduto ad eseguire i campionamenti presso l'abitazione, prelevando campioni di feci (criceto) e di acqua dall'acquario (tartaruga); i campioni sono stati inviati all'IZS del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, contestualmente al ceppo isolato dalle feci umane. I proprietari dell'animale hanno deciso di sopprimere la tartaruga; la carcassa è stata consegnata all'IZS PLV per l'esecuzione della necropsia e delle indagini microbiologiche. I campioni di organi/feci e di acqua sono stati processati per la ricerca di *Salmonella* spp. rispettivamente secondo la ISO 6579:2002 Amd 1:2007 e la ISO 6579:2002. Tutti i ceppi isolati sono stati saggiati per l'identificazione del sierogruppo (schema di KauffmanWhite - Le Minor) e con PCR *End-Point* per discriminare *S. Typhimurium* dalla sua variante monofasica 1,4,[5],12:i:-. Inoltre, i ceppi sono stati sottoposti a *Pulsed Field Gel Electrophoresis* (PFGE).

Risultati. Le feci di criceto sono risultate negative. Il campione di acqua è risultato positivo per *Salmonella* spp. mentre le matrici biologiche (intestino, fegato) prelevate dalla tartaruga soppressa hanno dato esito negativo. I ceppi isolati dalla paziente e dall'acqua sono risultati entrambi variante monofasica 1,4,[5],12:i:- di *S. Typhimurium*. I due ceppi, inoltre, presentavano omologia del 100% mediante PFGE.

Conclusioni. La negatività delle matrici biologiche prelevate dalla tartaruga può essere spiegata dalla presenza di una bassa carica batterica viscerale. L'utilizzo integrato di metodi di microbiologia tradizionale, biomolecolare e sierologici ha confermato la presenza di un unico ceppo di *Salmonella* all'interno dell'abitazione. La PFGE è risultata fondamentale per correlare geneticamente i due ceppi di *Salmonella*. Nel caso riportato viene confermata l'importanza della collaborazione, in ambito sanitario, tra figure professionali diverse, al fine di condurre una corretta indagine epidemiologica.

INFEZIONI EXTRAINTESTINALI DA ENTEROBACTERIACEAE

Maria Gargiulo, Rosa Scognamiglio, Angela Bari, Carlo Schettino, Maria Rosaria Veneri
UOS Microbiologia, P.O. San Leonardo, Plesso di Gragnano, Asl Na3 Sud, Napoli

Gli enterobatteri sono ampiamente diffusi nell'ambiente e l'intestino dell'uomo ne rappresenta il loro reservoir. Occasionalmente possono provocare infezioni in diversi organi, con manifestazioni cliniche variabili da lievi a molto gravi. Le infezioni con sede intestinale sono frequentemente causate da *Salmonella* e *Shigella*. Le altre enterobacteriaceae possono causare anche gravi infezioni extraintestinali quali ascessi, meningiti, setticemie, infezioni delle ferite chirurgiche, polmoniti e infezioni urinarie. In particolare l'*Escherichia coli* è responsabile di gran parte delle infezioni urinarie, può colonizzare le vie urinarie per via ascendente o raramente per passaggio diretto per mezzo di fistole vescico-enteriche. L'*Escherichia coli* mostra una elevata frequenza di isolamento anche in altri materiali quali essudati vaginali, uretrali e liquidi seminali. *Klebsiella* spp (*Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella oxytoca*) insieme ad *Enterobacter* e *Serratia*, sono spesso isolati soprattutto dai materiali respiratori di pazienti immunodepressi del reparto rianimazione. *Proteus mirabilis*, al pari di *Escherichia coli*, può determinare infezioni delle vie urinarie, specie in ambito comunitario, ed è causa anche di infezioni addominali e sovrainfezioni di ferite ed ustioni. *Escherichia coli* e *Klebsiella* sono una causa importante di batteriemia che si verifica spesso senza un'evidente via di accesso. Di particolare interesse clinico risultano le enterobacteriaceae produttori di ESBL, (*Extended-Spectrum Beta-Lactamase*), enzimi mediati da plasmidi che derivano da mutazioni delle beta-lattamasi, enzimi normalmente prodotti dai gram-negativi.

Metodi. Ciascun campione viene seminato su terreni di coltura selettivi e non per enterobatteri; si incuba per 24 ore a 37°C. Dall'isolamento delle colonie pure si procede all'identificazione biochimica del germe con relativo antibiogramma, mediante il sistema semi-automatico VITEK 2 COMPACT collegato con il Vigi@ct (bioMérieux), con interfacciamento bidirezionale al sistema gestionale Diamante di Informatica Medica.

Risultati. Nell'anno 2011 sono stati isolati, da materiali di diversa provenienza clinica, 1.245 germi, di cui il 49,8% risultano essere enterobatteri. Tra le urinocolture prevale *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, rispettivamente 66,1% e 21,9%; di cui 39,5% sono produttori di ESBL. Nei materiali respiratori prevale la *Klebsiella pneumoniae* con il 63,9% di cui il 56,3% sono produttori di ESBL.

Conclusione. Le enterobacteriaceae sono causa di infezioni spesso molto gravi. L'importanza degli studi epidemiologici è il contributo al raggiungimento di una corretta gestione diagnostico-terapeutica. Bisogna monitorare e bloccare la diffusione di enterobatteri ESBL-produttori. Essendo tali germi selezionati dall'uso estensivo di antibiotici quali cefalosporine a spettro allargato, è necessario un corretto uso antibiotico.

P12 L'APPROCCIO UFFICIALE NELLA VALUTAZIONE DELLA SICUREZZA MICROBIOLOGICA DEL SALMONE AFFUMICATO

Laura Gasperetti, Matteo Senese, Carla Milioni, Ilaria Fabbri, Francesca Campeis, Alessia D'Alonzo, Roberto Fischetti

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Roma

Introduzione. Il salmone affumicato, per le sue caratteristiche fisico-chimiche (aw e pH), è considerato, secondo il Regolamento 2073/2005, un alimento favorevole alla crescita di *Listeria monocytogenes*, che peraltro risulta spesso presente in questo prodotto. Tuttavia il produttore può dimostrare che la presenza del patogeno debba essere misurata con un metodo meno sensibile (Allegato II, art.3 par. 2 del suddetto regolamento). Negli esempi che riportiamo nel presente lavoro si evidenzia la complessità del problema ed in particolare come non sia sufficiente un solo sistema di valutazione.

Metodi. Si riportano tre casi, relativi a campioni effettuati nell'ambito del controllo ufficiale, affrontati nel Laboratorio Alimenti della Sezione di Pisa dell'IZS Lazio e Toscana: uno su prodotto nazionale e due su prodotti non nazionali (prodotti dalla stessa ditta). È stata valutata la stabilità microbiologica dell'alimento misurando pH e aw, quindi la proliferazione di *L. monocytogenes* con metodi sia qualitativi che quantitativi (conteggio in piastra e MPN, più sensibile). Il laboratorio, su richiesta della ASL, ha effettuato la valutazione della documentazione presentata dal produttore, integrando i risultati ottenuti con la microbiologia predittiva per il tempo residuo di *shelf-life* nelle condizioni peggiori e con i dati forniti dalla ditta. Nel terzo caso sono stati esaminati 5 unità campionarie al momento del campionamento e 4 alla scadenza.

Risultati. Nel primo caso, la predizione ha fornito un livello finale di 3,16 ufc/g ampiamente inferiore alle 100 ufc/g. Nel secondo caso, campione UVAC, la documentazione della ditta riportava alla scadenza, come da sperimentazione effettuata, un valore inferiore a 10 ufc/g. I nostri risultati, ottenuti a 36 giorni dalla scadenza fornivano valori inferiori a 100 ufc/g, ma alcuni superiori a 10 ufc/g; la predizione ha fornito a fine *shelf-life* valori molto superiori al limite previsto. Nel terzo caso il campione ha superato i limiti sia al momento del prelievo che alla scadenza.

Conclusioni. Il controllo ufficiale sul primo campione ha confermato quanto dichiarato dalla ditta produttrice. Il campione del secondo caso è risultato non regolamentare per aver superato i limiti indicati nella documentazione presentata. Il terzo caso sembra attestare che la sperimentazione effettuata dalla ditta non corrisponde all'effettiva evoluzione del patogeno nel prodotto.

P13 CEPPI CLINICI DI *LISTERIA MONOCYTOGENES*: SIEROTIPI ISOLATI IN ITALIA DAL 2000 AL 2010

Antonietta Gattuso (a), Mirella Maria Pontello (b), Michele Sonnessa (a), Anna Guaita (b),
Giuliana Sala (b), Micaela Cipolla (b), Monica Virginia Gianfranceschi (a)

(a) Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore
di Sanità, Roma

(b) Dipartimento di Sanità Pubblica, Microbiologia, Virologia, Università degli Studi,
Milano

Listeria monocytogenes è un importante patogeno, a trasmissione prevalentemente alimentare, in grado di causare gravi malattie nell'uomo. In Europa, la listeriosi invasiva, nonostante la sua bassa incidenza (0,4 casi per 100.000 abitanti), è un'infezione di forte impatto per la sanità pubblica a causa della gravità delle manifestazioni cliniche (tassi di ospedalizzazione > 90%) e dell'alta percentuale di mortalità (20%-30%). Il sistema di notifica nazionale, obbligatorio dal 1993, prevede la raccolta di pochi dati epidemiologici (sesso, età e distribuzione regionale dei casi), e non comprende l'invio di isolati clinici a un laboratorio centrale per la caratterizzazione. Oltre al sistema di notifica nazionale, in Italia esiste anche un sistema volontario di laboratorio, basato su una sorveglianza finalizzata alla caratterizzazione sierologica e molecolare di ceppi di *L. monocytogenes* clinici. Tale sorveglianza è stata inserita, dal 2009, nel sistema Enter-net Italia, collegato alla rete europea Enter-net, incorporata nel sistema di sorveglianza europeo per le *Food and Waterborne Disease* (FWD), coordinato dall'ECDC.

L'obiettivo di questo lavoro è quello di richiamare l'attenzione su questa importante e atipica malattia di origine alimentare, riportando dati epidemiologici e distribuzione geografica dei sierotipi di 251 ceppi clinici di *L. monocytogenes*, raccolti, dal 2000 al 2010, dal Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare dell'Istituto Superiore di Sanità, focalizzando l'attenzione sull'andamento epidemiologico della listeriosi invasiva in Lombardia.

