ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

RAPPORTI ISTISAN 17|34

ISSN: 1123-3117 (cartaceo) • 2384-8936 (online)

Enter-Net Italia e Registro italiano della sindrome emolitico uremica: sorveglianza delle infezioni da *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* produttore di Shiga-tossina e *Listeria monocytogenes* (2010-2015)

a cura di
I. Luzzi, A. García-Fernández, A.M. Dionisi, C. Lucarelli, A. Gattuso, M. Gianfranceschi, A. Maugliani, A. Caprioli, S. Morabito, G. Scavia

EPIDEMIOLOGIA E SANITÀ PUBBLICA

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

Enter-Net Italia e Registro italiano della sindrome emolitico uremica: sorveglianza delle infezioni da *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* produttore di Shiga-tossina e *Listeria monocytogenes* (2010-2015)

a cura di
Ida Luzzi (a), Aurora García-Fernández (a),
Anna Maria Dionisi (a), Claudia Lucarelli (a), Antonietta Gattuso (b),
Monica Gianfranceschi (b), Antonella Maugliani (b),
Alfredo Caprioli (b), Stefano Morabito (b), Gaia Scavia (b)

(a) Dipartimento Malattie Infettive
(b) Dipartimento Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria

ISSN: 1123-3117 (cartaceo) • 2384-8936 (online)

Rapporti ISTISAN
17/34

Istituto Superiore di Sanità
Enter-Net Italia e Registro italiano della sindrome emolitico uremica: sorveglianza delle infezioni da *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* produttore di Shiga-tossina e *Listeria monocytogenes* (2010-2015).
A cura di Ida Luzzi, Aurora García-Fernández, Anna Maria Dionisi, Claudia Lucarelli, Antonietta Gattuso, Monica Gianfranceschi, Antonella Maugliani, Alfredo Caprioli, Stefano Morabito, Gaia Scavia
2017, ii, 70 p. Rapporti ISTISAN 17/34

Le attività dei sistemi Enter-Net Italia e del Registro italiano della sindrome emolitico uremica assicurano la sorveglianza di laboratorio dei principali agenti batterici a trasmissione alimentare contribuendo in modo significativo ad alimentare i flussi europei di sorveglianza delle principali malattie trasmesse alimenti nell'ambito del programma *Foodborne and Waterborne* dello *European Centre for Disease Control and prevention*: infezioni da *Salmonella*, *Campylobacter, Escherichia coli* produttori di Shiga-tossina, *Listeria monocytogenes*, *Shigella* e *Yersinia*. Tali sistemi sono organizzati in reti territoriali di laboratori o centri clinici di riferimento del Servizio Sanitario Nazionale, coordinate dall'Istituto Superiore di Sanità che non solo raccoglie i dati microbiologici ed epidemiologici sui casi d'infezione ma completa, ove necessario, la tipizzazione dei ceppi clinici. Enter-Net Italia e il Registro italiano della sindrome emolitico uremica costituiscono anche importanti risorse per la diffusione sul territorio di allerte e a supporto dell'intervento durante eventi epidemici. Nel presente rapporto vengono riportati i risultati delle attività relativamente al periodo 2010-2015.

Parole chiave: Malattie trasmesse da alimenti; Sorveglianza; Zoonosi; Epidemiologia molecolare; Italia

Istituto Superiore di Sanità
Enter-Net Italia and the Italian registry of hemolytic uremic syndrome: surveillance of *Salmonella, Campylobacter*, Shiga-toxin producer *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* infections (2010-2015).
Edited by Ida Luzzi, Aurora García-Fernández, Anna Maria Dionisi, Claudia Lucarelli, Antonietta Gattuso, Monica Gianfranceschi, Antonella Maugliani, Alfredo Caprioli, Stefano Morabito, Gaia Scavia
2017, ii, 70 p. Rapporti ISTISAN 17/34 (in Italian)

The laboratory surveillance of the main foodborne bacterial pathogens is carried out in Italy, thanks to the activities of the Enter-Net Italia network and the Italian Registry of Hemolytic Uremic Syndrome. These activities contribute importantly to feed the European surveillance information systems of the Foodborne and Waterborne coordinated by the European Centre for Disease Control and prevention: infection associated with *Salmonella*, *Campylobacter,* Shiga-toxin producer *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Shigella* and *Yersinia.* Both systems are coordinated by the Istituto Superiore di Sanità (ISS) and rely on the networking of regional reference laboratories or clinical centres within the National Health System. Microbiological and epidemiological data from clinical cases are collected by the ISS which provides for a complete characterization of the isolates, if necessary. These surveillance networks play also an important role in case of epidemic events by alerting the peripheral laboratories/centres and supporting the adoption of control measures. Results of the surveillance activities in the period 2010-2015 are herein presented.

Key words: Foodborne diseases; Surveillance; Zoonoses; Molecular epidemiology; Italy

Si ringrazia Giancarlo Ripabelli e Manuela Tamburro per il prezioso lavoro di revisione del presente report.

Il rapporto è stato prodotto nell'ambito delle attività dei Progetti: "Sorveglianza delle malattie trasmesse da alimenti e acqua (Enter-Net): adeguamento del sistema italiano al quadro normativo europeo", realizzato con il supporto finanziario del Ministero della Salute (capitolo 4393 CCM) e "Gestione e trasferimento progressivo sorveglianze", realizzato con il supporto finanziario del Ministero della Salute (capitolo 4393 CCM).

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

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it.

Citare questo documento come segue:
Luzzi I, García-Fernández A, Dionisi AM, Lucarelli C, Gattuso A, Gianfranceschi M, Maugliani A, Caprioli A, Morabito S, Scavia G (Ed.). *Enter-Net Italia e Registro italiano della sindrome emolitico uremica: sorveglianza delle infezioni da* Salmonella, Campylobacter, Escherichia coli *produttore di Shiga-tossina e* Listeria monocytogenes *(2010-2015).* Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2017. (Rapporti ISTISAN 17/34).

Legale rappresentante dell'Istituto Superiore di Sanità: *Gualtiero Ricciardi*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 114 (cartaceo) e n. 115 (online) del 16 maggio 2014

Direttore responsabile della serie: *Paola De Castro*
Redazione*: Paola De Castro* e *Sandra Salinetti*
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori, che dichiarano di non avere conflitti di interesse.

© *Istituto Superiore di Sanità 2017*
viale Regina Elena, 299 – 00161 Roma

INDICE

PARTE 1
Sorveglianza delle malattie trasmesse da alimenti e acqua in Europa e in Italia

Contesto di sorveglianza delle malattie trasmesse da alimenti e acqua nell'Unione Europea

Gaia Scavia, Claudia Lucarelli, Monica Gianfranceschi, Stefano Morabito, Ida Luzzi, Stefania D'Amato 3

Sorveglianza di laboratorio dei principali batteri patogeni a trasmissione alimentare in Italia: la rete Enter-Net e il Registro italiano della Sindrome Emolitico Uremica

Aurora García-Fernández, Claudia Lucarelli, Antonietta Gattuso, Antonella Maugliani, Ida Luzzi, Gaia Scavia 6

PARTE 2
Risultati dell'attività di sorveglianza nel periodo 2010-2015

Salmonella

Aurora García-Fernández, Ida Luzzi, Anna Maria Dionisi, Slawomir Owczarek, Ildo Benedetti, Sergio Arena, Claudia Lucarelli 13

Campylobacter

Aurora García-Fernández, Ida Luzzi, Anna Maria Dionisi, Slawomir Owczarek, Ildo Benedetti, Sergio Arena, Claudia Lucarelli 26

Listeria monocytogenes

Monica Gianfranceschi, Dario De Medici, Alfonsina Fiore, Mirella Pontello, Giovanna Liguori, Giuliana Blasi, Antonietta Gattuso 31

***Escherichia coli* produttore di Shiga-Tossina**

Gaia Scavia, Antonella Maugliani, Valeria Michelacci, Fabio Minelli, Paola Chiani, Mario Giordano, Licia Peruzzi, Enrico Vidal, Carmine Pecoraro, Gianluigi Ardissino, Mario Luini, Ludwig Moroder, Rosangela Tozzoli, Alfredo Caprioli, Stefano Morabito 37

Sintesi dell'attività di sorveglianza del Registro Italiano SEU tra il 2010 e il 2015

Roberto Chimenz, Alessandra Gianviti, Mario Giordano, Silvio Maringhini, Marco Materassi, Giovanni Montini, Andrea Pasini, Carmine Pecoraro, Licia Peruzzi, Ilse Ratsch, Antonella Trivelli, Enrico Vidal, Gaia Scavia 47

Conclusioni

Ida Luzzi, Aurora García-Fernández, Anna Maria Dionisi, Claudia Lucarelli, Antonietta Gattuso, Monica Gianfranceschi, Antonella Maugliani, Alfredo Caprioli, Stefano Morabito, Gaia Scavia 52

Bibliografia..... 55

Appendice A
Centri partecipanti alla sorveglianza..... 61

Appendice B
Analisi della mortalità e incidenza delle complicanze derivanti da sindrome emolitico uremica nei centri partecipanti al Registro italiano SEU..... 65

PARTE 1
Sorveglianza delle malattie trasmesse da alimenti e acqua in Europa e in Italia

CONTESTO DI SORVEGLIANZA DELLE MALATTIE TRASMESSE DA ALIMENTI E ACQUA NELL'UNIONE EUROPEA

Gaia Scavia (a), Claudia Lucarelli (b), Monica Gianfranceschi (a), Stefano Morabito (a), Ida Luzzi (b), Stefania D'Amato (c)
(a) Dipartimento Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma
(b) Dipartimento Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma
(c) Direzione Generale della Prevenzione Sanitaria, Ministero della Salute, Roma

La prevenzione delle Malattie Trasmissibili di origine Alimentare (MTA) costituisce per l'Unione Europea (UE) una priorità e richiede un approccio coordinato tra gli Stati Membri. La Decisione 2119/98/CE istituisce una rete di sorveglianza epidemiologica e di controllo delle malattie trasmissibili nell'UE che, con il supporto della Commissione Europea, promuove la cooperazione e il coordinamento tra gli Stati Membri al fine di migliorare la prevenzione e il controllo di tali malattie.

Gli Stati Membri, secondo quanto disposto dalla Decisione 2000/96/CE, hanno il compito di raccogliere e trasmettere i dati di sorveglianza relativi ai casi di infezione da patogeni trasmessi da alimenti allo *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC). Tra le malattie a trasmissione alimentare sottoposte a sorveglianza troviamo le infezioni da *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* produttori di Shiga-tossina (*Shiga-toxin producer Escherichia coli*, STEC), *Listeria*, *Shigella e Yersinia*. Parallelamente, la *European Food Safety Authority* (EFSA) raccoglie, attraverso gli Stati Membri, i dati sulla prevalenza dei patogeni di origine zoonotica negli alimenti e nelle popolazioni animali serbatoio, nonché i dati sui focolai epidemici di malattie a trasmissione alimentare, secondo i principi e le priorità della Direttiva 2003/99/CE recepita in Italia dal DL.vo 191/2006 "Sorveglianza, monitoraggio e controllo delle zoonosi, degli agenti zoonotici e dei focolai di tossinfezione alimentare".

Il ruolo dei laboratori nella sorveglianza, prevenzione e controllo delle malattie trasmesse da alimenti è essenziale in quanto se per la diagnosi è sufficiente l'identificazione del patogeno dai campioni biologici prelevati da un sospetto caso di malattia, per poter identificare il veicolo alimentare e la fonte di contaminazione dell'alimento coinvolto sono in genere necessarie ulteriori caratterizzazioni del ceppo che ad oggi si basano su metodiche molecolari. Inoltre la tipizzazione fenotipica e genotipica degli agenti eziologici rappresenta uno strumento indispensabile per identificare tempestivamente i pericoli emergenti.

L'analisi su vasta scala dei dati relativi agli isolamenti dei patogeni da fonti umane e non umane ha generato importanti ricadute sulla capacità di lettura d'insieme dei trend epidemiologici delle infezioni da *Salmonella* e dagli altri patogeni trasmessi da alimenti. Ciò consente di analizzare le tendenze epidemiologiche osservate nella popolazione umana, nel tempo, nelle diverse aree geografiche e nei suoi diversi sottogruppi (fasce d'età, sesso, aree geografiche) e di correlarle con quelle osservate negli alimenti e nelle popolazioni animali serbatoio.