La caratterizzazione sierologica degli isolati clinici di *L. monocytogenes* è stata eseguita mediante Multiplex PCR e siero-agglutinazione. I sierotipi identificati nel 92% dei casi sono stati 1/2a, 4b, 1/2b; un dato interessante è stato il riscontro di alcuni sierotipi non comuni (1/2c, 3a, 3b, 4d). Si è anche notato un cambiamento nella distribuzione dei sierotipi nel tempo e nello spazio, con un aumento di casi associati al sierotipo 1/2a e una diminuzione dei casi associati al sierotipo 4b. Questo cambiamento, riportato anche da altri paesi europei, sembrerebbe associato ad un aumento dei casi di setticemia.

Otto casi di listeriosi sono stati associati a sierotipi non comuni (3a, 3b e 4d), di cui due casi perinatali. Nessun caso collegato a questi sierotipi rari è stato riportato in Europa o in altri Paesi extra-europei, con l'unica eccezione per il sierotipo 3a, associato ad alcuni episodi in Finlandia.

Ulteriori analisi saranno necessarie per spiegare l'emergenza di questi sierotipi non comuni, compresa la verifica delle categorie alimentari in cui sono presenti tali sierotipi, e l'analisi genetica dei ceppi per accertare un probabile cambiamento nella virulenza.

P14 **COMPORAMENTO DEL CAMPYLOBACTER JEJUNI NEL LATTE CRUDO IN CONDIZIONI PLAUSIBILI DI CONSERVAZIONE ED USO**

Elisa Gerolimetto, Veronica Cibir, Maria Cristina Dalla Pozza, Paola Zavagnin, Anna Roccato, Federica Barrucci, Antonia Ricci

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Padova

Introduzione. Lo sviluppo di modelli quantitativi di valutazione del rischio microbiologico (QMRA) è condizionato dalla disponibilità di dati che descrivano il livello di contaminazione del microrganismo oggetto di indagine nelle diverse fasi della filiera, inclusa la fase del consumatore. Scopo dello studio è stato quello di acquisire dati quali-quantitativi sul comportamento di *Campylobacter jejuni* in latte crudo attraverso prove di cucina sperimentale, riproducendo modalità di conservazione e consumo plausibili a livello domestico, allo scopo di implementare un modello QMRA.

Metodi. Il latte crudo, acquistato presso un distributore automatico e trasportato a temperatura di refrigerazione, è stato contaminato artificialmente con *C. jejuni* a due livelli di concentrazione: 102 e 103 ufc/ml. Sono state eseguite le seguenti prove: 1) *prove di conservazione* a 12°C, 8°C, 4°C per 24, 48 e 72 ore per valutare l'effetto della temperatura sulla concentrazione di *C. jejuni* in rapporto alla carica mesofila, secondo alcuni autori responsabile di inibire la crescita del patogeno. 2) *Prove di bollitura/riscaldamento*: una porzione (175 ml) di latte crudo contaminata con 103 ufc/ml di *C. jejuni*, è stata sottoposta ai seguenti trattamenti termici: riscaldamento con microonde (45°C), riscaldamento su fornello a gas (45°C) e bollitura su fornello a gas, sia immediatamente dopo la contaminazione che dopo 48 ore di conservazione a 4, 8 e 12°C. 3) *Prova di partitioning* ovvero verifica della omogenea distribuzione di *C. jejuni* (103 ufc/ml) nelle singole porzioni, simulando la condizione in cui la bottiglia di latte conservata per 24 ore a 4°C non venga agitata prima del consumo.

Risultati. Le prove di conservazione hanno evidenziato che sia a 4 che a 8°C si assiste ad un aumento della carica mesofila a fronte di una riduzione del livello di *C. jejuni*; risultati discordanti si sono verificati nel caso dei 12°C esclusivamente per il patogeno. Le prove di bollitura/riscaldamento hanno permesso di verificare sempre l'efficacia della bollitura nell'abbattimento della carica microbica; nel caso di riscaldamento *C. jejuni* è stato quantificato nel latte sia conservato a 12°C per 48 ore che non sottoposto a conservazione, a seguito di riscaldamento su fornello. La prova di *partitioning* ha evidenziato un livello di contaminazione superiore in corrispondenza della prima porzione versata.

Conclusioni. Questo studio ha permesso di acquisire dati utili per implementare un modello QMRA. I risultati, pur da considerarsi preliminari, hanno permesso di confermare l'importanza del ruolo del consumatore nella gestione degli alimenti. Successivi approfondimenti sono necessari per chiarire in particolare l'effetto della conservazione a 12°C e l'efficacia del riscaldamento con il microonde.

APPROCCI DIAGNOSTICI ALLE GASTROENTERITI NEGLI OSPEDALI ITALIANI

Caterina Graziani (a), Lapo Mughini Grass (a), Ida Luzzi (b), Luca Busani (a), Gruppo di Studio Enter-net

(a) *Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Le Gastroenteriti Acute (GA) ad eziologia infettiva costituiscono un rilevante problema di sanità pubblica a livello mondiale. Benché nei Paesi industrializzati le GA siano caratterizzate da una mortalità bassa, la morbilità può essere piuttosto elevata. In generale, le GA possono essere causate da un ampio spettro di agenti patogeni e tossine, a loro volta trasmesse attraverso varie vie di esposizione, tra cui quella alimentare.

I laboratori diagnostici rivestono un ruolo fondamentale nella sorveglianza delle GA, ma non sempre sono in grado di rappresentare il fenomeno dal punto di vista eziologico. In un campione di laboratori italiani partecipanti alla Sorveglianza Enter-net Italia è stato effettuato uno studio per descrivere le procedure routinariamente utilizzate e le capacità diagnostiche nei confronti dei patogeni enterici.

Le informazioni riguardanti le caratteristiche dei laboratori e le procedure diagnostiche di *routine* per una lista di 24 patogeni enterici utilizzate nei casi di GA, sono state raccolte attraverso un questionario standardizzato sottoposto a 36/304 laboratori Enter-net scelti in modo casuale. I dati hanno riguardato il periodo 01/01/2010-31/12/2010.

Dall'attività diagnostica svolta nel periodo di studio si è evidenziato che il numero maggiore di esami è stato per la ricerca di *Salmonella* (109.402 campioni analizzati; 2,4% positivi), *Shigella* (101.395 campioni analizzati; 0,03% positivi) e *Campylobacter* (91.940 campioni analizzati; 1,95% positivi). La proporzione di esami positivi più elevata si è riscontrata per Rotavirus (16,9% su 20.107 esami) e Norovirus (16,6% su 1.752). Le metodiche diagnostiche utilizzate sono state: ricerca diretta dei patogeni ed esami microbiologici/colturali.

L'identificazione di *Salmonella*, *Campylobacter*, *Shigella*, *Y. Enterocolitica*, parassiti (*Giardia* ed *E. histolytica*) e Rotavirus è disponibile in oltre 30 dei 36 laboratori. Riguardo ai 24 patogeni indicati sul questionario, solo 1 laboratorio possiede le capacità per cercarli tutti, 2 laboratori ne cercano 20, 21 laboratori cercano tra 18 e 10 patogeni e 10 laboratori ricercano meno di 10 patogeni.

L'attitudine alla notifica dei casi al Sistema Sanitario Nazionale è variabile in base agli agenti isolati ed avviene prevalentemente per *Salmonella*, *Shigella* e *Campylobacter*.

I risultati evidenziano una eterogeneità tra i laboratori nella capacità di identificazione/tipizzazione degli agenti patogeni. Questo comporta una sottostima differenziata dei vari agenti patogeni e maggiore difficoltà nell'identificare eventi di rilievo come le epidemie. L'attività diagnostica dovrebbe essere maggiormente armonizzata considerando che esistono già indicazioni e linee guida per la ricerca dei

patogeni causa di gastroenterite. Sarebbe inoltre auspicabile una maggiore attenzione alla notifica ufficiale da parte dei laboratori di diagnostica.

Gruppo di studio Enter-net:

Archibusacci C.M., Policlinico Agostino Gemelli, Roma; Astone V., Ospedale San Francesco, Nuoro; Balladelli M., Ospedale Di Dolo-Mirano, Venezia; Bazzanella L., Ospedale di Arco; Bellagamba M., Ospedale di Orvieto; Benini F., Centro Servizi Area Vasta Romagna, Pievesestina; Cardone M., Ospedale di Mondovi; Confalonieri M., Ospedale Guglielmo da Saliceto, Piacenza; D'Annibale M.L., Ospedale S. Maria Della Misericordia, Perugia; De Vito D., Università di Bari; De Canale E., Ospedale di Padova; Deiana M.L., Ospedali Riuniti di Trieste; Ferillo G., Ospedale G. Vietri, Larino; Filippetti A., Ospedale San Salvatore, Pesaro; Ganthaler O., Ospedale di Brunico; Giacomazzi C.G., S.C. Microbiologia, Aosta; Guadagnin L., Ospedale Di Cavalese; Liguori G., Ospedale Universitario di Bologna Policlinico S. Orsola-Malpigli; Marone P., Fondazione I.R.C.C.S. Policlinico S. Matteo, Pavia; Mattei R., Ospedale Campo Di Marte; Menichetti P., Ospedale Alto-Chiascio Fraz. Branca; Nicasi A., Ospedale di Città di Castello; Ossi C., Laboraf Diagnostica e Ricerca San Raffaele Spa, Milano; Pasini C., Ospedale di Desenzano del Garda; Pecile P., Ospedale Careggi, Firenze; Pechmann A., Ospedale di Alghero; Piana F., Ospedale S. Croce e Carle, Cuneo; Re L., Ospedale di Garbagnate Milanese; Rossi S., Ospedale Di Castiglione del Lago; Sartore P., Ospedale di Camposampiero; Schinella M., Ospedale S.Maria Del Carmine, Rovereto; Spitaler C., Ospedale Franz Tappeiner, Merano; Unterkircher I., Ospedale Di Bressanone; Veneri M.R., Ospedale San Leonardo Gragnano; Allocco A. Ospedale San Lorenzo, Carmagnola; Carretto E., Arcispedale Santa Maria Nuova, Reggio Emilia.

SORVEGLIANZA DELLE *FOODBORNE-DISEASES*: FONTI INFORMATIVE NEL MODELLO ORGANIZZATIVO DELLA REGIONE LOMBARDIA

Anna Guaita (a), Alessandra Piatti (b), Mirella Maria Pontello (a)

(a) *Dipartimento di Sanità Pubblica, Microbiologia, Virologia, Università degli Studi, Milano*

(b) *Osservatorio Epidemiologico, Flussi e Registro dei Tumori, Azienda Sanitaria Locale della Provincia di Milano 1, Milano*

La sorveglianza delle malattie di origine alimentare prevede due diversi sistemi informativi: il primo, di carattere ufficiale ed obbligatorio, si basa sui dati provenienti dalla notifica dei casi, che in Regione Lombardia sono raccolti in uno specifico database (MAINF); il secondo di carattere volontario è basato sulle informazioni di laboratorio, riferite agli isolamenti dei diversi patogeni e gestite dal sistema Enter-net, che in Lombardia dal 2008 ha assunto un nuovo modello organizzativo facente capo al Laboratorio Enterobatteri (ex-CEPIS) del Dipartimento di Sanità Pubblica-Microbiologia-Virologia dell'Università di Milano. In questa sede intendiamo confrontare i dati raccolti dai due sistemi per quanto riguarda due patologie di origine alimentare, tra loro molto diverse per caratteristiche epidemiologiche e di impatto clinico: la salmonellosi e la listeriosi, prendendo in considerazione il periodo 2005-2010. Nel periodo precedente l'introduzione del nuovo modello organizzativo i casi rilevati dalla rete Enter-net rappresentavano il 30,8-49,8% dei casi notificati, mentre nel biennio 2009-2010 le segnalazioni degli isolamenti di *Salmonella* sono risultati superiori (114-135%) ai casi di malattia notificati. Osservando il *ranking* dei sierotipi più frequenti negli ultimi 5 anni le prime posizioni sono stabili (Typhimurium 30%, monofasica 15%, Enteritidis 10%, Napoli 5%, Derby 3%). È stato effettuato un monitoraggio delle resistenze testate su un campione randomizzato di ceppi: le resistenze più frequentemente osservate, soprattutto per *S. Typhimurium* e per la variante monofasica, sono state quelle nei confronti dell'ampicillina (60%), della streptomina (53%), della tetraciclina (57%) e del sulfametossazolo (60%). Nel 2005-2010 alla rete Volontaria di Laboratorio è stato segnalato un numero sempre maggiore di stiptipi di *Listeria monocytogenes*, passando dall'8% di casi riportati in MAINF nel 2005 al 60% nel 2010. Per gli stiptipi di *L. monocytogenes* isolati da casi umani (di cui 20 correlati con la gravidanza) è stata completata l'analisi microbiologica e molecolare: nel periodo 2005-2010 in totale sono stati raccolti 138 stiptipi, per la gran parte appartenenti a tre sierotipi: 1/2a (51%), 1/2b (10%), 4b (36%); dall'analisi biomolecolare effettuata mediante la tecnica PFGE, sono stati identificati 15 pulsotipi distribuiti in modo omogeneo nel tempo e nello spazio ed un *cluster* di notevoli dimensioni (31 stiptipi nel periodo 2008-2010). La disponibilità di due sistemi di sorveglianza indipendenti rappresenta un sicuro vantaggio nelle attività di sorveglianza delle malattie di origine alimentare, permettendo di incrociare i due database, di valutare tramite l'ausilio di metodi statistici (cattura-ricattura a 2 fonti), l'efficienza del sistema, e di integrare le informazioni cliniche con quelle di laboratorio al fine di avere una migliore conoscenza epidemiologica ai fini del controllo di tali patologie.

DT7: UN FAGOTIPO RARO, EMERGENTE, ASSOCIATO AD UNA TOSSINFEZIONE ALIMENTARE

Antonia Anna Lettini, Elena Ramon, Alessandra Longo, Cristina Saccardin, Elisa Marafin, Paola Zavagnin, Ketì Antonello, Lisa Barco, Antonia Ricci

Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Padova

Introduzione. Le tossinfezioni da *Salmonella* rappresentano un severo problema per la salute pubblica. In particolare, i sierotipi *Salmonella* Typhimurium (ST) e la variante monofasica, S. 1,4,[5],12:i:- (STM), sono associati ad un crescente numero di infezioni sia nell'uomo, sia negli animali. Questo studio descrive la caratterizzazione dei ceppi, appartenenti a tali sierotipi, isolati nell'ambito di un episodio di tossinfezione alimentare verificatosi nel 2011, correlato al consumo di porchetta.

Metodi. Nell'ambito dell'episodio di tossinfezione alimentare, verificatosi in un ristorante, sono stati isolati 21 ceppi di *Salmonella*, sia da campioni di alimento, sia da alcuni clienti che avevano consumato alimenti presso il locale. In seguito, sono stati raccolti, presso l'allevamento di suini da cui derivava la carne, campioni di feci, dai quali sono stati isolati 3 ceppi di *Salmonella*. Inizialmente tutti i ceppi raccolti sono stati sierotipizzati e fagotipizzati, poi, su una selezione di 10 ceppi, sono state effettuate ulteriori analisi di sub-tipizzazioni. In particolare, è stato determinato il profilo di antibiotico-resistenza tramite MIC ed è stata eseguita la caratterizzazione molecolare dei geni responsabili delle resistenze. La sierotipizzazione è stata confermata dalla presenza del gene *fljB* discriminante per i due sierotipi STM e ST; e di seguito i ceppi sono stati ulteriormente sub-tipizzati tramite PFGE, MLVA e profilo plasmidico.

Risultati. I ceppi isolati dai suini (3) sono stati identificati come ST, quelli isolati dalla porchetta e dai casi umani come STM. Tutti i ceppi, indipendentemente dal sierotipo, sono stati fagotipizzati come DT7 (24/24). Sulla selezione di ceppi (10/24), appartenenti ai due sierotipi, l'analisi del profilo di antibiotico-resistenza ha evidenziato il profilo ASSuT comune a 8/10 ceppi, non correlato a nessuno dei 2 sierotipi in esame. La sub-tipizzazione molecolare ha evidenziato lo stesso pulsotipo STXMXB.0079 e lo stesso profilo MLVA, 2-6-6-0-2 per i 10 ceppi analizzati. L'analisi del profilo plasmidico, invece, ha permesso di differenziare i ceppi ascrivibili ai due sierotipi, in particolare si è evidenziata la presenza di un plasmide nei ceppi di STM, assente invece in tutti gli isolati di ST.

Conclusioni. Sulla base dei dati di sub-tipizzazione ottenuti, tali ceppi sembrano essere altamente "clonali". Gli unici elementi che evidenziano una differenza sono l'appartenenza a due sierotipi diversi e l'assenza nei ceppi di ST di un plasmide presente in tutti i ceppi di STM. La virulenza dei ceppi di ST e di STM ascrivibili al fagotipo DT7, raramente descritto, suggerisce la necessità di approfondire la caratterizzazione di isolati riconducibili a tale fagotipo.

P15 PREVALENZA E CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DI CEPPI DI SALMONELLA SPP. RESISTENTI ALLE CEFALOSPORINE DI TERZA GENERAZIONE ISOLATI IN ITALIA

Claudia Lucarelli, Anna Maria Dionisi, Ildo Benedetti, Emma Filetici, Slawomir Owczarek, Ida Luzzi

Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione. L'isolamento di ceppi di *Salmonella* spp. resistenti agli antibiotici è in costante aumento e riguarda non solo le vecchie classi di antibiotici ma dagli anni 90 sono comparsi ceppi resistenti alle cefalosporine di terza generazione, farmaci d'elezione nella terapia delle salmonellosi invasive. La resistenza a questi farmaci è conferita principalmente da geni di resistenza a localizzazione plasmidica, produttori di beta lattamasi a spettro esteso (ESBLs), tra cui *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}. Lo scopo del lavoro è stato di valutare la frequenza di ceppi produttori di ESBLs in isolati umani di *Salmonella enterica* collezionati nell'ambito della sorveglianza Enter-net nel periodo 2003-2010 e di caratterizzare i geni responsabili di tali resistenze.

Materiali e metodi. Sono stati selezionati 121 di 3174 ceppi di *S. enterica*, epidemiologicamente non correlati, collezionati presso l'Istituto Superiore di Sanità, con alone di resistenza al cefotaxime ≤ 27 mm. I ceppi selezionati sono stati sottoposti al test di conferma per la produzione di ESBL (metodo dei dischi combinati) e nei positivi sono stati ricercati i geni responsabili della resistenza a beta-lattamasi a spettro esteso (*bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}) mediante PCR e sequenziamento. Esperimenti di coniugazione sono stati condotti sui ceppi positivi e i plasmidi sono stati tipizzati con il metodo del PCR Based Replicon Typing (PBRT).

Risultati. Dei 121 ceppi analizzati, 8 erano produttori di ESBL e di questi, 5 ceppi appartenevano al sierotipo Typhimurium (ST), 1 alla variante monofasica di *S. Typhimurium* (STM), 1 al sierotipo Enteritidis (SE) e 1 al sierotipo Bredeney. La resistenza ai beta-lattamici a spettro esteso era conferita dal gene *bla*_{CTX-M-1} in 2 ceppi di ST, in STM e in *S. Bredeney*, dal gene *bla*_{CTX-M-5} in 1 ceppo di ST, da *bla*_{CTX-M-14} in SE e da *bla*_{SHV-12} in ST. Tutti i geni che conferiscono resistenza alle beta-lattamasi a spettro esteso sono stati trasferiti mediante coniugazione e la tipizzazione dei plasmidi ha determinato l'individuazione delle seguenti famiglie: L/M, B/O, F, HI2, I1 ed I2.

Conclusioni. Questo studio conferma la bassa prevalenza di ceppi di *Salmonella* spp. produttori di ESBL tra i ceppi isolati da uomo in Italia. Inoltre la presenza di geni di resistenza e di plasmidi diversi dimostra la circolazione di cloni differenti. Tuttavia la caratterizzazione molecolare dei determinanti genetici della resistenza rappresenta un importante strumento per individuare possibili cloni e serbatoi d'infezione per l'uomo.

P16 INDAGINE SULLA DIFFUSIONE DI *SALMONELLA* SPP. IN BOVINI MACELLATI NELLA REGIONE UMBRIA

Chiara Magistrali, Lucilla Cucco, Michele Tentellini, Paola Papa, Laura Ercoli, Silvia Cibotti, Stefania Scuota

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia

La salmonellosi umana, con i suoi 99.000 casi registrati nell'unione europea nel 2010 (report EFSA), è la seconda malattia di origine zoonosica. Le uova e i prodotti derivati sono ancora la principale fonte di infezione per l'uomo; tuttavia l'importanza di altre fonti sta progressivamente crescendo, forse per effetto dei programmi di controllo per *Salmonella* nel settore avicolo. Le informazioni relative alla diffusione di *Salmonella* nel bovino sono piuttosto lacunose.