Dal 2007 la sorveglianza delle MTA nella UE è coordinata dall'ECDC nell'ambito di un programma specifico (*Foodborne and Waterborne Diseases*, FWD) che raccoglie periodicamente attraverso gli Stati Membri, le notifiche dei casi di infezione, definiti secondo criteri standard. I risultati di tale attività vengono pubblicati annualmente insieme ai dati sul monitoraggio dei patogeni negli alimenti, nelle popolazioni animali serbatoio e nei mangimi, coordinato dall'EFSA

che cura anche la raccolta degli esiti delle indagini epidemiologiche condotte nei focolai epidemici di MTA.

Il programma FWD dell'ECDC, dedicato alle malattie trasmesse da alimenti e acqua, include la sorveglianza dei casi umani di infezione causati da numerosi agenti patogeni. Tra questi, le infezioni considerate di importanza prioritaria sono quelle associate a *Brucella* spp., *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Shigella* spp., STEC e *Yersinia* spp. Le attività di sorveglianza si articolano attraverso la raccolta dei dati nel sistema TESSy (*The European Surveillance System*). Questo ha il duplice obiettivo di stimare l'incidenza dei casi di infezione associati ai diversi patogeni nel corso del tempo e nei diversi Stati Membri, fornire informazioni sulle caratteristiche dei casi d'infezione, compresi i fattori di rischio e permettere una descrizione dettagliata e completa delle caratteristiche fenotipiche e genotipiche dei ceppi batterici ad essi associati.

La sorveglianza delle MTA nella UE è completata dal sistema di allerta EPIS (*Epidemic-intelligence and information System*), dedicato a creare tra gli Stati Membri una rete per la segnalazione rapida e lo scambio di informazioni sulle situazioni di potenziale rischio epidemico transnazionale da patogeni trasmessi da alimenti.

Di seguito vengono riassunte le principali caratteristiche dei flussi informativi che fanno capo ai sistemi TESSy ed EPIS:

- TESSy *indicator-based surveillance*
  Costituisce il sistema tradizionale di sorveglianza basato sul rilevamento e notifica dei casi di MTA nell'uomo e sull'elaborazione di indicatori clinici (es. letalità) ed epidemiologici (es. tasso annuale di notifica) basati sulla popolazione. È la fonte informativa principale per descrivere le frequenze e le tendenze delle MTA nella popolazione e nel tempo. Si basa sulla raccolta dei dati relativi ai casi di malattia definiti secondo criteri standard (caso possibile, probabile e confermato) di tipo clinico, diagnostico e di laboratorio. Anche le informazioni sulle caratteristiche dei pazienti, sui principali fattori di rischio (es. vie di trasmissione, esposizione ad alimenti contaminati) e sugli esiti della malattia clinica sono codificate. Ciò consente di armonizzare la raccolta dei dati sui casi di MTA nell'UE e di rendere confrontabili tra loro i dati raccolti dai diversi Stati Membri. Oltre alla diffusione annuale nel *Summary Report on Zoonoses* pubblicato annualmente da EFSA ed ECDC, i dati raccolti dal sistema *TESSy-indicator based* possono essere consultati anche attraverso un atlante online (disponibile dal sito dell'ECDC http://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx) che consente di effettuare interrogazioni specifiche del database.

- TESSy *isolate-based surveillance*
  A partire dal 2012, l'ECDC ha avviato la raccolta di dati sulla caratterizzazione genetica degli isolati di *Salmonella*, *Listeria* e STEC associati ai casi di malattia. I dati sono trasmessi direttamente all'ECDC attraverso la sincronizzazione dei database nazionali ed europeo, ed unitamente ad un set di informazioni cliniche ed epidemiologiche sui casi di malattia (van Walle, 2013). Attualmente le tecniche di tipizzazione molecolare considerate nell'ambito del sistema sono la *Pulsed-Field Gel Electrophoresis* (PFGE) per tutti e tre i patogeni e la *Multiple-Locus Variable-number tandem repeat Analysis* (MLVA) limitatamente a *S.* Typhimurium, *S.* Typhimurium variante monofasica e *S.* Enteritidis. La finalità di questo flusso informativo è quella di favorire l'attribuzione di una nomenclatura standardizzata, ai diversi tipi genetici, individuare precocemente l'emergenza di nuovi cloni associati a malattia clinica ed identificare tempestivamente i cluster epidemici a carattere transnazionale, analogamente a quanto viene effettuato dal più noto sistema PulseNet (Ribot & Hise, 2016). Il sistema TESSy molecolare è completato da un database parallelo, destinato a raccogliere informazioni sugli isolati di *Salmonella*, *Listeria* e STEC

nel settore alimentare e veterinario, al fine di consentire un'analisi comparativa congiunta (EFSA, 2014). Il beneficio dell'approccio molecolare alla sorveglianza delle MTA risiede nella possibilità di stimare con notevole accuratezza il grado di similarità genetica tra ceppi isolati da fonti diverse, quali uomo, animali, alimenti e ambiente, al fine di derivarne informazioni utili alla comprensione e descrizione del ciclo epidemiologico di trasmissione delle MTA all'uomo. I dati sui profili di PFGE così raccolti nel TESSy *isolate-based surveillance* vengono confrontati tra di loro per identificare cluster transnazionali, con ceppi isolati in almeno due Stati Membri. Quando ciò si verifica viene attivata una specifica allerta (*Molecular Typing Cluster Investigations*, MTCI) che viene diffusa tramite il sistema EPIS e inviata agli Stati Membri coinvolti. Nella MTCI viene fornita, se del caso, l'indicazione delle azioni necessarie per approfondire ulteriormente sul piano epidemiologico la rilevanza del cluster in termini di sanità pubblica.

– *Epidemic Intelligence Information System* (EPIS)
  Il sistema EPIS è attivo dal 2010 e comprende tutti gli Stati Membri dell'UE e 8 Paesi extra-UE. È un sistema complementare al TESSy e fornisce la necessaria flessibilità e tempestività nella raccolta delle informazioni sugli eventi a potenziale rischio epidemico che i tradizionali sistemi di sorveglianza di popolazione generalmente non consentono. Tale approccio, cosiddetto di *event-based surveillance*, sfrutta le funzionalità delle tecnologie informatiche web, quali piattaforme di scambio e condivisione di dati simile alle piattaforme dei social network, che consentono una rapida disseminazione di informazioni solo parzialmente strutturate. Il sistema è ad accesso riservato ed è finalizzato a disseminare tempestivamente le allerte su eventi inattesi e situazioni di potenziale allarme, riconducibili a focolai epidemici di MTA. EPIS è strettamente collegato al sistema molecolare TESSy e si configura primariamente come strumento di *networking* dedicato ai microbiologi ed epidemiologi autorizzati dall'autorità competente (AC) di ciascun Paese. In tal senso completa, sul piano tecnico-scientifico, i sistemi cogenti di allerta e risposta rapida dell'UE per la salute pubblica (*Early warning and Response System*, EWRS) e RASFF (*Rapid Alert System for Food and Feed*) nel settore alimentare, che vedono coinvolte le autorità competenti.

Nell'interpretare e confrontare i dati di sorveglianza europei, occorre sottolineare che sebbene l'ECDC coordini tali flussi e sostenga la sorveglianza delle MTA in UE attraverso la produzioni di standard armonizzati, (es. definizioni di caso, produzione di POS per la tipizzazione e caratterizzazione degli isolati di *L. monocytogenes* armonizzate con il settore veterinario), strumenti operativi (es. toolkit per l'indagine dei focolai epidemici) e attività di armonizzazione e verifica delle performance analitiche dei laboratori (es. circuiti interlaboratorio), la modalità di attuazione della sorveglianza della MTA da parte di ciascuno Stato Membro resta soggetta a forti variazioni legate alla diversa organizzazione dei sistemi sanitari, disponibilità di risorse e routine diagnostiche, oltre che alle differenze nelle popolazioni in studio e nelle loro abitudini alimentari. Ciò si riflette in modo importante sui livelli di sensibilità delle attività di sorveglianza in ciascuno Stato Membro che possono essere assai diversi. L'interpretazione comparativa delle informazioni richiede dunque cautela.

SORVEGLIANZA DI LABORATORIO DEI PRINCIPALI BATTERI PATOGENI A TRASMISSIONE ALIMENTARE IN ITALIA: LA RETE ENTER-NET E IL REGISTRO ITALIANO DELLA SINDROME EMOLITICO UREMICA

Aurora García-Fernández (a), Claudia Lucarelli (a), Antonietta Gattuso (b), Antonella Maugliani (b), Ida Luzzi (a), Gaia Scavia (b)
(a) Dipartimento di Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma
(b) Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

In Italia, le principali malattie batteriche a trasmissione alimentare sono soggette a notifica obbligatoria in classe II (casi sporadici) e in classe IV (focolai epidemici), ai sensi del DM 15 dicembre 1990. Il flusso informativo che ne deriva è la principale fonte dei dati, per il sistema europeo TESSy (*The European Surveillance System*) *indicator-based.* Accanto a tale flusso, la rete di sorveglianza di laboratorio Enter-Net (*Enteric pathogen Network*) Italia (www.iss.it/ente) e il Registro italiano della Sindrome Emolitico Uremica (SEU) (www.iss.it/seu) consentono la raccolta di informazioni cliniche, epidemiologiche e microbiologiche (sierotipizzazione e caratterizzazione dei ceppi batterici isolati dai casi clinici) utili al completamento dei flussi TESSy *indicator-based* e TESSy *isolate-based* previsti per la sorveglianza delle infezioni da *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria* e *Escherichia coli* produttori di Shiga-tossina (*Shiga-toxin producer Escherichia coli*, STEC). Enter-Net Italia e il Registro SEU sono anche le principali fonti informative utilizzate per rispondere alle allerte del sistema EPIS (*Epidemic Intelligence Information System*) (in Appendice A i centri partecipanti). L'Italia partecipa stabilmente a tali sorveglianze, fin dal loro avvio nel 2007. In tale ambito l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) funge da *Focal Point* per l'ECDC (*European Centre for Disease Prevention and Control*), a supporto del Ministero della Salute, per il coordinamento del programma FWD (*Foodborne and Waterborne Diseases*). Da segnalare infine che dal 2014 entrambi i sistemi sono riconosciuti del Sistema Statistico Nazionale (SISTAN).

Il sistema Enter-Net Italia prevede la registrazione degli isolamenti di patogeni da campioni umani e ambientali. Fin dal suo avvio, il programma Enter-Net si è articolato prevalentemente su reti di sorveglianza per le infezioni da *Salmonella*, *Campylobacter* e STEC. Dal 2010 rientra tra i patogeni oggetto di sorveglianza anche la *L. monocytogenes.* La sorveglianza degli STEC è attuata in stretta connessione con le attività del Registro SEU, che raccoglie i dati sui casi di SEU, la più grave mainfestazione clinica delle infezioni da STEC, e sulle caratteristiche dei ceppi ad essi correlati.

La rete di sorveglianza Enter-Net Italia ha i seguenti obiettivi:

- ottenere dati descrittivi sugli isolamenti dei patogeni oggetto di studio (*Salmonella*, *Campylobacter*, *L. monocytogenes*, STEC) e altri batteri enteropatogeni, sul territorio italiano in tempi rapidi dal momento della diagnosi;
- descrivere le caratteristiche feno-genotipiche dei ceppi isolati attraverso protocolli standardizzati e limitatamente agli isolati di *Salmonella*, *L. monocytogenes* e STEC e assicurare la trasmissione dei dati di tipizzazione al flusso TESSy *isolate-based*;

- analizzare i dati di sorveglianza in modo da individuare tempestivamente eventuali eventi epidemici sul territorio nazionale (basandosi anche sulla tipizzazione dei ceppi isolati);
- confrontare i risultati della sorveglianza sul territorio italiano con quelli di altri Paesi europei che partecipano alla rete FWD dell'ECDC;
- supportare la ricerca attiva di casi potenzialmente connessi a eventi epidemici transnazionali che possono interessare più di una nazione;
- favorire lo sviluppo e la disseminazione di materiali di riferimento e metodi di caratterizzazione feno-genotipica, armonizzati col settore veterinario al fine di consentire l'integrazione e l'analisi comparativa delle informazioni di sorveglianza.

Il presente rapporto ha l'obiettivo di descrivere le attività di sorveglianza delle infezioni da *Salmonella, Campylobacter, L. monocytogenes* e STEC, in Italia tra il 2010 e il 2015 e di fornire una valutazione critica dei risultati e degli strumenti metodologici, alla luce del mandato normativo e rispetto all'attuale assetto di sorveglianza delle malattie trasmesse da alimenti. I dati analizzati si riferiscono ai casi infezione da *Salmonella*, *Campylobacter*, *L. monocytogenes*, STEC ed ai casi di SEU diagnosticati in Italia tra il 1° gennaio 2010 e il 31 dicembre 2015 (dati estratti in data 7 settembre 2016).