Scopo del presente lavoro è stato quindi quello di indagare sulla diffusione di *Salmonella* spp. in bovini macellati nella Regione Umbria. Il campionamento è stato effettuato in 4 macelli umbri, che sono stati visitati più volte nell'arco di un anno. Durante ciascuna visita, sono stati sottoposti a prelievo 10 animali, se disponibili, scelti in maniera random. Da ciascun animale sono stati prelevati un campione di feci da cieco e una spugna da otto siti dalla carcassa, per un totale di 800 cm².

In totale, sono stati prelevati 225 spugne di carcasce e 225 campioni di feci. La ricerca di *Salmonella* nelle feci (5 g) è stata eseguita secondo la norma UNI EN ISO 6579:2008, nelle spugne con metodo ELFA (VIDAS SLM - Biomérieux).

Tutti i ceppi di *Salmonella* isolati sono stati sierotipizzati secondo lo schema di Kauffmann e White (2007) e la sensibilità agli antimicrobici è stata determinata con il metodo di diffusione in gel di agar, utilizzando il pannello previsto dal protocollo Enter-net.

Sono risultati positivi 12 campioni di feci (6,3%), e 15 spugne da carcasce (6,7%). Per quanto riguarda i sierotipi sono stati isolati dalle feci *S. Mbandaka* (4 casi), *S. Give* (2), variante monofasica di *S. Typhimurium* (2), e in un solo caso, *S. Rissen*, *S. Ters*, *S. London* e *S. Derby*. Dalle carcasce sono stati isolati *S. London* (7 casi), *S. Mbandaka* (2), *S. Derby* (2), *S. Rissen* (2) e, in un caso, *S. Brandenburg*, *S. Bredeney* e *S. Muenchen*.

La maggior parte dei ceppi è risultata sensibile a tutte gli antimicrobici saggiati, ad eccezione di un ceppo di variante monofasica di *S. Typhimurium* che mostrava il profilo tipico di resistenza (AmSSuTe) e di altri tre ceppi (variante monofasica di *S. Typhimurium*, *S. Derby* e *S. Rissen*), risultati resistenti alla tetraciclina. I sierotipi riscontrati rientrano tra i dieci indicati come i più frequenti da parte dell'EFSA, con l'eccezione di *S. Typhimurium*, che non è mai stata isolata nel corso della presente indagine, mentre è stata rilevata più volte la sua variante monofasica.

Non si è osservata corrispondenza individuale tra gli isolamenti da carcassa e quelli da feci. Il numero di isolamenti è stato molto superiore nel periodo primaverile-estivo (23) rispetto a quello autunnale-invernale (5), confermando quanto descritto in letteratura.

Salmonella spp. appare pertanto essere diffusa nei bovini macellati in Umbria in percentuali basse ma non trascurabili, tali da giustificare ulteriori indagini.

P17 EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE DI CEPPI DI SALMONELLA ENTERICA SER. HADAR ISOLATI DA VARIE FONTI NELLA REGIONE MARCHE

Laura Medici (b), Monica Staffolani (b), Anna Maria Dionisi (a), Claudia Lucarelli (a), Slawomir Owczarek (a), Ida Luzzi (a), Stefano Fisichella (b)

(a) *Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Centro di Riferimento Regionale per gli Enterobatteri Patogeni, Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Macerata*

Il sierotipo Hadar risulta essere tra i 5 sierotipi rilevanti per la sanità pubblica nell'ambito dei piani di controllo degli avicoli messi in atto in tutti i Paesi membri UE a partire dal 2003 (Dir. 99/2003/EC e Reg. 2160/2003/EC), insieme a Typhimurium, Enteritidis, Virchow e Infantis. Tale sierotipo risulta piuttosto adattato alla specie del pollo in cui è particolarmente diffuso.

Gli ultimi dati riportati dall'EFSA relativi al 2009, mostrano che in Europa in ambito umano il sierotipo Hadar è entrato a far parte della top ten TESSy occupando il settimo posto con una frequenza percentuale pari allo 0,5%. In campo non umano frequenze elevate si riscontrano nella carne di pollo in cui *S. Hadar* si pone al 4° posto con una frequenza pari al 4,1%, ma rappresenta il sierotipo dominante in Grecia (30,6%) e Italia (16,7%).

A livello nazionale, i dati di prevalenza più recenti nell'uomo del 2007-2009 (ISS: Notiziario, 2011) riportano il sierotipo Hadar al 6°-10° posto con una frequenza pari a 0,8-1,6%. Tra i campioni di origine veterinaria nel 2009 (Enter-vet: Rapporto annuale, 2009), si evince che *S. Hadar* occupa il 6° posto in frequenza con un valore percentuale del 4,61%.

Per approfondire l'epidemiologia di *S. Hadar* nella Regione Marche, è stato effettuato uno studio retrospettivo di caratterizzazione genotipica tramite PFGE dei ceppi collezionati presso il Centro di Macerata dal 2002 al 2010. In particolare è stata valutata la possibilità di chiarire il ruolo dell'acqua di fiume nel ciclo di trasmissione.

L'analisi PFGE condotta su 76 stipiti ha evidenziato un *cluster* dominante di 30 ceppi con omologia genetica $\geq 90\%$ provenienti da varie fonti.

Concludendo i dati regionali dimostrano la circolazione di cloni di *S. Hadar*, geneticamente stabili nel tempo, nell'ambiente, nell'uomo, negli animali e negli alimenti di origine animale, con particolare diffusione nella specie del pollo. Riguardo al ruolo dell'acqua di fiume nel ciclo di trasmissione, sulla base dei dati esaminati non è stato possibile stabilire con certezza se rappresenti un veicolo o un serbatoio. Ciò nonostante nel *cluster* dominante sono presenti sia stipiti isolati da acque di fiume, sia ceppi provenienti da allevamenti di polli riproduttori situati nella valle dello stesso fiume, nonché stipiti isolati da feci di galline ovaiole e polli da ingrasso allevati in altre province. Inoltre, lo stesso clone, è stato isolato nella carne di pollo e in feci umane.

Infine lo studio in esame potrebbe essere proseguito con un piano di sorveglianza attiva negli allevamenti avicoli situati nella valle fluviale e completato con ulteriori campionamenti di acque di fiume e di balneazione del litorale prossimo alla sua foce.

IMPATTO DEL DILAVAMENTO SULLA QUALITÀ MICROBIOLOGICA DEI MOLLUSCHI BIVALVI ALLEVATI SUL LUNGO IL LITORALE DELLA REGIONE CAMPANIA

Roberta Pellicanò (a), Germana Colarusso (a), Stefania Cavallo (a), Maurizio Della Rotonda (b), Vincenzo Caligiuri (c), Silvia Castellano (c), Maria Rosaria Carullo (c), Achille Guarino (c)

(a) Osservatorio Regionale Sicurezza Alimentare, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli

(b) Settore Veterinario, Assessorato alla Sanità della Regione Campania, Napoli

(c) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli

Introduzione. Studi analitici mettono in evidenza che la principale fonte di contaminazione nei molluschi bivalvi deriva dalla contaminazione fecale umana. Fenomeni di intasamento degli impianti fognari o il dilavamento conseguenti a forti precipitazioni sono stati spesso collegati a focolai di malattie associate al consumo di frutti di mare. Per questo motivo si è voluto investigare sull'eventuale relazione esistente tra precipitazioni e contaminazione batterica dei molluschi. L'obiettivo del lavoro è stato quello di verificare se la piovosità e la temperatura dell'acqua sono fattori in grado di influenzare in modo significativo la contaminazione da *E. coli* e *Salmonella* nei molluschi bivalvi.

Metodi. Sono stati incrociate due fonti di dati, quelli dall'attività di campionamento prevista per il "Piano Regionale di Monitoraggio delle zone di produzione e stabulazione dei molluschi bivalvi vivi" ed i dati sulla piovosità raccolti sul sito Agrometeorologia della Regione Campania. I dati meteorologici utilizzati sono quelli relativi alla piovosità, espressi come media dei millimetri di acqua caduti e quelli della temperatura dell'acqua espressa come temperatura massima registrata. È stato eseguito un test-t per campioni indipendenti allo scopo di valutare se la media di una singola variabile è significativamente diversa in due gruppi di casi. Prima di procedere al test-t è stata verificata attraverso il test di LEVENE l'ipotesi di uguaglianza tra le varianze.

Risultati. Il valore medio della piovosità nei campioni con esito negativo è risultato essere minore rispetto ai campioni con esito positivo. Al contrario, nel confronto tra le variabili temperatura media ed esito, i campioni con esito negativo risultano avere un valore medio della temperatura maggiore rispetto ai campioni con esito positivo. Il test-t applicato, ha evidenziato che, per entrambe le variabili, le medie dei gruppi differiscono significativamente tra di loro, con un livello di significatività del 95%.

Conclusioni. Quanto emerso dall'analisi dei dati conferma che fenomeni atmosferici quali forti precipitazioni possono influenzare la contaminazione da *E. coli* e *Salmonella* nei molluschi bivalvi. Poiché il periodo autunno-inverno rappresenta il momento più a rischio per la qualità microbiologica dei molluschi è necessario far confluire maggiori controlli proprio in questo periodo.

P18 PREVALENZA DI BACILLUS CEREUS IN PRODOTTI LATTIERO CASEARI DELLA PROVINCIA DI CASERTA: DATI PRELIMINARI

Antonella Pesce, Francesca Garofalo, Caterina Salzano, Barbara Cioffi
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Caserta

Introduzione. Il *Bacillus cereus* è un microrganismo ubiquitario in grado di sviluppare spore resistenti alla maggior parte dei processi di risanamento degli alimenti. *B. cereus* può produrre due tipi di tossine, una ad effetto emetico, stabile al calore; l'altra di tipo diarroico, dovuta all'ingestione di cellule/spore batteriche capaci di produrre enterotossine nell'intestino tenue. I sintomi provocati dall'intossicazione diarroica si manifestano 6-15 ore dopo il consumo degli alimenti contaminati e persistono per 20-24 ore. La sindrome emetica è molto più acuta con un periodo di incubazione non superiore alle 6 ore e con una durata dei sintomi generalmente inferiore alle 24 ore. Visti i sintomi lievi e di breve durata la maggior parte delle malattie associate al *B. cereus* sono sottostimate dal momento che poche delle persone affette richiedono cure mediche. Per tale motivo sono disponibili poche informazioni circa la prevalenza e la concentrazione di questo patogeno nei prodotti di vendita al dettaglio. Il nostro lavoro ha indagato sulla presenza di questo batterio in particolare nei prodotti lattiero caseari vista la possibilità delle spore di sopravvivere ai comuni trattamenti di pastorizzazione ed UHT.