Organizzazione del sistema Enter-Net Italia

Il Dipartimento Malattie Infettive e il Dipartimento Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria dell'ISS coordinano la rete di sorveglianza Enter-Net Italia che si avvale della collaborazione di laboratori regionali di riferimento nell'ambito del Servizio Sanitario Nazionale (SSN). Questi sono designati dall'Autorità Competente di ciascuna regione presso Istituti Universitari ovvero Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IZS), Agenzie Regionali per la Protezione Ambientale (ARPA) e con la collaborazione di Società Scientifiche. I laboratori regionali di riferimento sono i centri di riferimento per i laboratori di primo livello che operano nell'ambito del territorio regionale. Questa organizzazione ramificata consente di valorizzare le risorse e le capacità diagnostiche e di tipizzazione presenti sul territorio ed è finalizzata a fornire una descrizione rappresentativa delle caratteristiche feno-genotipiche dei ceppi circolanti nella popolazione, garantendo un livello progressivamente più discriminante di caratterizzazione degli isolati.

I laboratori territoriali che partecipano alla rete Enter-Net Italia inviano i campioni o gli isolati clinici, insieme alle informazioni clinico-epidemiologiche, ai laboratori regonali di riferimento che generalmente provvedono a confermare l'identificazione del patogeno e ad effettuare ulteriori determinazioni analitiche per la caratterizzazione feno-genotipica, compreso l'antibiogramma, degli isolati. A loro volta i laboratori regionali di riferimento provvedono a inviare periodicamente all'ISS le informazioni sulle caratteristiche degli isolati, congiuntamente ai dati clinici-epidemiologici, e/o il ceppo batterico stesso.

La trasmissione dei dati di tipizzazione e delle informazioni cliniche all'ISS avviene per via telematica mediante la compilazione di una scheda online. L'accesso è regolato dal riconoscimento del responsabile del laboratorio di riferimento mediante codice identificativo e password. Le informazioni richieste includono nome e codice del laboratorio di origine, codice laboratorio regionale di riferimento, regione, provincia e comune dove è stato effettuato il prelievo, data del prelievo, motivo dell'esame (controllo, inchiesta epidemiologica o fase acuta), tipo di campione (feci, sangue, urine, ecc.), dati anagrafici del paziente, eventuali viaggi effettuati, ospedalizzazione, eventuali alimenti implicati, identificazione dell'agente patogeno, tipizzazione

e antibiogramma. Il sistema prevede anche l'inserimento di campioni non umani, come isolati da campioni ambientali o alimenti.

Analisi fenotipica e molecolare dei ceppi isolati

La tipizzazione sierologica è la metodica fenotipica tradizionale utilizzata per la caratterizzazione dei ceppi di *Salmonella spp*. (Grimont & Xavier-Weill, 2007), *L. monocytogenes* e STEC (Germinario *et al*., 2016). Tuttavia, ai fini epidemiologici, il potere discriminante di tale metodo è molto spesso insufficiente. Ciò implica la necessità di ricorrere a tecniche di tipizzazione molecolare come la PFGE (*Pulsed-Field Gel Electrophoresis*). Sebbene oggi superata da tecniche più sofisticate che consentono anche di effettuare analisi filogenetiche, in particolare dal *Whole Genome Sequencing* (WGS), la PFGE continua ad essere considerata l'attuale riferimento per la subtipizzazione di tali patogeni, anche dai sistemi PulseNet e TESSy (Jensen *et al.*, 2017; Ribot & Hise, 2016). A tutt'oggi, infatti, sebbene il WGS sia destinato a rappresentare lo standard futuro per la subtipizzazione, la sua applicabilità in campo da parte non già di un singolo centro ma di un network di laboratori, nel contesto di un sistema di sorveglianza richiede ulteriori passaggi di standardizzazione (es. nomenclatura), la disponibilità di risorse e la definizione di requisiti oggi non sempre facilmente reperibili.

Nell'attuale sistema i laboratori periferici costituiscono il primo livello nel quale vengono isolati ed identificati gli stipiti batterici patogeni. I centri di riferimento regionali eseguono la tipizzazione sierologica, i saggi di sensibilità agli antibiotici previsti dal protocollo, e se disponibile, la tipizzazione mediante PFGE. I dati delle tipizzazioni ed una selezione rappresentativa dei ceppi isolati vengono inviati all'ISS.

L'ISS riceve ed analizza i dati provenienti dal territorio nazionale, fornisce supporto microbiologico per una tipizzazione più approfondita degli stipiti batterici e dei sierotipi di *Salmonella* inusuali o non tipizzabili, realizza saggi di sensibilità agli antibiotici, la PFGE e/o WGS quando è opportuno.

Per quanto riguarda le infezioni da STEC, l'ISS come laboratorio di riferimento per *E. coli* oltre ad effettuare le attività di conferma dei caratteri di virulenza tipici degli STEC e di caratterizzazione molecolare dei ceppi STEC, effettua anche diagnosi di primo livello a partire da campioni biologici dei pazienti. Ciò a causa della scarsa disponibilità diagnostica per STEC nei laboratori di primo livello. In particolare tale attività viene effettuata nell'ambito del Registro Italiano SEU, a supporto dei centri di nefrologia che ricoverano i pazienti con SEU.

I profili elettroforetici dei ceppi vengono analizzati mediante il software Bionumerics (Applied-Maths, Saint-Martens-Latem, Belgium; v. 6.6). Fino al 2012 i profili elettroforetici venivano confrontati con librerie di profili codificati mediante una nomenclatura internazionale definita nell'ambito del progetto Pulse-Net Europa che aveva come scopo di organizzare una rete di sorveglianza molecolare europea delle malattie trasmesse da alimenti (Swaminathan *et al*., 2006). A partire dal 2013 il database europeo di profili di PFGE depositati nell'ambito della rete Pulse-Net e gestito dallo Statens Serum Institut (SSI) (Copenhagen, Danimarca) è passato sotto la responsabilità dell'ECDC che ha attivato il sistema TESSy *isolate-based*. Attraverso l'applicazione web (https://tessy.ecdc.europa.eu/), l'ISS sottomette direttamente al sito i profili di PFGE ottenuti, ai quali viene assegnato un pulsotipo, in tempo reale, in base al confronto con tutti i profili inseriti a livello europeo (van Walle, 2013).

Dal 2013, l'ISS partecipa regolarmente anche ai circuiti di controllo di qualità esterno (*External Quality Assessment*, EQA) europei che prevedono l'esecuzione della PFGE e l'analisi mediante Bionumerics di ceppi di *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* e STEC. La valutazione viene effettuata da parte dello SSI di Copenhagen, che opera su mandato dell'ECDC e viene

effettuata separatamente sulla qualità del gel e sull'analisi informatica. I parametri considerati per la qualità del gel sono: le condizioni di corsa, la sospensione batterica, la qualità delle bande, il fondo del gel e l'eventuale degradazione del DNA. Il punteggio può essere 1 (*poor*), 2 (*fair*), 3 (*good*) o 4 (*excellent*). Per quanto riguarda l'analisi informatica vengono presi in considerazione: la posizione del gel, l'assegnazione delle bande, le curve densitometriche, la normalizzazione e l'assegnazione delle bande. Il punteggio anche in questo caso va da 1 a 4 (Schjørring *et al*., 2016). Allo stesso modo quando l'ISS sottomette i profili PFGE di routine, vengono tenuti in considerazione gli stessi parametri che, se non rispettati, portano al rifiuto dell'arichiviazione del profilo PFGE da parte del sistema.

È utile sottolineare che per migliorare l'armonizzazione tra il settore della sanità pubblica e quello degli alimenti / animali / mangimi, nel 2010, 2012 e nel 2015, l'EQA europeo relativo agli STEC ha visto coinvolti nello stesso circuito, i laboratori dei vari settori. Questi hanno effettuato le determinazioni analitiche richieste con protocolli comuni.

Registro italiano SEU

L'informazione sui casi di infezione da STEC registrati in Italia deriva prevalentemente dall'attività diagnostica svolta presso l'ISS nell'ambito della sorveglianza del Registro italiano SEU. Tale sorveglianza è basata sulla raccolta di informazioni relative ai pazienti, alle caratteristiche della malattia clinica (esordio, gravità, ecc.) e dei ceppi STEC associati alla manifestazione più grave e tipica delle infezioni da STEC. In termini di sanità pubblica la SEU è considerata un robusto e sensibile indicatore della circolazione di STEC nella popolazione.

La SEU è una malattia rara, di notevole gravità, che colpisce in modo particolare i bambini. Rappresenta la causa principale di insufficienza renale acuta in età pediatrica ed è caratterizzata da anemia emolitica microangiopatica, piastrinopenia e insufficienza renale acuta (Karpman *et al*., 2017; Tarr *et al*., 2005).

In assenza di obbligo di notifica, la sorveglianza della SEU e delle infezioni da STEC in Italia è resa possibile, fin dal 1988, grazie alle attività del Registro italiano SEU coordinato dall'ISS e dalla Società Italiana di Nefrologia Pediatrica (Scavia *et al*., 2011a). La copertura del Registro sull'intero territorio nazionale è assicurata dalla partecipazione di tutti i principali centri di nefrologia pediatrica presenti in Italia. Quasi sempre i pazienti con SEU necessitano di dialisi che può essere effettuata soltanto presso tali strutture. Questi centri sono le unità che registrano sull'intero territorio nazionale, in modo continuativo i casi di SEU e raccolgono i dati clinici, anamnestici ed epidemiologici che vengono trasmessi all'ISS. La segnalazione dei casi di SEU, specialmente quelli più lievi che non necessitano di trattamento nei centri nefrologici specializzati, viene comunque effettuata anche da altri ospedali. Nella Figura 1 sono riassunte schematicamente le attività ed i relativi flussi operativi del Registro SEU.

I campioni biologici dei pazienti con SEU segnalati al Registro vengono inviati dai centri ospedalieri al Laboratorio Nazionale di Riferimento (LNR) per *E. coli* dell'ISS e sottoposti ad indagini per STEC. L'ISS provvede inoltre ad avviare una preliminare indagine epidemiologica nei pazienti con SEU o i loro familiari, mediante un questionario standardizzato per la raccolta delle informazioni sui principali fattori di rischio di tipo alimentare, ambientale, comportamentale (contatto con animali), sulla frequentazione di comunità scolastiche/ricreative e sui contatti con persone potenzialmente infette, ecc.

Per favorire il ricollegamento con le attività di controllo e prevenzione da parte dei soggetti dell'SSN competenti sul territorio, quando si verifica un episodio di SEU, l'ISS provvede a segnalare il caso alle autorità territorialmente competenti (Aziende Sanitarie Locali, Regioni, Ministero della Salute) ed agli, Istituti Zooprofilattici unitamente alle informazioni diagnostiche

ed epidemiologiche. Fornisce inoltre supporto per le ulteriori attività di indagine epidemiologica e microbiologica sulle potenziali sorgenti di infezione, sia nel settore della sanità pubblica sia nel settore veterinario della sicurezza alimentare e della sanità animale.

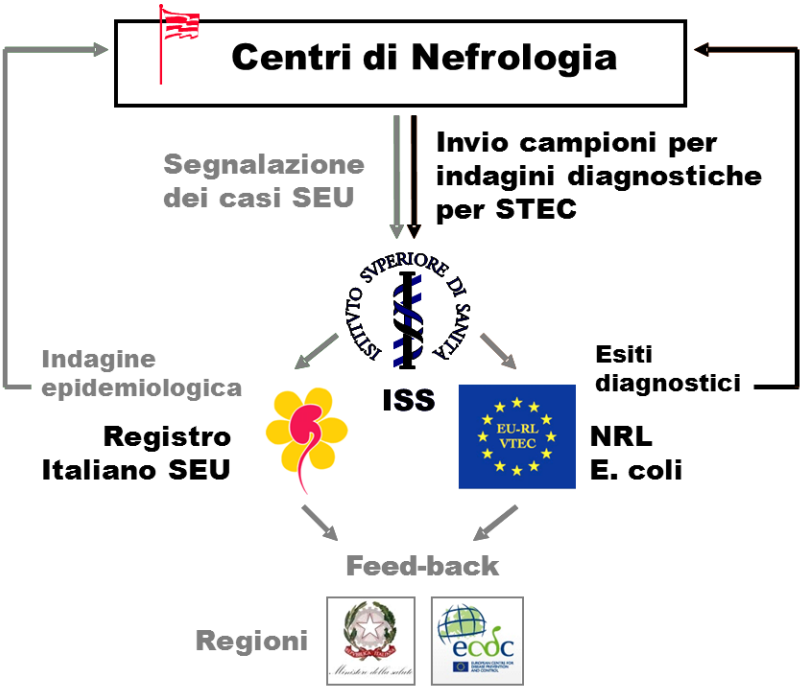


Figura 1. *Workflow* della rete di sorveglianza del Registro italiano SEU e delle attività diagnostiche e di raccolta e analisi dei dati epidemiologici

I dati raccolti dal Registro SEU sono inviati periodicamente all'ECDC nell'ambito della sorveglianza TESSy sulle infezioni da STEC, di cui costituiscono la principale fonte informativa per l'Italia. Analogamente consentono di segnalare o rispondere alle allerte EPIS sui potenziali fenomeni epidemici, nonchè disseminare eventuali allerte epidemiche sul territorio, utilizzando la rete dei centri di nefrologia partecipanti.

PARTE 2
Risultati dell’attività di sorveglianza nel periodo 2010-2015

SALMONELLA

Aurora García-Fernández, Ida Luzzi, Anna Maria Dionisi, Slawomir Owczarek, Ildo Benedetti, Sergio Arena, Claudia Lucarelli
Dipartimento Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Le infezioni provocate da *Salmonella* si distinguono in forme tifoidee causate da *S*. Typhi e *S*. Paratyphi, a trasmissione interumana, e forme non tifoidee, causate dalle cosiddette salmonelle minori, responsabili di forme cliniche a prevalente manifestazione gastroenterica.

Le febbri tifoide/paratifoide sono considerate malattie rare nei Paesi dell'Unione Europea (UE), e se ne registrano casi principalmente legati a viaggi in aree endemiche (Crump & Mintz, 2010).

Le salmonelle non tifoidee, distinte in oltre 2500 sierotipi, sono una delle cause più frequenti di infezioni trasmesse da alimenti nel mondo industrializzato. I principali serbatoi delle salmonelle non tifoidee sono rappresentati dagli animali, sia da reddito che selvatici e la trasmissione all'uomo avviene attraverso il consumo di alimenti ed acqua contaminate. La gravità dei sintomi varia dai semplici disturbi del tratto gastrointestinale (febbre, dolore addominale, nausea, vomito e diarrea) fino a forme cliniche più gravi (batteriemie o infezioni focali) che si verificano soprattutto in soggetti fragili (anziani, bambini ed immunocompromessi). I sintomi della malattia possono comparire tra le 6 e le 72 ore dall'ingestione di alimenti contaminati e si protraggono per 4-7 giorni. Nella maggior parte dei casi la malattia ha un decorso benigno e non richiede l'ospedalizzazione. Talvolta l'infezione può aggravarsi al punto tale da rendere necessario il ricovero ed una terapia antibiotica (Graziani *et al.*, 2005; Graziani *et al*., 2017).

Isolamenti di *Salmonella* non tifoidea da infezioni umane

Nel periodo 2010-2015, sono stati raccolte informazioni relative a 27.989 ceppi di *Salmonella* spp. isolati da casi umani. Nella Tabella 1 è mostrata la distribuzione del tasso di isolamento di *Salmonella* spp. per 100.000 abitanti, per anno e per regione. Come per gli anni precedenti, si possono osservare notevoli differenze, difficilmente riconducibili soltanto ad una diversa incidenza delle infezioni da *Salmonella* spp. tra le regioni ma più probabilmente ascrivibili alla diversa sensibilità della sorveglianza nelle varie aree geografiche. Ciò a causa della copertura regionale delle attività di sorveglianza non sempre omogenea, per la partecipazione alla sorveglianza talvolta discontinua, e alla mancata designazione in alcuni regioni del laboratorio di riferimento.

Complessivamente nel periodo 2010-2015, il numero di isolati di *Salmonella* spp. raccolti dalla rete Enter-Net Italia è andato riducendosi sensibilmente. Mentre fino al 2013 venivano riportati circa 5.000 isolati all'anno (Figura 1), dal 2014 si è avuta una netta diminuzione fino ad arrivare a 2.716 isolati nel 2015. Questa diminuzione può essere dovuta ad una reale contrazione dei casi incidenti di salmonellosi nella popolazione, come riportato anche in altri Paesi della UE (EFSA, 2016), ma anche rappresentare un artefatto dovuto ai motivi più sopra citati.

In questi ultimi sei anni la distribuzione delle notifiche ad Enter-Net Italia per area territoriale ha rispecchiato la situazione degli anni precedenti: l'81% degli isolamenti è stato riportato dalle regioni

del Nord Italia, il 16% dal Centro e solo il 3% dal Sud Italia ed isole. Il tasso medio annuale di isolamento per 100.000 variava dal 10,5 del 2010 fino al 5,9 del 2015.

Tabella 1. *Salmonella* spp.: isolamenti per 100.000 abitanti, per anno e regione (Enter-Net Italia 2010-2015)*

Regione/Provincia Autonoma	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Umbria	29,3	17,2	14,2	19,0	21,1	16,5
Lombardia	24,9	24,0	21,9	21,0	20,5	13,6
Valle d'Aosta	24,2	29,6	30,4	18,7	13,3	15,6
PA Bolzano	24,1	15,4	18,7	16,2	12,2	14,7
PA Trento	21,0	29,6	38,3	20,7	14,5	22,0
Friuli-Venezia Giulia	13,4	9,7	6,2	5,1	0,4	8,4
Emilia-Romagna	12,5	15,4	21,8	20,9	8,7	-
Molise	11,2	8,9	8,3	12,4	3,8	5,4
Piemonte	10,4	6,0	13,7	15,4	12,6	9,5
Veneto	10,3	8,8	5,4	6,6	1,2	-
Marche	9,1	7,5	12,1	10,4	8,8	5,2
Lazio	6,5	5,7	6,0	6,6	4,8	5,1
Abruzzo	4,9	0,2	0,5	1,7	8,8	1,3
Liguria	3,7	2,0	1,4	-	-	-
Sardegna	2,6	3,4	1,5	1,1	0,1	-
Toscana	1,9	0,6	0,1	-	-	-
Puglia	0,8	1,0	2,7	1,8	1,7	0,5
Campania	0,2	0,4	0,7	0,7	0,4	0,4
Calabria	-	-	-	2,8	2,0	0,5
tasso medio nazionale	10,5	9,3	10,2	9,1	6,7	5,9

*sono state escluse le regioni che non hanno riportato isolamenti
-= nessun isolato riportato

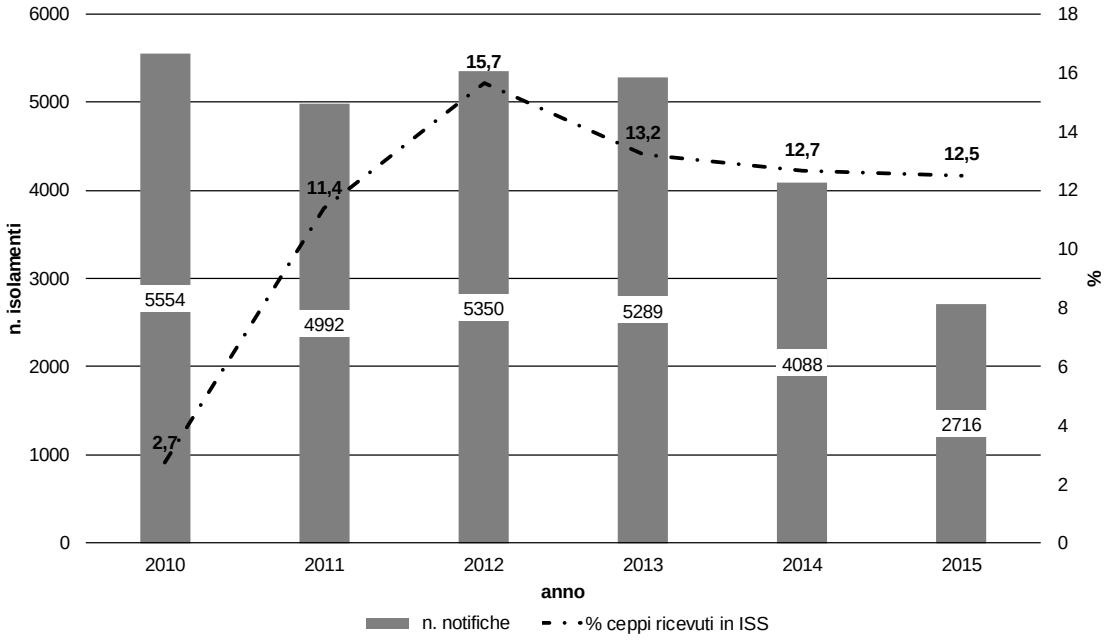


Figura 1. *Salmonella* spp.: ceppi notificati e ceppi ricevuti (%) in ISS (Enter-Net Italia 2010-2015)

Durante il periodo 2010-2015 sono pervenuti all'ISS, 3115 ceppi di *Salmonella* spp. isolati da casi umani, che rappresentavano l'11,1% di quelli riportati alla rete Enter-Net Italia (Figura 1). I ceppi provenivano per il 43% dal Lazio, 22% da Trento, 11% dal Piemonte, 7% dalle Marche, 3% dalla Lombardia e il restante 14% da altre 11 regioni.

Distribuzione dei sierotipi in Italia

Tra il 2010 e il 2015, *S.* Typhimurium, *S.* Typhimurium variante monofasica (4,5,12: i-), *S.* Enteritidis e *S.* Napoli sono stati i sierotipi più frequentemente registrati rappresentando nel complesso il 70,8% di tutti i sierotipi di *Salmonella* registrati nel sistema Enter-Net Italia (Tabella 2). Per il 3,8% degli isolati l'informazione sul sierotipo non era disponibile.

Tabella 2. Distribuzione dei sierotipi di *Salmonella* più frequentemente isolati nel periodo 2010-2015

Sierotipo	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Totale	%
4,5,12:i-	1035	1437	2064	2038	1701	1048	9323	33,3
Typhimurium	1997	1439	1276	967	631	360	6670	23,8
Enteritidis	590	537	436	473	328	250	2614	9,3
Napoli	189	212	207	244	240	149	1241	4,4
Derby	184	171	142	150	119	92	858	3,1
Infantis	76	97	60	105	89	68	495	1,8
Panama	55	46	108	85	39	52	385	1,4
Muenchen	109	44	49	83	39	27	351	1,3
Rissen	58	55	64	46	45	29	297	1,1
London	27	44	56	68	66	27	288	1,0
Brandenburg	32	58	50	57	53	15	265	0,9
Thompson	24	76	40	45	22	30	237	0,8
Give	45	30	32	63	24	32	226	0,8
Newport	55	45	45	32	17	16	210	0,8
Goldcoast	26	39	31	35	50	27	208	0,7
Typhi	22	39	38	31	32	23	185	0,7
Bovismorbificans	28	51	36	31	8	13	167	0,6
Hadar	54	37	22	21	6	4	144	0,5
Saintpaul	19	34	21	29	28	10	141	0,5
Bredeney	25	16	23	23	19	25	131	0,5
Altro	904	485	550	663	532	419	3553	12,7

Nel periodo 2010-2015, *S.* Enteritidis e *S.* Typhimurium appaiono con una frequenza di isolamento inferiore rispetto al periodo 1990-2000 (Graziani *et al*., 2013) in cui erano i sierotipi di *Salmonella* maggiormente isolati. A partire dal 2012 questi sierotipi sono stati isolati meno frequentemente rispetto a *S.* Typhimurium variante monofasica che si afferma come il sierotipo maggiormente prevalente tra i casi riportati ad Enter-Net.

Tra i sierotipi maggiormente prevalenti si osserva una stagionalità più marcata per *S.* Enteritidis, *S.* Infantis, *S.* Napoli e *S.* Derby rispetto a *S.* Typhimurium e *S.* Typhimurium variante monofasica che risultano più costanti durante tutto l'anno (Figura 2).

I principali sierotipi riportati dalle regioni che registravano annualmente tassi di isolamento superiori a 5 per 100.000 (eccezion fatta per l'Emilia Romagna nel 2015) sono mostrati nella Figura 3. A livello regionale si osservano variazioni nella frequenza dei vari sierotipi probabilmente dovute ad una differente incidenza dell'infezione nelle popolazioni delle diverse regioni ovvero a sistemi di sorveglianza con differente sensibilità, sia rispetto a casi sporadici che agli episodi epidemici. Ciò nonostante *S.* Typhimurium variante monofasica è stato il sierotipo più frequente in tutte le regioni ad eccezione della provincia Autonoma di Bolzano dove prevaleva invece *S.* Enteritidis.