Metodi. Per tutto l'anno 2011, sono stati analizzati 118 campioni per la presenza di *B. cereus* utilizzando la semina in piastre su terreno MYP secondo la metodica ISO 7932:2005 il cui limite di rilevabilità è di 10 u.f.c./g.

Risultati. Abbiamo riscontrato 10 positivi (5 mozzarelle di bufala e 5 ricotte di bufala) per *B. cereus* su 118 campioni di derivati del latte analizzati, indicando una prevalenza del 8,4%. Valutando invece la prevalenza per singola matrice otteniamo il 6% per la mozzarella ed il 18% per la ricotta di bufala.

Conclusioni. Questo studio fornisce dati preliminari sulla prevalenza e la distribuzione di *B. cereus* in prodotti lattiero caseari. La contaminazione dei derivati del latte potrebbe essere spiegata dalla resistenza delle spore alle alte temperature di lavorazione o da una ricontaminazione durante i processi di trasformazione. Lo studio verrà completato analizzando un maggior numero di prodotti di origine vaccina in modo da avere risultati più rappresentativi per questa tipologia di prodotto ed ricercando la presenza di *B. cereus* anche nella materia prima (latte crudo) onde evidenziare o escludere eventuali criticità di processo. Un interessante step successivo sarà inoltre quello di isolare ed individuare i ceppi tossigeni mediante tecniche biomolecolari.

VALUTAZIONE DELL'ANDAMENTO DELL'ANTIBIOTICO RESISTENZA IN CEPPI SALMONELLA ENTERICA ISOLATE DA CARNE SUINA

Yolande T.R. Proroga (a,b), Maria Rosaria Carullo (a,b), Immacolata La Tela (a,b), Silvia Castellano (a), Achille Guarino (b), Federico Capuano (a,b)

(a) Centro Pilota Tipizzazione Salmonella, Dipartimento Ispezione degli Alimenti, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli

(b) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli

Introduzione. Obiettivo di questo studio è stata la valutazione della resistenza agli antibiotici in ceppi di *Salmonella* isolate da carni suine. Particolare attenzione si è prestata alla tipizzazione dei ceppi isolati ed alla identificazione di quelli caratterizzati da un profilo di resistenza cosiddetto d'allerta (ACSSuT e ASSuT).

Metodi. Sono stati analizzati i ceppi di *Salmonella* isolati (ISO 6579) da 3.864 campioni di carne suina prelevati presso esercizi commerciali e laboratori di sezionamento della Campania e della Calabria. La sierotipizzazione dei ceppi è stata effettuata mediante l'uso di antisieri somatici (Statens Serum Institut) e flagellari (Difco). Mentre lo studio dell'antibiotico-resistenza è stato attuato seguendo le indicazioni del National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS).

Risultati. Dai 3.864 campioni di carne suina sono stati isolati 204 (5,27%) ceppi di *Salmonella*, che hanno portato all'identificazione di 36 sierotipi diversi. *S. Typhimurium* è risultato il sierotipo più frequente (53/204), seguito da *S. Derby* (35/204) e *S. 4,5:i:-* (32/204). I ceppi resistenti a 4 e/o più molecole di antibiotico (MDR) sono risultati 129 (63,2%) mentre 28 (13,7%) quelli sensibili a tutte. I farmaci verso i quali si è registrata maggiore resistenza sono stati: Streptomina, Tetraciclina, Sulfonamide e Colistin solfato. 31 sono risultati i ceppi con un profilo ACSSuT e 29 con un profilo ASSuT, ai quali spesso si associava resistenza verso altre molecole. Non trascurabile risulta la resistenza verso il gruppo di molecole appartenenti alle famiglie dei fluorochinoloni e delle cefalosporine dove si rilevano, per i primi il 21% di ceppi resistenti per Ac. nalidixico e il 7,84% per Enrofloxacin, mentre per i secondi ben il 38,24 % di resistenza verso Cefotaxime e il 36,27% verso Cefalotina.

Conclusioni. I dati da noi ottenuti evidenziano la presenza di un numero elevato di ceppi con profili di multi-resistenza, tra i quali non trascurabile è risultato il numero di ceppi con profili di allerta, che spesso risultavano resistenti anche ad altri farmaci. La presenza di un numero elevato di ceppi con profili di allerta e resistenza verso categorie di farmaci di rilevante importanza nella terapia umana, destano forte preoccupazione. Di fronte alla diffusione di tale problema, l'unica strada percorribile per una sua reale riduzione sembra essere la sensibilizzazione di allevatori e veterinari verso l'applicazione di corrette strategie per minimizzare la resistenza antimicrobica attraverso l'uso mirato di antibiotici.

ACQUE REFLUE URBANE DEPURATE: UNA POTENZIALE FONTE DI CONTAMINAZIONE DA *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

Vincenza Romano (a), Stefano Dumontet (a), Anna Giannina Perugini (b), Francesco Aliberti (c), Annamaria Ranauro (c), Tiziana Troiano (a), Vincenzo Pasquale (a)

(a) Dipartimento di Scienze per l'Ambiente, Università degli Studi Parthenope, Napoli

(b) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici, Napoli

(c) Dipartimento di Scienze Biologiche, Sezione Fisiologia e Igiene, Università degli Studi Federico II, Napoli

Introduzione. *Clostridium difficile*, un batterio sporigeno anaerobio, è considerato il principale patogeno nosocomiale responsabile di infezioni enteriche di diversa gravità (diarrea, colite pseudomembranosa, megacolon tossico), soprattutto in seguito a terapie antibiotiche. La patogenesi è correlata alla produzione di tossina A (TcdA) e/o tossina B (TcdB), due enterotossine codificate, rispettivamente, dai geni *tcdA* e *tcdB*. Alcuni ceppi ipervirulenti possono produrre anche una tossina binaria (CDT). Nell'ultimo decennio è stato riscontrato un aumento delle infezioni da *C. difficile* acquisite in comunità. Recentemente *C. difficile* è stato isolato da alimenti (carne, pesce, molluschi bivalvi e vegetali) e da alcune specie di animali da carne. L'isolamento di ceppi tossigenici di *C. difficile* anche da ambienti idrici (fiumi, laghi e mare) porta a considerare l'acqua come una potenziale fonte di contaminazione per l'uomo e gli animali. Scopo del presente studio è stato quello di verificare la presenza di *C. difficile* negli effluenti terziari di alcuni impianti di depurazione.

Materiali e metodi. Nel periodo maggio-luglio 2011, sono state effettuate due serie di prelievi dagli effluenti post disinfezione di 6 depuratori di acque reflue urbane del Cilento (SA). Per la ricerca di *C. difficile*, dopo filtrazione di 490 mL di campione, le membrane sono state immerse in brodo di arricchimento selettivo. Successivamente, dopo alcool-shock, sono state effettuate subcolture in terreno solido. I ceppi di *C. difficile*, identificati mediante ricerca del gene specie-specifico *gluD*, sono stati sottoposti ad amplificazione dei geni *tcdA* e *tcdB* per la definizione del loro profilo tossigenico.

Risultati. Tutti i campioni di acqua degli effluenti terziari prelevati durante il primo campionamento sono risultati contaminati da *C. difficile*, mentre del secondo campionamento solo il 50% dei prelievi è risultato positivo. In totale sono stati isolati 17 ceppi, di cui 12 (71%) con profilo tossigenico A⁺B⁺ e 2 (12%) A⁺B⁻. Sono in corso ulteriori studi per definire i ribotipi degli isolati e la produzione di tossina binaria.

Conclusioni. Gli effluenti degli impianti di depurazione, anche dopo la fase di clorazione, rappresentano una potenziale fonte di diffusione di ceppi tossigenici di *C. difficile* nell'ambiente. I risultati ottenuti sottolineano l'inefficienza dei trattamenti di disinfezione, basati sulla clorazione, nei confronti di batteri sporigeni patogeni presenti negli effluenti secondari. La presenza di *C. difficile* nelle acque reflue depurate solleva problemi di sanità pubblica: l'elevata resistenza delle spore agli stress ambientali di diversa natura favorisce la contaminazione delle falde idriche e pone limiti al riuso dei reflui depurati in agricoltura.

RISCONTRO DI *LISTERIA MONOCYTOGENES* IN LATTE CRUDO PER IL CONSUMO UMANO: INDAGINE EPIDEMIOLOGICA CON IL SUPPORTO DELL'ANALISI GENOMICA DEGLI ISOLATI MEDIANTE PFGE

Gianluca Rugna, Elena Carra, Luca Gelmini, Stefano Bassi
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna, Modena

Introduzione. È noto che nella maggior parte dei casi la contaminazione del latte crudo con *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) è di origine ambientale. Esistono tuttavia casi in cui la contaminazione è di tipo primario conseguente, in genere, a mastiti sostenute da *L. monocytogenes* con eliminazione diretta del patogeno attraverso il latte. Dal punto di vista epidemiologico stabilire l'origine della contaminazione è molto importante perché consente di intervenire in maniera mirata per prevenirla o interromperla. Viene descritto l'approfondimento epidemiologico fatto a seguito di una positività per *L. monocytogenes* in un campione di latte crudo prelevato da un distributore automatico della provincia di Modena nell'ambito di una indagine riguardante la qualità igienico-sanitaria di questo alimento.

Metodi. Dopo il riscontro della presenza di *L. monocytogenes* in un campione di latte crudo destinato al consumo umano, al fine di escludere una contaminazione verificatasi in fase di distribuzione, è stato esaminato il latte di massa prelevato dalla cisterna aziendale con il quale veniva alimentato il distributore automatico. Successivamente sono stati esaminati campioni individuali di latte delle 107 vacche in lattazione presenti in azienda. Tutti i campioni sono stati sottoposti alla ricerca microbiologica di *L. monocytogenes* mediante ISO 11290-1:1996/Amd 1:2004. I ceppi di *L. monocytogenes* isolati dai campioni in esame sono stati genotipizzati mediante PFGE.

Risultati. Il latte di massa è risultato positivo per *L. monocytogenes*. Un numero significativo di colonie di *L. monocytogenes* isolate dal latte di massa è stato sottoposto ad indagine biomolecolare per valutare la presenza o meno di diversi profili genomici. Dal campione individuale di latte di una bovina è stata isolata *L. monocytogenes* con valori di carica pari a 2.000 UFC/ml. La vacca è stata riformata. L'esame anatomo-isto-patologico ha rilevato la presenza di una mastite interstiziale di tipo cronico in due quarti e l'esame batteriologico ha portato all'isolamento di *L. monocytogenes* dai linfonodi sopramammari. Il mancato isolamento dalla mammella è ascrivibile al fatto che la bovina era stata trattata con antibiotici per via endocanalicolare poco prima della macellazione. La caratterizzazione molecolare di tutti i ceppi testati ha evidenziato la presenza di un unico profilo genetico.

Conclusioni. La presenza di un unico genotipo tra i ceppi di *L. monocytogenes* isolati dalle diverse matrici ne conferma la probabile origine clonale supportando l'ipotesi della presenza di un'unica fonte di contaminazione identificabile nella bovina con mastite. I successivi controlli sul latte di massa eseguiti dopo eliminazione della bovina positiva hanno dato esito favorevole confermando di fatto tale ipotesi.

P19 **SORVEGLIANZA DELLE INFEZIONI DA VTEC ASSOCIATE A SINDROME EMOLITICO UREMICA NEL PERIODO 2007-2011**

Gaia Scavia (a,b), Francesca Baldinelli (a), Susan Babsa (a), Clarissa Ferreri (a), Martina Escher (a), Maria Luisa Marziano (a), Fabio Minelli (a), Stefano Morabito (a), Rosangela Tozzoli (a), Alfredo Caprioli (a)

(a) *Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Registro Italiano della Sindrome Emolitico Uremica, Roma*

Introduzione. La Sindrome Emolitico Uremica (SEU) è una malattia di notevole gravità che colpisce soprattutto i bambini. Si sviluppa in seguito a infezione da stipiti di *Escherichia coli* produttori di verocitotossina (VTEC). In Italia la sorveglianza delle infezioni da VTEC associate a SEU rientra nelle attività svolte dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) in collaborazione con il Registro Nazionale SEU (Società Italiana di Nefrologia Pediatrica) e in connessione con la rete Enter-net.

Metodi. I principali centri ospedalieri di nefrologia pediatrica italiani segnalano i casi e inviano i campioni biologici dei pazienti al Laboratorio Nazionale di Riferimento presso l'ISS. Le indagini diagnostiche per VTEC si basano sulle seguenti tecniche: ricerca dei fattori di virulenza (*vtx1*, *vtx2*, *eae*) mediante PCR in colture di *E. coli* da campioni fecali; isolamento dei ceppi dai campioni fecali e identificazione dei sierogruppi VTEC mediante sierotipizzazione, ricerca della VT fecale libera, mediante saggio su cellule Vero; ricerca di anticorpi sierici anti-LPS dei principali sierogruppi, mediante ELISA.

Risultati. Tra il 2007 e il 2011, 14 centri hanno segnalato 166 casi di SEU. L'età mediana dei pazienti era 2 anni e 1 mese. I pazienti provenivano da 17 Regioni, prevalentemente Piemonte, Lombardia e Veneto. 12 pazienti hanno manifestato SEU al rientro da un altro Paese ove avevano soggiornato o erano residenti. La maggior parte dei casi (93,5%) presentava diarrea prodromica, emorragica (51%) o acquosa (42%). Evidenze di infezione da VTEC sono state riscontrate nel 77% dei casi esaminati. L'informazione sui sierogruppi è derivata dalla sierotipizzazione dei ceppi isolati in 12 casi e dalla identificazione degli anticorpi anti-LPS sierogruppo specifici in 81 casi. I sierogruppi VTEC identificati più frequentemente sono stati O157 (N=41), O26 (N=31), O111 (N=13), O103 (N=11). Da un paziente che aveva soggiornato in nord-Africa nel 2009 è stato isolato un ceppo VTEC O104 dalle caratteristiche simili al ceppo epidemico riscontrato in Germania nel 2011. Sono inoltre stati identificati alcuni *cluster* spazio-temporali di casi associati a VTEC O26 e O55.

Conclusioni. La sorveglianza della SEU costituisce a tutt'oggi il sistema più efficace per il monitoraggio e la caratterizzazione delle infezioni da VTEC in Italia, con particolare riferimento alla dinamica dei sierogruppi e alla identificazione degli episodi epidemici in comunità. Rispetto al periodo precedente, sono aumentati sia il numero di pazienti per i quali erano disponibili i campioni diagnostici che la proporzione dei casi con evidenza di infezione da VTEC. VTEC O157 è tornato ad essere il sierogruppo più frequente.

P20 INCIDENZA E IMPATTO DELLE MALATTIE GASTROENTERICHE ACUTE NELLA POPOLAZIONE ITALIANA

Gaia Scavia (a), Francesca Baldinelli (a), Luca Busani (a,b), Alfredo Caprioli (a)
(a) *Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma*
(b) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Padova*

Introduzione. Le Malattie Gastroenteriche Acute (MGA) rappresentano un rilevante problema sanitario per gli alti costi medici e sociali connessi alla loro occorrenza. Nei Paesi industrializzati si manifestano primariamente con la comparsa di diarrea, in genere autolimitante, e vomito. Possono comportare, tuttavia, gravi sequele causa di disabilità e mortalità prematura. Le fonti dati ufficiali sottostimano l'incidenza delle MGA nella popolazione poiché soltanto i casi con diagnosi eziologica accertata possono essere notificati. Per tale motivo è stato condotto uno studio trasversale retrospettivo, con l'obiettivo di stimare l'occorrenza e la distribuzione delle MGA nella popolazione italiana e di valutarne l'impatto.

Metodi. Nell'arco di 12 mesi, a partire da luglio 2008, sono state intervistate telefonicamente 3.490 persone selezionate casualmente (metodo CATI) dalla popolazione nazionale raggiungibile attraverso utenza telefonica domestica. Il campionamento prevedeva la stratificazione per età, area geografica e mese di intervista. Le informazioni raccolte riguardavano l'occorrenza di sintomi gastroenterici e respiratori, il ricorso a cure sanitarie, esami diagnostici, nei 30 giorni precedenti. La definizione di caso, conforme a quella internazionale, è stata aver manifestato almeno tre scariche di feci liquide nel corso di 24 ore oppure vomito.

Risultati. Sono stati identificati 310 casi di MGA, corrispondenti ad un tasso di prevalenza periodale mensile dell'8,9% (IC95%: 8,0%-9,9%) e di incidenza media di 1,1 episodi di MGA per persona/anno. L'incidenza risultava significativamente maggiore nelle femmine, nelle fasce d'età infantile, pediatrica e nei residenti al Sud. La distribuzione delle MGA nel periodo di studio mostrava un chiaro picco nei mesi invernali. La durata media dei sintomi era di 3,2 giorni. Tra i casi, 113 pazienti hanno consultato medico, 7 hanno avuto la richiesta di un test diagnostico che è stato effettivamente eseguito da 3 pazienti. La presenza di febbre, il decorso >3 giorni, l'età <9 anni sono risultati fattori statisticamente associati alla richiesta di assistenza medica. Infine, 102 casi hanno riportato di aver perduto almeno un giorno di scuola o lavoro a causa della malattia.

Conclusioni. L'impatto delle MGA risulta assai rilevante con oltre 4 milioni di episodi e un milione di consulti medici attesi ogni mese nella popolazione italiana. La stima dei tassi di incidenza ed i *trend* demografici e stagionali, appaiono simili a quelli di altri Paesi industrializzati. Risulta critico, invece, il livello assai modesto di casi indagati sul piano eziologico. Tale dato restituisce immediatamente la dimensione della potenziale sottoutilizzazione delle MGA stimata in un fattore non inferiore a 1:103.

Il presente lavoro è stato realizzato grazie al contributo dei progetti MedVetNet FOOD_CT_2004 506122 e CCM-2008 “Stima di base dell’incidenza delle gastroenteriti acute in Italia ed integrazione dei dati di notifica, ricovero e laboratorio per la valutazione dell’impatto sulla salute”.

P21 ATTIVITÀ DI SORVEGLIANZA ENTER-NET IN UMBRIA NEL PERIODO 2009-2011

Stefania Scuota, Alessia Zicavo, Viviana Bazzucchi, Salvatore Bonanno, Valeria Scorpioni, Silvana Farneti

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia

Si riportano i dati relativi alle notifiche di batteri enteropatogeni effettuate al Centro di Riferimento Regionale di Perugia nel triennio 2009-2011.

Quasi tutti i Laboratori Ospedalieri partecipano attivamente al Sistema di Sorveglianza, attraverso l'invio e la notifica puntuale e costante dei ceppi. Nel corso dei tre anni esaminati, il numero di segnalazioni relative a *Salmonella* spp. di origine umana è risultato pari a 615. Le segnalazioni di enteropatogeni diversi da *Salmonella* in ambito umano, sono rappresentate principalmente da *Campylobacter* spp. e, in misura minore, da *Aeromonas* spp., da *Shigella* spp. e da *Yersinia enterocolitica*. Permangono sempre sporadiche le segnalazioni relative a *E. coli* VTEC, *Vibrio* spp. e altri batteri enterici.

La distribuzione di *Salmonella* spp. nelle varie fasce di età e la frequenza di ospedalizzazione, non si discostano significativamente da quelli osservati a livello nazionale.

Il sierotipo rappresentato dalla variante monofasica di *Salmonella* Typhimurium è quello più frequentemente riscontrato nel triennio considerato, negli isolati di origine umana. Negli ultimi cinque anni il riscontro di questo sierotipo è andato via via aumentando, tanto che è molto più frequente di *Salmonella* Typhimurium e di *Salmonella* Enteritidis, che in Umbria si attesta costantemente al di sotto del dato nazionale. Anche nei ceppi di origine veterinaria e ambientale le varianti monofasiche di *Salmonella* Typhimurium sono piuttosto ricorrenti.

Gli altri sierotipi di *Salmonella* più frequentemente isolati ricalcano essenzialmente il dato nazionale, ad eccezione di *Salmonella* Derby, per la quale, nella nostra regione, si riscontra sempre una frequenza superiore; d'altra parte *Salmonella* Derby è il sierotipo più frequentemente isolato anche da alimenti, particolarmente da matrici carnee.

Circa il 70% dei ceppi di *Salmonella* di origine non umana è stato isolato da alimenti. Nell'ultimo triennio si è avuto un aumento lento ma costante di notifiche dei ceppi di origine ambientale.