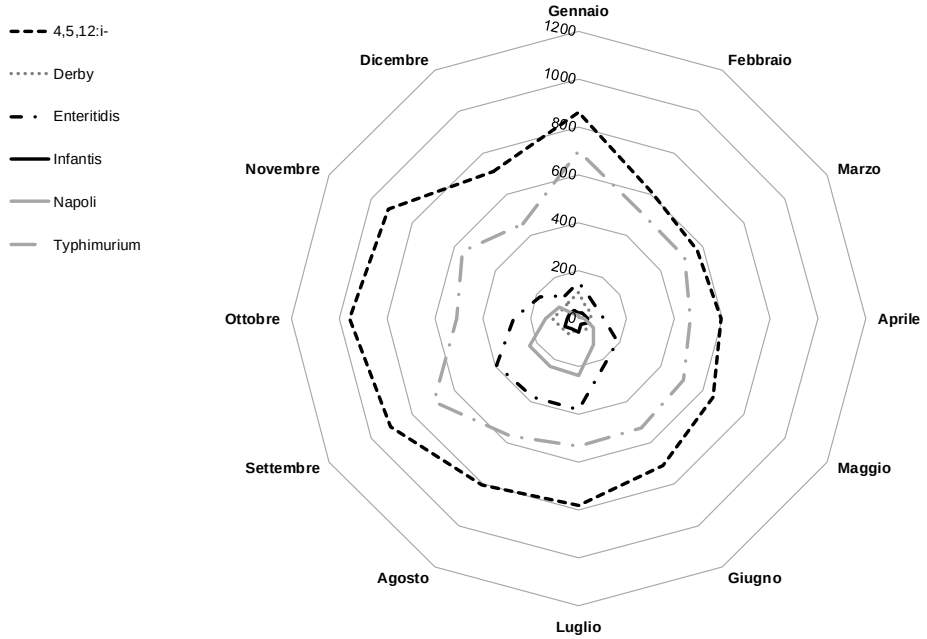


Figura 2. *Salmonella*: distribuzione dei sierotipi più frequenti per mese (Enter-Net Italia, 2010-2015)

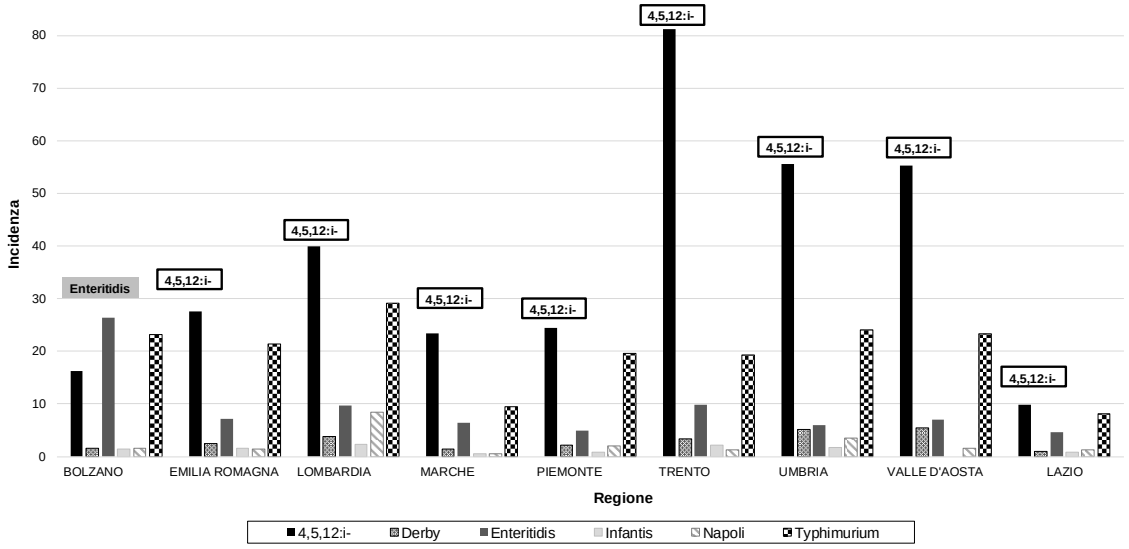


Figura 3. *Salmonella*: tasso di isolamento medio annuale (per 100.000) dei principali sierotipi riportati in alcune regioni italiane (Enter-Net Italia, 2010-2015)

Tra le regioni che nel periodo di studio hanno invece notificato ad Enter-Net Italia con minore regolarità, la Campania mostrava tasso di isolamenti di *S.* Typhimurium elevato, mentre in Veneto prevaleva *S.* Enteritidis (dati limitati al periodo 2010-2013).

L'elevata frequenza di isolamento di *S.* Typhimurium variante monofasica, *S.* Berta e *S.* Enteritidis, in Abruzzo, rispettivamente negli anni 2010, 2013 e 2014, è associata al verificarsi di eventi epidemici (Cito *et al*., 2016; Di Giannatale *et al*., 2012; Di Giannatale, dati non pubblicati).

Nel periodo 2010-2015, la frequenza di isolamento di *S.* Napoli è andata aumentando nel tempo fino a raggiungere il 5.8% del totale dei ceppi isolati nel 2014 (Figura 4). Questo sierotipo è stato riportato con maggior frequenza in Lombardia (68,1%), Piemonte (7,1%) Lazio (6,3%) e Veneto (5%). In Lombardia, nel periodo 2010-2014, gli isolamenti di *S.* Napoli, pur riportati durante tutto l'anno, presentavano una chiara stagionalità caratterizzata da aumento nei mesi estivi e una drastica riduzione nella stagione invernale (Graziani *et al*., 2015).

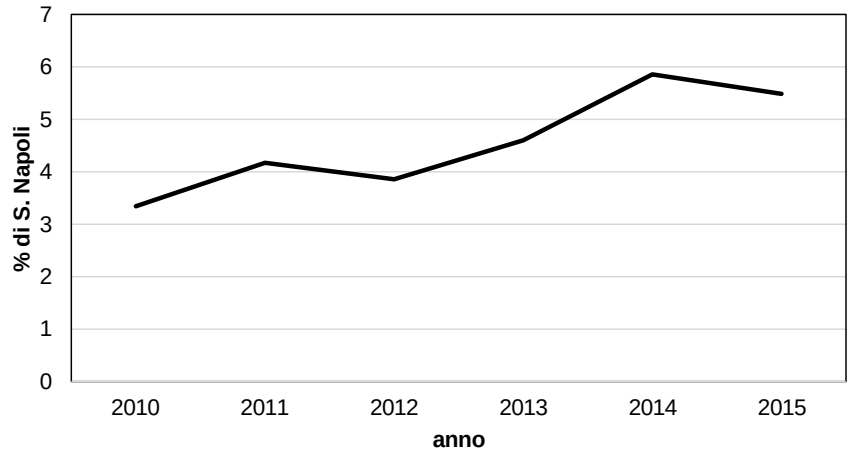


Figura 4. *S*. Napoli: frequenza di isolamenti riportati a Enter-Net Italia (2010-2015)

È importante sottolineare che in Italia, la frequenza di isolamento di *S.* Napoli nel periodo considerato è risultata superiore rispetto a qualsiasi altro Paese dell'UE (Fisher *et al*., 2009; Graziani *et al*., 2013) Tale peculiarità assume un rilievo particolare perché non è ancora stato individuato il serbatoio animale. Nel 2015, *S.* Napoli rappresentava solo lo 0,8% di tutti i sierotipi di *Salmonella* isolati da animali e alimenti di origine animale (Cibin *et al*., 2017). Non è escluso che altri serbatoi possano giocare un ruolo importante nell'epidemiologia delle infezioni da *S*. Napoli. Alcuni studi hanno individuato come fattori di rischio per l'infezione da *S.* Napoli l'esposizione ad acque superficiali come laghi o fiumi (Oggioni *et al*., 2010) ed il consumo di vegetali freschi (Graziani *et al*., 2011)

S. Infantis era tra i sierotipi più frequentemente isolati da infezioni umane. In particolare si è registrato un aumento negli anni 2013-2014.

Questo sierotipo risultava più frequentemente riportato in alcune regioni come l'Emilia-Romagna, la Lombardia e l'Umbria. È interessante notare che i dati di sorveglianza delle salmonellosi animali raccolti nel 2015 indicavano *S.* Infantis come il sierotipo più frequentemente isolato nel tacchino e nel pollame, sia in Europa che in Italia (EFSA, 2016.) In termini di salute pubblica, un altro elemento di preoccupazione legato alla diffusione di *S.* Infantis nel nostro Paese è l'identificazione di cloni multiresistenti tra i ceppi appartenenti a questo sierotipo. Sono stati infatti descritti ceppi di *S.* Infantis multi-resistente associati non solo a focolai epidemici nell'uomo nel 2005-2006 (Dionisi *et al*., 2011) ma anche a casi sporadici d'infezione umana (Dionisi *et al*, 2016) e nel pollame (Franco *et al*., 2015) che hanno acquisito resistenza anche a beta-lattamici di terza generazione (produttori di beta-lattamasi a spettro esteso o ESBL) (Figura 5).

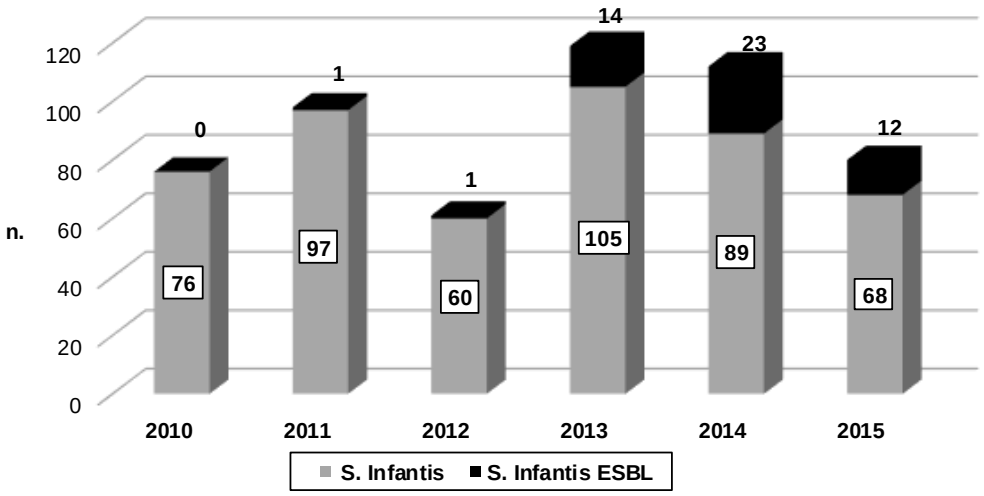


Figura 5. *S*. Infantis e *S*. Infantis produttori di ESBL: isolamenti riportati a Enter-Net Italia (2010-2015)

Alcuni sierotipi poco frequenti erano associati a cluster di casi infezioni. È il caso di *S.* Agama, un sierotipo in genere raro ma di cui sono stati registrati 66 isolamenti, nel periodo 2010-2015. Di questi, ben 35 erano riportati in Veneto tra novembre 2013 e marzo 2014, suggerendo l'esistenza di un possibile focolaio epidemico. Non avendo a disposizione dati relativi al periodo successivo non è stato possibile stabilire se il focolaio fosse ancora attivo dopo il 2014. A livello europeo questo sierotipo è stato descritto nel 2015 come l'agente causale di meningite e setticemia in un neonato (Heaton *et al*., 2015). Nello stesso Paese, inoltre, sono stati descritti isolamenti sia in caseifici del Galles ma anche in varie specie di animali domestici e selvatici (tasso, bovino, pollame, tacchino e pecore) (EFSA, 2013a)

S. Poona non è molto frequente nel nostro Paese. Nel periodo di sorveglianza sono stati registrati 51 isolamenti da dieci regioni, con un cluster in Emilia Romagna nel 2012 che includeva 15 isolati di cui 12, riferibili a bambini dell'età di un anno. A livello internazionale questo sierotipo è stato oggetto di diverse allerte nel sistema EPIS ed è stato descritto come l'agente eziologico di una vasta epidemia, avvenuta ad agosto 2015 negli Stati Uniti, dovuta al consumo di cetrioli importati dal Messico (CDC, 2016).

Sierotipi meno frequenti sono stati associati a episodi epidemici a carattere transnazionale.

S. Goldcoast è stata oggetto di una allerta internazionale nel 2009 e i risultati delle indagini condotte hanno mostrato una elevata omologia genetica tra i ceppi italiani ed i ceppi ungheresi isolati dai casi coinvolti nel focolaio epidemico transanazionale. Nell'insieme i dati epidemiologici e microbiologici suggerivano un'associazione con il consumo di carne suina (Scavia *et al*. 2013; Horváth *et al*., 2013). Altri piccoli cluster o casi sporadici di infezione da *S.* Goldcoast sono stati riportati anche nel periodo 2010-2015 su tutto il territorio nazionale.

S. Stanley è stata oggetto di ripetute allerte comunitarie nel 2011-2012 che hanno coinvolto 10 stati membri, tra cui l'Italia: le indagini epidemiologiche e microbiologiche hanno dimostrato la natura clonale dei ceppi isolati nei vari stati membri e l'associazione di questo sierotipo con il consumo di carne di tacchino (ECDC, 2014; Kinross *et al*., 2014). Anche negli anni successivi il numero dei casi di *S.* Stanley si è mantenuto alto, sia in Europa che in Italia (1,1% nel 2015),

probabilmente a causa del mancato controllo dell'infezione negli allevamenti reservoir, alla base della contaminazione della filiera della carne, che non sono mai stati identificati con certezza.

S. Bovismorbificans è stata oggetto di un'allerta comunitaria nel 2014 (in cui erano coinvolte solo Germania e Svizzera) (Knoblauch *et al*., 2015). In quell'anno sono stati riportati 8 isolamenti da due regioni italiane: di questi, sei sono stati riportati dalla Lombardia, principalmente nei mesi estivi.

Nel 2011 era stata inviata un'allerta comunitaria riguardante casi associati al sierotipo *S.* Strathcona in Danimarca (43 casi). Lo stesso sierotipo era presente in altre 4 nazioni Europee tra cui l'Italia con 6 casi in Lombardia, Lazio e PA Trento. Indagini epidemiologiche e microbiologiche hanno evidenziato un'associazione con il consumo di pomodori datterini di provenienza italiana (Müller *et al*., 2013). Successivamente nell'ottobre 2012 sono stati identificati 3 casi nel Lazio, con un profilo di PFGE (*Pulsed-Field Gel Electrophoresis*) molto simile a quello della epidemia del 2011.

Distribuzione dei sierotipi in Europa

Il report dell'UE su zoonosi e focolai di infezione trasmessa da alimenti nel 2016 evidenzia come la salmonellosi sia la seconda causa più frequente nell'uomo di infezione trasmessa da alimenti, anche se tra il 2008 e il 2016 si è osservata una diminuzione statisticamente significativa dei casi registrati in Europa (134.581 nel 2008 *vs* 94.530 nel 2016) (EFSA, 2017a).

A differenza di quanto riportato in Italia, in Europa *S.* Enteritidis rappresenta il sierotipo più frequentemente isolato da casi di infezione umana (48,5%) seguito da *S.* Typhimurium (13,4%), *S.* Typhimurium variante monofasica (8,4%) e *S.* Infantis (2,4%). Sierotipi come *S.* Virchow, *S.* Agona, *S.* Oranienburg, *S.* Chester o *S.* Braenderup sono presenti tra i 20 sierotipi più frequenti in Europa mentre non compaiono fra i primi venti sierotipi riportati in Italia. Al contrario altri sierotipi come *S.* Napoli, sono riportati principalmente dall'Italia e dalla Francia (http://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx).

Queste differenze possono essere ricondotte a numerosi fattori sia legati alle diverse abitudini alimentari sia ad una differente situazione epidemiologica della *Salmonella* nei serbatoi animali e nell'ambiente. Recentemente un studio basato sui dati Enter-Net Italia e finalizzato a stimare il contributo di diversi serbatoi animali nel deteriminare le infezioni da *Salmonella* nell'uomo, mostrava che in Italia le specie più rilevanti erano principalmente i suini seguiti dal pollame mentre tacchini e i ruminanti sembravano avere un ruolo minore (Mughini-Gras *et al*., 2014).

Antibiotico-resistenza

Il monitoraggio dell'antibiotico-resistenza in *Salmonella* viene effettuato seguendo un protocollo armonizzato e condiviso a livello europeo (ECDC, 2017b). Fino al 2013 l'ECDC richiedeva agli stati membri di fornire i risultati qualitativi dei test di sensibilità agli antibiotici mentre dal 2014 è necessario fornire i risultati quantitativi dei test, al fine di avere una maggiore comparabilità a livello europeo tra i ceppi di origine umana e veterinaria. Ogni anno i dati dell'antibiotico resistenza vengono pubblicati in un report congiunto ECDC-EFSA (EFSA, 2017b).

Sebbene la sorveglianza Enter-Net Italia preveda di saggiare un pannello standard di antibiotici, la mancata armonizzazione dei metodi utilizzati nei diversi laboratori e la difformità dei criteri di interpretazione non ha sempre permesso di ottenere risultati comparabili a livello nazionale ed europeo.

Un campione rappresentativo di ceppi di *Salmonella* spp. pari al 12% (372 dei 3158 ceppi ricevuti) è stato testato in ISS, secondo il protocollo ECDC. Il 21,7% dei ceppi risultava sensibile a tutte le molecole testate. Nessun ceppo è risultato resistente al meropenem.

I ceppi hanno mostrato un alto tasso di resistenza al sulfamidico (64,5%), all'ampicillina (55,4%), tetraciclina (54,8%) e streptomicina (51,3%) (Tabella 3).

Tabella 3. Test di sensibilità agli antibiotici effettuato su un campione di 372 isolati di *Salmonella* spp. ricevuti in ISS nel periodo 2010-2015

Antibiotico	Resistente	%R	Intermedio	%I	Sensibile	%S
Ampicillina (A)	206	55,4	0	0	166	44,6
Streptomicina (S)	191	51,3	3	0,8	178	47,8
Sulfamidico (Su)	240	64,5	8	2,2	124	33,3
Tetraciclina (T)	204	54,8	10	2,7	158	42,5
Ceftazidime (Caz)	35	9,4	0	0	337	90,6
Cefotaxime (Ctx)	34	9,1	0	0	338	90,9
Nalidixico (Na)	76	20,4	2	0,5	294	79,0
Fluorochinoloni (Cip/Pef)	24	6,5	1	0,3	347	93,3
Gentamicina (Gm)	12	3,2	0	0	360	96,8
Kanamicina (K)	37	9,9	2	0,5	333	89,5
Cloramfenicolo (C)	30	8,1	1	0,3	341	91,7
Meropenem (Mem)	0	0	0	0	372	100,0

La diminuita resistenza al cloramfenicolo (8%), è da attribuire principalmente alla minore frequenza di ceppi di *S.* Typhimurium DT104 con pattern di resistenza ACSSuT. La resistenza nei confronti di farmaci di ultima generazione come i fluorochinoloni (6,4%) appare minore rispetto ad altri Paesi europei. L'elevata percentuale di ceppi resistenti alle cefalosporine di terza generazione nel nostro Paese (8,9% *vs* 0,9% della media europea) è dovuto alla circolazione di un clone di *S.* Infantis multi-resistente produttore di ESBL (Dionisi *et al*., 2016). La presenza di ESBL della famiglia delle CTX-M, è stata rilevata inoltre in tre ceppi di *S.* Typhimurium ed un ceppo di *S.* Typhimurium variante monofasica.

Il fenomeno della multi-resistenza (definito come resistenza ad almeno tre classi di antibiotici) è stato osservato prevalentemente in *S.* Typhimurium e *S.* Typhimurium variante monofasica con percentuali del 77,6% e 81% rispettivamente (Figura 6) sul totale dei ceppi esaminati. Tra i ceppi multiresistenti i profili principali erano ACSSuT ed ASSuT: questi rappresentano il 25,8% e 48,5% in *S.* Typhimurium, l'1% e l'86,3% in *S.* Typhimurium variante monofasica.

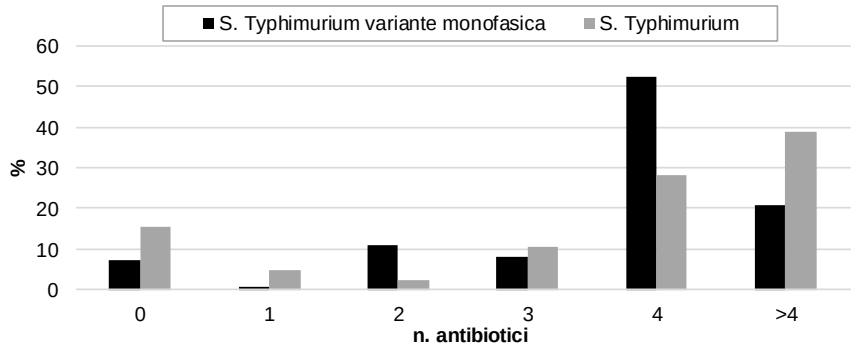


Figura 6. Frequenza dei ceppi di *S.* Typhimurium e *S.* Typhimurium variante monofasica resistenti a 0,1,2,3,4 e più di 4 antibiotici

La multi-resistenza è stata evidenziata anche in altri sierotipi meno frequenti come *S.* Brandenburg, *S.* Cholerasuis, *S.* Derby, *S.* Kentucky, *S.* London, *S.* Mikawasima, *S.* Panama, e *S.* Rissen.

Tipizzazione molecolare

Nel periodo 2010-2015 sono stati sottoposti ad analisi molecolare mediante PFGE 2.764 ceppi di *Salmonella* appartenenti a diversi sierotipi.

Per 639 dei 900 ceppi di *S.* Typhimurium variante monofasica analizzati è stata possibile l'attribuzione del pulsotipo, secondo la nomenclatura ECDC. Tra di essi sono stati identificati 100 diversi profili di cui 80 includevano non più di due isolati, ciascuno. I profili XbaI.0027, XbaI.0096 e XbaI.0407 rappresentavano complessivamente il 58.6% di tutti i ceppi (Figura 7). Ceppi con il profilo XbaI.0096, fagotipo 193 con pattern di resistenza ASSuT, sono stati descritti in diversi episodi epidemici sia in Italia che in Europa (Mossong *et al*., 2007; Gallati *et al*., 2013; Barco *et al*., 2014).

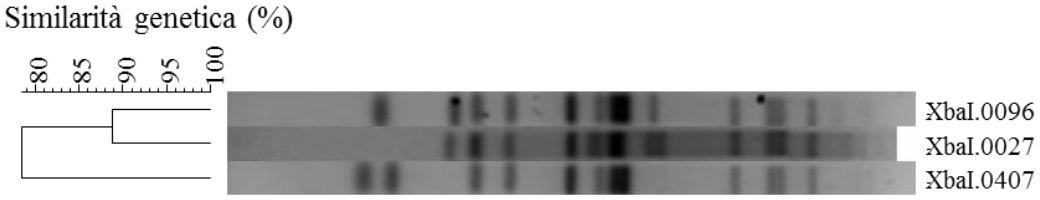


Figura 7. Dendrogramma dei tre principali pulsotipi identificati in *S*. Typhimurium variante monofasica, nel periodo 2010-2015

Dei 589 ceppi di *S.* Typhimurium analizzati è stata possibile l'assegnazione del pulsotipo per 437 con più di 150 profili identificati. I due pulsotipi tipici del clone DT104 con pattern di resistenza ACSSuT, XbaI.0058 e XbaI.0088, rappresentavano il 24% dei profili assegnati. Gli altri tre profili XbaI.0096 XbaI.0027 XbaI.0095 includevano rispettivamente il 14%, 5% e 4% dei ceppi testati (Figura 8).

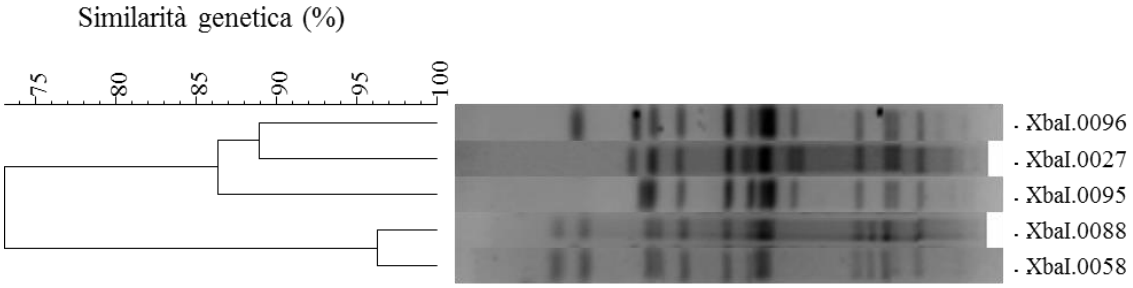


Figura 8. Dendrogramma dei cinque principali pulsotipi identificati in *S*. Typhimurium, nel periodo 2010-2015

Dei 261 ceppi di *S.* Enteritidis è stato possibile assegnare il pulsotipo a 196 ceppi all'interno dei quali sono stati identificati 20 profili, di cui 13 includevano al massimo due isolati. XbaI.0073

XbaI.0024 e XbaI.0026 rappresentavano il 71% dei pulsotipi. Il profilo XbaI.0561 rappresentava il 10% dei profili assegnati (Figura 9).