I ceppi di *Salmonella* di origine veterinaria sono stati isolati, prevalentemente da suini e da pollame, molto più raramente da ovino e da piccione. I numerosi isolamenti nella specie bovina sono da attribuire a uno studio condotto nei mattatoi nella nostra regione, che hanno comportato un grande numero di prelievi su carcasse. Si osservano anche numerosi isolamenti da rettili, per la presenza nella nostra zona di strutture che ospitano rettili.

Negli alimenti, le matrici di elezione per l'isolamento di ceppi di *Salmonella* sono costituite da carni fresche e lavorate di suino (75% dei ceppi), di pollo, di tacchino e da carni miste tritate. Bassissimo è invece il riscontro in uova e in preparazioni gastronomiche a base di uova e in altre matrici.

P22 VALUTAZIONE DEL RISCHIO RELATIVO A LISTERIA MONOCYTOGENES E SALMONELLA SPP. IN FORMAGGI TRADIZIONALI

Matteo Senese, Laura Gasperetti, Alessia D'Alonzo, Francesca Campeis, Ilaria Fabbri,
Carla Milioni, Roberto Fischetti

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Roma

Introduzione. Tra gli alimenti tradizionali maggiormente rappresentati in Toscana ci sono sicuramente i formaggi ovi-caprini e bovini prevalentemente a latte crudo, che in base al regolamento 2073 sono considerati, per le caratteristiche intrinseche del prodotto stesso (aw e pH), favorevoli alla crescita sia di *Listeria monocytogenes* che di *Salmonella* spp. Tuttavia, in base all'allegato II, art. 3 par. 2 del suddetto regolamento, si può, grazie all'analisi dei dati storici presenti per questa matrice ed alle caratteristiche del prodotto, ricorrere ad un metodo meno sensibile per *L. monocytogenes*, mentre per *Salmonella*, si potrebbe dimostrare che la stessa ricerca non è necessaria.

Metodi. Sono stati valutati i dati relativi alle analisi, effettuate dal Laboratorio Alimenti della Sezione di Pisa dell'IZS del Lazio e della Toscana, nell'ambito del controllo ufficiale nel periodo 2002-2011, per i patogeni considerati. Inoltre la valutazione del rischio relativo a *L. monocytogenes* è stata integrata con un *challenge test* su pecorino a latte crudo.

Risultati. Nel periodo 2002-2011 sono stati effettuati campioni per la ricerca qualitativa di *L. monocytogenes* (metodo EN/ISO 11290-1) per la quale un formaggio caprino è risultato positivo su un totale di 166 campioni (638 analisi) e per la ricerca qualitativa di *Salmonella* spp. (metodo EN/ISO 6579) per la quale sono risultati positivi (*S. diarizonae*) 2 su un totale di 144 campioni (577 analisi). Il *challenge test*, effettuato seguendo in parte le linee guida AFSSA, ha interessato 3 lotti per un totale di 62 campioni, dimostrando che *L. monocytogenes* non si moltiplica durante la *shelf-life*.

Conclusioni. Questa tipologia di formaggi si dimostra rarissimamente contaminata da *L. monocytogenes* e da *Salmonella* spp. La contaminazione iniziale di *L. monocytogenes* è presumibilmente a livelli bassissimi, dato che il germe potrebbe svilupparsi nella fase iniziale della fermentazione. Dai dati storici e dalla sperimentazione questi prodotti si dimostrano particolarmente sicuri.

P23 FREQUENZE DEGLI ISOLAMENTI DI *SALMONELLA* DA UOMO, ALIMENTI ED ANIMALI NELL'AMBITO DELLA SORVEGLIANZA DEL CENTRO DI RIFERIMENTO REGIONALE PER GLI ENTEROBATTERI PATOGENI DELL'IZS LAZIO E TOSCANA NEL TRIENNIO 2009-2011

Rita Tolli, Sara Greco, Gina Di Giampietro, Maria Grazia Marrocco, Silvia Vita, Stefano Bilei
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Roma

Salmonella è considerata un importante agente patogeno responsabile di infezioni nell'uomo e negli animali con oltre 2.500 sierotipi conosciuti ed una prevalenza di isolamento che cambia nel corso del tempo. Nella Regione Lazio è stato istituito, a partire dal 1996, il Centro di Riferimento Regionale per gli Enterobatteri Patogeni, che fa parte delle reti Enter-net ed Enter-vet, ed esegue, per la sorveglianza di laboratorio, la sierotipizzazione di stipiti di *Salmonella* isolati dall'uomo e da campioni di origine veterinaria.

Nel corso del triennio 2009-2011 sono stati notificati dati relativi a 1.694 ceppi di *Salmonella* di cui 1.019 (60,2%) di origine umana e 675 (39,8%) di origine veterinaria (alimenti e animali).

Nell'uomo, *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* assieme alla variante monofasica, sono i sierotipi più frequentemente associati a malattia. Nel corso del triennio *S. Typhimurium*, pur rimanendo il sierotipo più frequente, ha subito un drastico decremento passando da una prevalenza del 62,9% nel 2009 al 35,3% nel 2010, al 33,6% nel 2011. Al contrario, la sua variante monofasica ha fatto registrare un'impennata raggiungendo il 2° posto con una frequenza del 3% nel 2009, del 12% nel 2010 e del 18,7% nel 2011. La frequenza di isolamento di *S. Enteritidis*, che scende al 3° posto nel 2011, rimane abbastanza stabile nel triennio considerato (12%, 17,2%, 15,2%) ma precisando che, dopo il picco massimo del 41,3% nel 2006, questo sierotipo ha fatto osservare una continua diminuzione. Ma è fra il 2008 e il 2009 che il decremento è stato più importante (dal 24,9% al 12%).

Nei campioni di origine veterinaria, i sierotipi più frequentemente isolati sono stati *S. Typhimurium*, *S. Typhimurium* monofasica e *S. Derby*.

Anche negli animali, così come nell'uomo, *S. Typhimurium* ha fatto registrare una riduzione della frequenza di isolamento pur rimanendo il sierotipo più isolato nel triennio considerato (24,8%, 11,3%, 8,3%). A partire dal 2010 la variante monofasica di *S. Typhimurium* è stata il 2° sierotipo più frequentemente isolato (3,3% nel 2010, 5,3% nel 2011) nonostante nel triennio precedente, abbia subito una costante diminuzione con nessun isolamento nel 2009. In lieve incremento (0,9%, 2% e 2,3%) la frequenza di *S. Derby*.

Negli alimenti di origine animale i sierotipi più frequenti risultano: *S. Typhimurium*, *S. Typhimurium* monofasica e *S. Derby*. Quest'ultimo è stato il primo sierotipo isolato nel 2009 con una frequenza del 24,6%, mentre nel 2010 lo è stato *S. Typhimurium*, 18,8% e nel 2011 *S. Typhimurium* monofasica, 22,3%.

P24 **ESCHERICHIA COLI PRODUTTORI DI VEROCITOTOSSINE (STEC) E LATTE CRUDO DA DISTRIBUTORE: ANALISI IN PIEMONTE 2011**

Amaranta Traversa, Lucia Decastelli, Chiara Nogarol, Francesca Federica Liuni, Daniela Manila Bianchi, Silvia Gallina
S.C. Controllo Alimenti e Igiene delle Produzioni, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino

Introduzione. I ceppi di *Escherichia coli* produttori di verocitotossine (STEC) possono provocare manifestazioni cliniche gravi quali colite emorragica e Sindrome Emolitico Uremica, soprattutto in categorie a rischio quali bambini e anziani. Il principale *reservoir* di STEC è rappresentato dai bovini che albergandoli a livello intestinale, possono fungere da eliminatori asintomatici e contaminare alimenti di origine animale o vegetale. Le fonti di contagio per l'uomo sono rappresentate dal contatto diretto con animali eliminatori e dal consumo di alimenti contaminati, crudi o poco cotti: il latte vaccino rappresenta un substrato ideale per la crescita di questi patogeni.

Obiettivi. Valutare, mediante *real-time* PCR, la presenza di STEC nel latte vaccino crudo venduto in Piemonte attraverso distributori automatici.

Metodi. Nel periodo febbraio 2011-febbraio 2012 sono pervenuti al laboratorio Controllo Alimenti dell'IZSPLV Torino 254 campioni di latte crudo, prelevati nell'ambito del piano di campionamento della Regione Piemonte presso distributori automatici delle province di Torino e Cuneo. Tali campioni sono stati processati con *real-time* PCR per la ricerca dei geni codificanti le verocitotossine (*stx1* e *stx2*) e l'intimina (*eae*). In caso di contemporanea positività ad almeno un gene codificante verocitotossine e al gene codificante intimina, i campioni sono stati analizzati, mediante *real-time* PCR, per l'identificazione dei sierogruppi maggiormente associati a rischi per la salute pubblica (O157, O26, O111, O103 e O145). In caso di positività ad un sierogruppo, si è proceduto alla fase di isolamento batterico mediante immunoconcentrazione (Dynabeads) e coltura. Per la rilevazione di *stx1*, *stx2*, *eae* e dei geni specifici per i sierogruppi, sono stati utilizzati i protocolli messi a punto dallo *European Reference Laboratory* (EU-RL) per gli *Escherichia coli*, compresi gli *E. coli* verocitotossici, secondo quanto previsto dalla ISO TS13136.

Risultati. La contemporanea presenza di almeno un gene codificante le verocitotossine e l'intimina si è rilevata in 23 campioni di latte (9,1%) su 254. 7 campioni (2,8%) sono risultati positivi per uno dei sierotipi target: 4 per O26 e 3 per O145. Da nessun campione è stato isolato il ceppo batterico.

Conclusioni. L'assenza di positività all'isolamento colturale offre una nota di ottimismo nei confronti di una matrice alimentare che, come altri alimenti non sottoposti a cottura, rappresenta per il rapporto rischi-benefici, una scelta di produzione e di consumo da fare consapevolmente. Ulteriore approfondimento merita la fase di allevamento, con l'esecuzione di analisi mirate volte ad individuare gli animali eliminatori, in modo da poterli isolare ed escludere dalla produzione.

Lavoro svolto con finanziamento Ministero della Salute: RF-IZV-2008-1142936.

P25 ANALISI DEI PULSOTIPI STYMXB E SENTXB CIRCOLANTI IN UMBRIA NEL TRIENNIO 2009-2011

Alessia Zicavo (a), Anna Maria Dionisi (b), Silvana Farneti (a), Laura Ercoli (a), Stefania Scuota (a)

(a) *Centro di Riferimento Regionale Patogeni Enterici, Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia*

(b) *Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Nel triennio considerato il numero totale di isolati di origine umana appartenenti al genere *Salmonella*, sierotipi Typhimurium, sua variante monofasica 4,5,12:i:- ed Enteritidis, è risultato pari a 491.