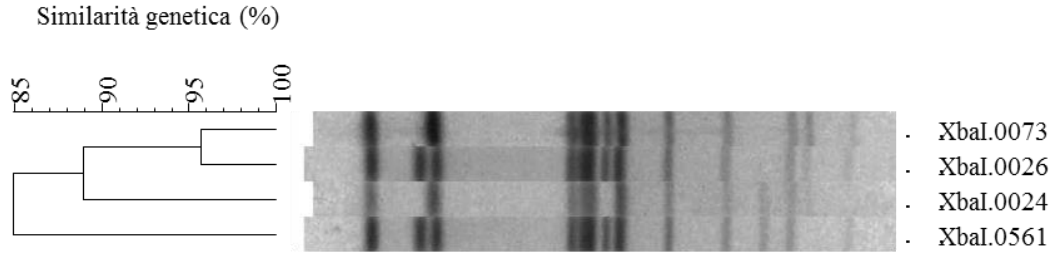


Figura 9. Dendrogramma dei principali pulsotipi identificati in *S*. Enteritidis, nel periodo 2010-2015

Isolamenti di salmonelle tifoidee

La febbre tifoide/paratifoide è considerata una malattia rara nei Paesi dell'UE, e se ne registrano casi principalmente legati a viaggi in aree endemiche (ECDC, 2015a). Nel periodo 2010-2015, sono stati notificati alla rete Enter-Net Italia, 342 isolamenti di salmonelle tifoidee: 183 di *S.* Typhi, 102 di *S.* Paratyphi B, 51 di *S.* Paratyphi A e 6 di *S.* Paratyphi C. Per quanto riguarda la *S.* Paratyphi B la quasi totalità dei ceppi è stata isolata da campioni fecali, la cui tipologia lascia supporre l'appartenenza della maggior parte dei ceppi alla variante Java considerata una *Salmonella* non tifoidea, meno virulenta e causa principalmente di una sintomatologia gastroenterica. Poichè in molti casi non è stata effettuata la tipizzazione per distinguere tra *S.* Paratyphi B e *S.* Paratyphi B variante Java il numero riportato ad Enter-Net Italia potrebbe essere sovrastimato. Questi due sierotipi possiedono gli stessi antigeni somatici e flagellari ma si distinguono solo per l'utilizzo del d-Tartrato come fonte di carbonio, che avviene solo nella variante Java. Per distinguere queste due varianti è necessario effettuare la prova di fermentazione del tartrato, o la rilevazione del gene responsabile di questa fermentazione (Malorny *et al*., 2003).

È da sottolineare come nel 79% dei casi l'informazione sul viaggio non era disponibile. Solo 51 casi riportavano di aver effettuato un viaggio, di cui 42 in aree endemiche (20 in India, 8 in Pakistan, 3 in Bangladesh, 3 in Marocco, 2 in Tailandia, 2 in Perù, e singoli casi in Sri Lanka, Mozambico, Senegal e Costa d'Avorio).

La resistenza e la multiresistenza agli antibiotici, in particolare alla ciprofloxacina (CIP) rappresenta un problema di sanità pubblica emergente anche in Italia. Due ceppi di *S.* Typhi isolati da turisti italiani al rientro dall'India, con una resistenza elevata alla ciprofloxacina sono stati segnalati ad Enter-Net Italia nel 2013. Un'analisi retrospettiva di 17 ceppi di *S.* Typhi isolati in Italia durante il periodo 2011-2013 ha mostrato che il 68% delle *S.* Typhi era resistente alla CIP con valori di MIC compresi tra 0,125 mg/L a 16 mg/L. Tutti gli isolati sono risultati negativi alla ricerca molecolare di geni plasmidici *qnr* che conferiscono resistenza ai chinoloni. L'analisi delle sequenze codificanti per la DNA girasi e topoisomerasi subunità IV ha rivelato mutazioni nei geni *gyrA, gyrB* e *parC*. Questi ceppi sono stati anche analizzati mediante PFGE, che ha evidenziato la presenza di quattordici diversi gruppi clonali. I due ceppi CIP-resistenti isolati da individui di nazionalità italiana che hanno visitato l'India avevano lo stesso profilo di PFGE (Garcia-Fernandez *et al*., 2015) (Tabella 4).

Tabella 4. *S.* Typhi ricevute in ISS nel periodo 2011-2013

Ceppo	Regione	Anno	Campione	Genere	Età	Nazionalità	Viaggio	Pattern di resistenza	CIP MIC (mg/L)	GyrA	GyrB	ParC	ParE	PMQR	PFGE
28/1/12	Campania	2011	-	-	-	-	-	Sensibile	0,008	wt	wt	wt	wt	neg	L
28/4/12	Campania	2012	feci	-	-	Italiana	-	Sensibile	0,008	wt	wt	wt	wt	neg	C
28/3/12	Campania	2011	feci	-	-	Italiana	-	Sensibile	0,008	wt	wt	wt	wt	neg	A
96/23/12	Campania	2012	-	-	-	-	-	Sensibile	0,015	wt	wt	wt	wt	neg	D
64/1/11	Friuli-VG	2011	urina	M	20	Africana	-	Sensibile	0,015	wt	wt	wt	wt	neg	E
28/2/12	Campania	2011	-	-	-	-	-	Na	0,032	D82N	wt	wt	wt	neg	B
39/14/11	Marche	2011	sangue	M	0	Indiana	-	Cip I:Na	0,125	wt	wt	T57S	wt	neg	N
81/5/12	Lazio	2012	feci	M	14	Bangladesh	-	NaCip	0,15	S83F	G435A	wt	wt	neg	M
66/8/13	Lazio	2013	sangue	F	13	Bangladesh	-	NaCip	0,19	D87N	G435E	wt	wt	neg	K
30/4/13	Piemonte	2013	-	-	-	-	-	ASSuNaCip	0,25	S83F	wt	wt	wt	neg	G
4/2/12	Trento	2011	sangue	F	16	Bangladesh	-	CSTmpNaCip	0,25	S83F	wt	wt	wt	neg	F
78/3/12	Piemonte	2012	feci	F	34	Bangladesh	Bangladesh	ACSSuTmpSxtNaCip	0,25	S83F	G435E	wt	wt	neg	F
16/10/12	Lazio	2012	feci	M	-	Bangladesh	-	ACSSuTTmpSxtNaCip	0,25	S83F	wt	wt	wt	neg	F
28/5/12	Campania	2012	sangue	F	33	Indiana	-	NaCip I:S	0,25	S83F	wt	wt	wt	neg	H
8/3/13	Trento	2012	sangue	M	3	Bangladesh	-	NaCip I:S	0,25	S83F	wt	wt	wt	neg	H
9/1/13	Campania	2013	sangue	M	29	Italiana	India	NaCip I:S	0,38	S83Y	wt	wt	S493F	neg	H
74/5/13	Marche	2013	feci	M	32	Indiana	-	NaCip	0,5	S83F	G435V	wt	wt	neg	J
40/1/13	Piemonte	2013	feci	F	40	Italiana	India	NaCip I:S	12	S83F,D87N	G435E	S80I	wt	neg	I
54/4/13	Piemonte	2013	sangue	F	47	Italiana	India	NaCip	16	S83F,D87N	wt	S80I	wt	neg	I

Isolamenti di *Salmonella* spp. da fonti ambientali

Durante il periodo 2010-2015 sono stati riportati 2.997 isolamenti di *Salmonella* spp. da campioni ambientali rappresentati prevalentemente da acque superficiali ed in misura inferiore, da fanghi di depurazione e acqua di mare.

Circa l'84% degli isolati si riferiva a isolamenti da acque superficiali, mentre per il 14% degli isolamenti il tipo di campione non era noto.

Tra le regioni che hanno effettuato campionamenti ambientali in modo costante vi sono Veneto, Piemonte e la Provincia Autonoma di Bolzano (Tabella 5) che complessivamente hanno raccolto 2.214 ceppi pari al 73% del totale degli isolamenti ambientali riportati ad Enter-Net Italia.

Tabella 5. *Salmonella* spp.: isolamenti da fonti ambientali per regione (Enter-Net Italia, 2010-2015)*

Regione	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Totale
Veneto	388	244	170	234	254	22	1312
Piemonte	41	51	30	86	99	66	373
Abruzzo	-	-	-	-	204	141	345
Bolzano	68	45	43	45	40	88	329
Marche	-	-	40	38	45	37	160
Emilia-Romagna	68	53	14	-	-	-	135
Molise	20	36	15	4	20	11	106
Friuli-Venezia Giulia	9	18	2	37	-	-	66
Liguria	16	12	20	-	-	-	48
Campania	-	-	1	46	-	-	47
Lombardia	19	8	4	6	-	-	37
Trento	9	7	6	1	-	1	24
Umbria	-	12	-	-	-	-	12
Sardegna	2	-	-	-	-	-	2
Calabria	-	-	-	-	1	-	1
Totale	640	486	345	497	663	366	2997

* Non incluse le regioni che non hanno riportato isolamenti;
– nessun isolato riportato

Per quel che riguarda i sierotipi più frequenti, *S.* Veneziana (14,3%) è il primo sierotipo isolato, seguito da. *S.* Typhimurium (8,9%), *S.* Typhimurium variante monofasica (8,6%), *S.* Derby (6,1%), *S.* Infantis (4,3%), *S.* Rissen (3,6%) e *S.* Napoli (2,7%) (Tabella 6).

S. Veneziana è un sierotipo poco frequente nelle infezioni umane (0,1% dei ceppi negli ultimi 20 anni), non solo in Italia ma anche in Europa (69 casi nel 2015). Può causare anche patologie importanti (Dionisio *et al.*, 2001) ed un possibile serbatoio è stato individuato nel cinghiale (Wacheck *et al.*, 2010; Zottola *et al.*, 2013).

Tabella 6. *Salmonella:* sierotipi più frequentemente isolati dall'ambiente (Enter-Net Italia, 2010-2015)

Sierotipo	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Totale
Veneziana	87	60	48	69	108	57	429
Typhimurium	48	66	39	36	42	35	266
4,5,12:i-	67	50	21	48	48	24	258
Derby	46	26	17	32	41	22	184
Infantis	18	19	14	25	30	23	129
Rissen	23	18	14	21	17	15	108
Napoli	12	14	14	10	22	8	80
London	17	8	7	12	9	5	58
Muenchen	13	11	3	15	7	8	57
Newport	10	6	8	4	11	6	45
Enteritidis	2	7	7	7	14	7	44
Hadar	3	7	1	13	13	3	40
Agona	7	6	2	5	9	8	37
Thompson	10	4	3	12	3	5	37
Panama	12	4	4	5	7	4	36
Arizona	5	7	2	4	10	7	35
Goldcoast	13	4	1	3	10	2	33
Livingstone	8	2	6	7	7	3	33
Give	8	5	2	5	9	2	31
Mbandaka	3	5	6	6	8	3	31
Altri	228	157	126	158	238	119	1026
Totale	640	486	345	497	663	366	2997

Nota: mostrati solo i sierotipi con N isolati > 30

Sintesi dell'attività di sorveglianza trasmessa a TESSy ed EPIS, 2010-2015

Tra il 2010 e il 2015, le attività di sorveglianza della rete Enter-Net Italia hanno permesso di trasmettere al sistema europeo TESSy, informazioni relative a 22.806 ceppi di *Salmonella* e profili elettroforetici di 1203 ceppi (Tabella 7). Nello stesso periodo le attività di sorveglianza hanno permesso di rispondere a 32 delle 117 allerte (*Urgent Inquiry*) lanciate attraverso il sistema EPIS (*Epidemic-intelligence and information System*), relative ad altrettanti potenziali focolai epidemici di salmonellosi di interesse transnazionale. Tra queste, due allerte sono state lanciate dall'Italia.