I ceppi batterici sono stati sottoposti a PFGE come da protocollo Pulse-net, analizzati mediante il software Bionumerics e a ciascun profilo è stata assegnata una codifica secondo la nomenclatura internazionale (STYMXB.0000 e SENTXB.0000). I pulsotipi appartenenti ai *serovar* Typhimurium e 4,5,12:i:- vengono classificati nel sistema Pulse-net alla stessa stregua in quanto è ormai provata la loro origine clonale.

L'analisi dei pulsotipi di questi *serovar* ha confermato la presenza stabile sul territorio umbro di alcuni di essi in modo sovrapponibile alla loro distribuzione in altre zone d'Italia: si tratta dei pulsotipi STYMXB. 0079, 0131, 0061 e 0067 che risultano rappresentati in misura anche maggiore rispetto al biennio precedente e che coprono da soli quasi la metà del numero totale dei pulsotipi relativi ai *serovar* Typhimurium e alla sua variante monofasica.

Decisamente in aumento la quantità degli Unnamed (che comprende 40 pulsotipi diversi tra loro con una omologia compresa tra il 70 e il 90%) per i quali si attende l'assegnazione di una codifica da parte del sistema Pulse-net.

Appare ormai definitivamente confermato il legame del pulsotipo STYMXB.0053 con un singolo focolaio tossinfettivo risalente all'estate 2007, in quanto lo stesso sembra essere del tutto assente nel triennio in esame in Umbria. Il medesimo pulsotipo è comparso sul territorio nazionale in due sole altre occasioni (2005 in Italia settentrionale e 2009 a Roma).

Per quanto riguarda *Salmonella* Enteritidis, su un totale di 38 ceppi notificati nel periodo considerato (media molto più bassa di quella europea), i pulsotipi SENTXB.0001, 0005 e 0079, che appaiono equamente rappresentati tra loro, coprono oltre l'80% del totale, con una tendenza alla diminuzione di SENTXB.0005. Il pulsotipo SENTXB.0079 è emerso in modo consistente soprattutto nell'anno 2009.

Si ribadisce l'utilità della caratterizzazione dei pulsotipi di *Salmonella* al fine di una puntuale mappatura dei ceppi circolanti e della eventuale correlazione tra quelli di origine clinica e quelli di origine animale/alimentare/ambientale.

INDICE DEGLI AUTORI

Alfano F.; 31
Alfieri R.; 28
Aliberti F.; 66
Anniballi F.; 44
Antonello K.; 5; 59
Archenti A.; 25
Ardissimo G.; 34
Arena S.; 4; 48
Ascione G.; 26
Auriemma C.; 31
Babsa S.; 68
Baldi L.; 26; 43; 46
Baldinelli F.; 68; 69
Baldoni R.; 28
Balocchini E.; 9
Bandettini G.; 13
Barca L.; 26
Barco L.; 5; 27; 41; 48; 59
Bari A.; 52
Barrucci F.; 55
Bassi S.; 67
Bazzucchi V.; 71
Bellio A.; 51
Benedetti I.; 4; 48; 60
Biagiola P.; 25
Bianchi C.; 38
Bianchi D.M.; 51; 74
Bignamini M.L.; 29
Bigotti M.; 34
Bilei S.; 73
Biserni R.; 13
Bonanno S.; 71
Bonomi I.; 29
Borrelli R.; 30
Borrello S.; 36
Borriello G.; 30; 31
Bove F.; 30
Bressan L.; 29
Busani L.; 3; 56; 69
Calabria M.; 49
Caligiuri V.; 33; 43; 63
Campeis F.; 53; 72
Capo S.; 43
Caponigro V.; 32; 33; 36
Caprioli A.; 3; 6; 34; 68; 69
Capuano F.; 19; 33; 36; 65
Caputo V.; 49
Careddu M.E.; 38
Carra E.; 67
Carullo M.R.; 26; 33; 63; 65
Casa R.; 25
Casalinuovo F.; 39; 40
Castellano S.; 63; 65
Cavallo S.; 46; 63
Cella M.; 41
Cerrone A.; 26
Cibin V.; 5; 55
Cibotti S.; 61
Cioffi B.; 64
Cipolla M.; 54
Cirillo G.; 13
Cocevari M.; 41
Colarusso G.; 43; 63
Colombo R.; 34
Concione N.; 29
Condoleo R.U.; 20
Conedera G.; 41
Cortini E.; 27
Corvonato M.; 51
Costa A.; 50
Costanzo I.; 28
Cucco L.; 61
D'Alonzo A.; 53; 72
D'Errico V.; 51
Dalla Pozza M.C.; 27; 55
D'Ambrosio R.; 46
De Giusti M.; 36
De Gori N.; 40
De Medici D.; 36; 44
De Stefano L.; 32; 33
Decastelli L.; 38; 51; 74
Del Pio Luogo T.; 41
Delibato E.; 36; 44
Della Rotonda M.; 63

Di Giampietro G.; 73
 Di Giannatale E.; 17
 Di Luccio D.; 46
 Di Pasquale S.; 36
 Di Serafino G.; 17
 Dionisi A.M.; 3; 4; 25; 36; 48; 60; 62; 75
 Dipineto L.; 49
 Dumontet S.; 19; 66
 Durante G.; 36
 Ercoli L.; 61; 75
 Escher M.; 3; 68
 Fabbri I.; 53; 72
 Farneti S.; 71; 75
 Farro A.; 28
 Ferone M.R.; 41
 Ferreri C.; 68
 Ferrero M.P.; 51
 Filetici E.; 4; 44; 48; 60
 Fioretti A.; 49
 Fischetti R.; 53; 72
 Fisichella S.; 62
 Fontanarosa S.; 38
 Fraulo P.; 50
 Galati F.; 3
 Galiero G.; 26; 30; 31
 Gallina S.; 51; 74
 Gallo A.; 30
 Gargiulo A.; 49
 Gargiulo M.; 52
 Garofalo F.; 64
 Gasperetti L.; 53; 72
 Gattuso A.; 54
 Gelmini L.; 67
 Gentili G.; 25
 Gerolimetto E.; 55
 Gianfranceschi M.V.; 54
 Giannoni A.; 43
 Graziani C.; 3; 56
 Greco D.; 29
 Greco S.; 73
 Gruppo di Studio Enter-net; 56
 Guaita A.; 25; 54; 58
 Guarino A.; 26; 30; 31; 39; 43; 46; 50;
 63; 65
 Guidi F.; 17
 Iannelli D.; 21
 Iorio R.; 30
 Iovane G.; 20
 Juliano S.; 26
 La Tela I.; 43; 65
 Lena R.; 36
 Lettini A.A.; 5; 27; 48; 59
 Liuni F.F.; 74
 Longo A.; 59
 Losio M.N.; 36; 44
 Lucarelli C.; 4; 48; 60; 62
 Lucibelli M.G.; 30; 31
 Lucifora G.; 40
 Luongo L.; 31
 Luzzi I.; 3; 4; 13; 36; 44; 48; 56; 60; 62
 Macri N.; 40
 Magistrali C.; 61
 Mallardo K.; 49
 Mancin M.; 5; 27; 48
 Mancini L.; 36
 Mangiavillano A.; 13
 Manuppella A.; 13
 Marafin E.; 27; 59
 Marrocco M.G.; 73
 Marziano M.L.; 68
 Mazzei D.; 28
 Medici L.; 62
 Milioni C.; 53; 72
 Minelli F.; 34; 68
 Minorello C.; 5
 Molina M.; 13
 Morabito S.; 68
 Morena C.; 50
 Mughini Grass L.; 56
 Nappi R.; 31
 Nava D.; 43
 Nogarol C.; 74
 Olivetto L.; 38
 Owczarek S.; 4; 48; 60; 62
 Paglialonga F.; 34
 Pagnini U.; 20; 49
 Papa P.; 61
 Paradiso R.; 30
 Parisi A.; 18
 Parisi N.; 40
 Parlato Al.; 28
 Parlato An.; 28

Pasquale V.; 19; 66
 Pasquali D.; 25
 Peirce E.; 26; 46
 Pellicanò R.; 43; 63
 Perugini A.G.; 66
 Pesce A.; 64
 Piatti A.; 58
 Picciolli P.; 9
 Picotto P.; 36
 Pierozzi C.; 9
 Platone I.; 17
 Pongolini S.; 13
 Pontello M.M.; 25; 54; 58
 Proroga Y.T.R.; 10; 33; 65
 Ramon E.; 59
 Ranauro A.; 66
 Ribero A.; 38
 Ricchi A.; 46
 Ricci A.; 5; 27; 48; 55; 59
 Riccone N.; 31
 Rippa P.; 39
 Rivero C.; 40
 Rocca L.; 51
 Roccato A.; 5; 55
 Romano V.; 19; 66
 Rubinetti F.; 38
 Ruffa M.; 27
 Rugna G.; 67
 Russo S.; 28
 Russo T.P.; 49
 Saccardin C.; 27; 59
 Sacchini L.; 17
 Sala G.; 54
 Salardi S.; 34
 Salzano C.; 64
 Salzano M.; 32; 33
 Sarnelli P.; 46
 Scavia G.; 3; 34; 68; 69
 Schettini R.; 49
 Schettino C.; 52
 Scognamiglio A.; 39
 Scognamiglio R.; 52
 Scorpion V.; 71
 Scuota S.; 13; 61; 71; 75
 Senese M.; 53; 72
 Sinibaldi Vallebona P.; 44
 Sonnessa M.; 54
 Staffolani M.; 13; 62
 Stenico A.; 13
 Tentellini M.; 61
 Testa S.; 34
 Tolli R.; 73
 Torresani E.; 34
 Tozzoli R.; 68
 Traversa A.; 74
 Troiano T.; 66
 Veneri M.R.; 52
 Vio D.; 41
 Vita S.; 73
 Vitale N.; 38
 Zavagnin P.; 5; 55; 59
 Zicavo A.; 71; 75
 Zinno V.; 28
 Zoppi S.; 51
 Zorzut F.; 41
 Zottola T.; 20

*Stampato da Tipografia Facciotti srl
Vicolo Pian Due Torri 74, 00146 Roma*

Roma, aprile-giugno 2012 (n.2) 6° Suppl.