Tabella 7. Dati di sorveglianza delle infezioni da *Salmonella* inviate a TESSy nel periodo 2010-2015

Anno	*Indicator-based*		*Isolate-based*
	notifiche Enter-Net	notifiche ufficiali	profili PFGE trasmessi a ECDC
2010	5554	5319	183
2011	4992	4467	122
2012	5350	4829	50
2013	5289	5042	355
2014	4088	4462	516
2015	2716	3840	332

CAMPYLOBACTER

Aurora García-Fernández, Ida Luzzi, Anna Maria Dionisi, Slawomir Owczarek, Ildo Benedetti, Sergio Arena, Claudia Lucarelli
Dipartimento Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma

La campylobatteriosi è una delle malattie batteriche gastrointestinali più diffuse al mondo. In Europa *Campylobacter* rappresenta il principale agente eziologico batterico di malattie trasmesse da alimenti, con una media di 66,3 casi ogni 100.000 abitanti (EFSA, 2017a).

Campylobacter ha come serbatoio principale le specie aviarie. L'infezione da *Campylobacter* nell'uomo è associata prevalentemente al consumo di pollame, tuttavia episodi epidemici sono stati riportati in associazione al consumo di acqua o latte contaminati. Il periodo di incubazione della malattia varia da un giorno a una settimana. I sintomi sono solitamente lievi o moderati e consistono in diarrea, dolori addominali, febbre, mal di testa, nausea e vomito. La loro durata varia generalmente da uno a sette giorni, ma nel 20% dei casi circa, può superare la settimana (Connerton & Connerton, 2017).

Manifestazioni più gravi della malattia si verificano in meno dell'1% dei pazienti, solitamente in soggetti molto anziani o immunodepressi. La campylobatteriosi è stata associata a diverse sequele croniche che includono artrite reattiva, infiammazioni a carico di fegato e reni e la sindrome di Guillain-Barré (Keithlin, *et al*., 2014).

In Italia la diarrea da *Campylobacter* rientra genericamente nelle malattie notificabili in classe II come diarrea infettiva non da *Salmonella*.

Isolamenti di *Campylobacter* spp. da infezioni umane

In Italia nel periodo 2010-2015 sono stati riportati 6.130 isolamenti di *Campylobacter* da campioni clinici. La maggioranza dei campioni era rappresentato da campioni di feci (n. 6.096). La maggior parte degli isolamenti è stata segnalata durante il periodo estivo e in bambini di età compresa tra 1 e 5 anni (Figura 1).

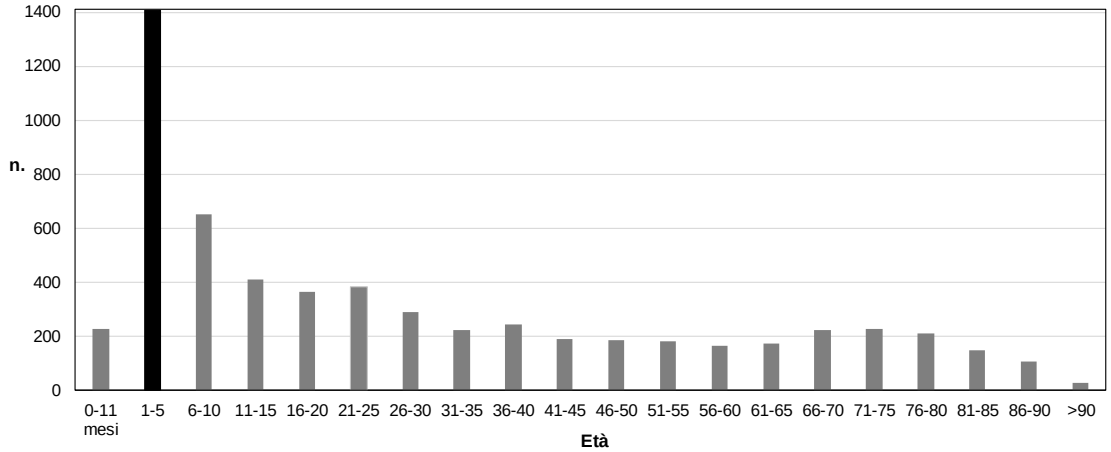


Figura 1. *Campylobacter* spp.: ceppi isolati per età del paziente (Enter-Net Italia, 2010-2015)

Il 90,4% dei ceppi è risultato appartenere alla specie *C. jejuni* e l'8,9%. a *C. coli*. Altre specie meno frequenti come *C. upsaliensis* (0,5%), *C. lari* (0,1%) e *C. fetus* (0,1%) sono state riportate solo da alcune Regioni. Il 10,5% dei ceppi è stato riportato come *Campylobacter* spp.

Il tasso medio annuale di isolamento di *Campylobacter* per 100.000 nella popolazione nel periodo considerato è riportato in Figura 2, dove è mostrato anche quello relativo agli isolamenti di *Salmonella*.

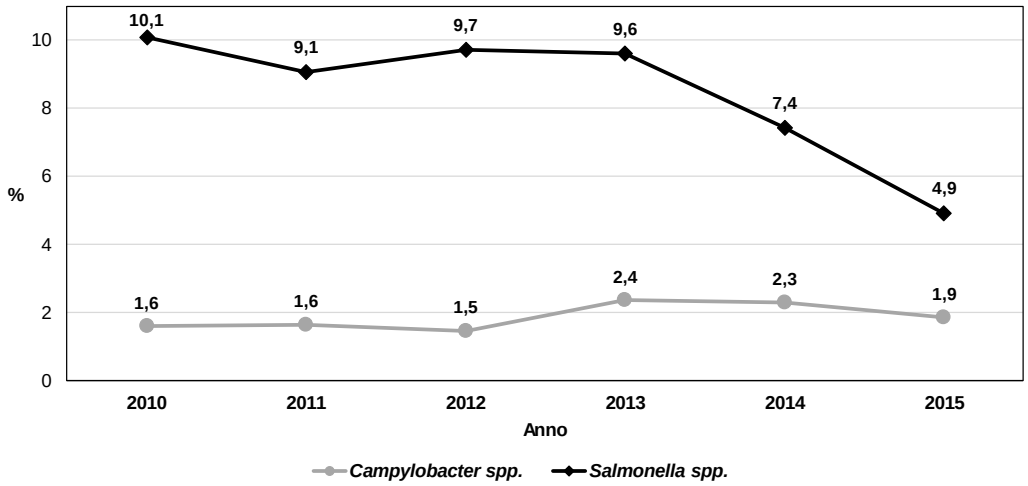


Figura 2. *Campylobacter* spp. *e Salmonella* spp.: tasso annuale di isolamento (per 100.000) (Enter-Net Italia, 2010-2015)

Considerando che il quadro europeo è caratterizzato da una maggior incidenza delle infezioni da *Campylobacter* rispetto alle Salmonellosi, la differenza che si osserva in Italia tra *Salmonella* e *Campylobacter* è dovuta all'elevato livello di sottonotifica di quest'ultimo. Infatti le regioni che regolarmente riportano gli isolamenti di *Campylobacter* al sistema Enter-Net Italia sono una minoranza (Tabella 1).

Tabella 1. *Campylobacter* spp.: isolamenti, segnalati per 100.000 abitanti, per anno e per regione (Enter-Net Italia, 2010-2015)*

Regione	2010	2011	2012	2013	2014	2015
Umbria	21,6	18,4	17,7	22,0	20,8	19,0
Trento	16,7	15,1	17,9	18,2	17,9	15,4
Valle d'Aosta	13,3	14,0	24,2	31,2	28,1	23,4
Bolzano	7,5	17,9	15,6	14,5	20,8	15,6
Toscana	3,4	-	-	-	-	-
Lombardia	2,3	2,5	1,5	3,7	4,2	3,2
Calabria	0,6	0,8	0,8	0,3	-	-
Lazio	0,4	1,0	0,6	0,8	0,6	0,6
Marche	0,4	1,2	1,3	1,5	2,2	0,8
Molise	0,3	0,3	-	-	-	-
Veneto	0,1	1,1	0,5	1,6	0,1	-
Sardegna	0,1	0,1	-	-	-	-
Abruzzo	-	-	-	-	0,2	0,1
Piemonte	-	-	1,2	4,3	4,2	4,0
tasso medio nazionale	4,4	4,8	5,4	6,5	6,6	5,5

* Sono state escluse le regioni che non hanno riportato isolamenti; -= nessun isolato riportato

In queste regioni il numero di casi di campilobatteriosi riportati ad Enter-Net Italia era simile a quello delle salmonellosi (Figura 3) tracciando un quadro epidemiologico non dissimile da quello riportato dalla maggioranza dei Paesi europei (EFSA, 2017a).

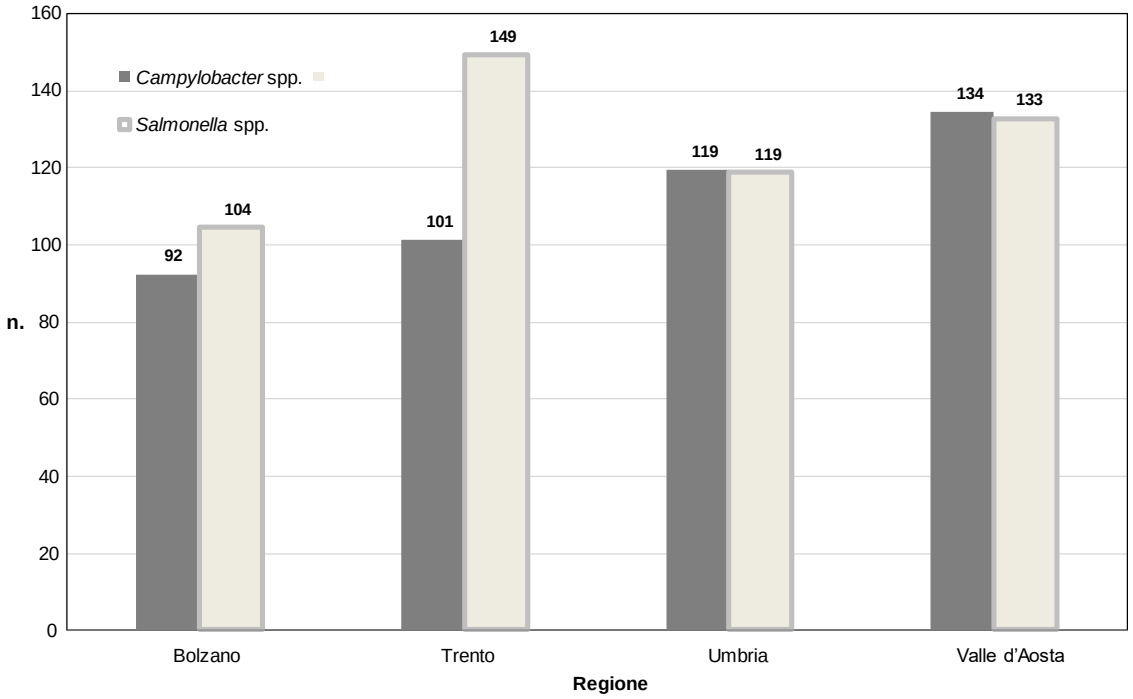


Figura 3. *Campylobacter* spp e *Salmonella* spp.: ceppi isolati in alcune regioni (Enter-Net Italia, 2010-2015)

Antibiotico-resistenza

La campilobatteriosi è una malattia gastrointestinale autolimitante, che non necessita di terapia antibiotica tuttavia in alcuni casi potrebbe essere necessario un trattamento antibiotico, sia per la suscettibilità dell'ospite sia per una sintomatologia più accentuata. L'antibiotico di prima scelta è l'eritromicina, seguita da altri macrolidi, fluorochinoloni e tetracicline.

Tuttavia, anche per *Campylobacter*, come per altri patogeni enterici, in Europa è stato osservato un incremento sostanziale della resistenza alla ciprofloxacina e alle tetracicline.

La resistenza all'eritromicina si mantiene ancora bassa ma, in alcuni Paesi europei, è stato osservato un aumento di resistenza a questo antibiotico, tra ceppi di *C. coli* (EFSA, 2017b).

Nell'ambito della sorveglianza Enter-Net, è stato analizzato un campione di 163 ceppi isolati nel 2014-2015 (129 *C. jejuni* e 34 *C. coli*) per la sensibilità a eritromicina, ciprofloxacina, tetraciclina e meropenem ovvero agli antibiotici indicati nel protocollo dell'ECDC (ECDC, 2016).

Tutti i ceppi sono risultati sensibili al meropenem ed il 17% è risultato sensibile a tutti e quattro antibiotici. Il 16% dei ceppi di *C. jejuni* sono risultati resistenti a ciprofloxacina, il 52% a ciprofloxacina e tetraciclina ed il 3% a ciprofloxacina, tetraciclina ed eritromicina. Per quanto riguarda il *C. coli*, 35% era resistente a ciprofloxacina e tetraciclina ed il 32% era resistente a ciprofloxacina, tetraciclina ed eritromicina (Figura 4).

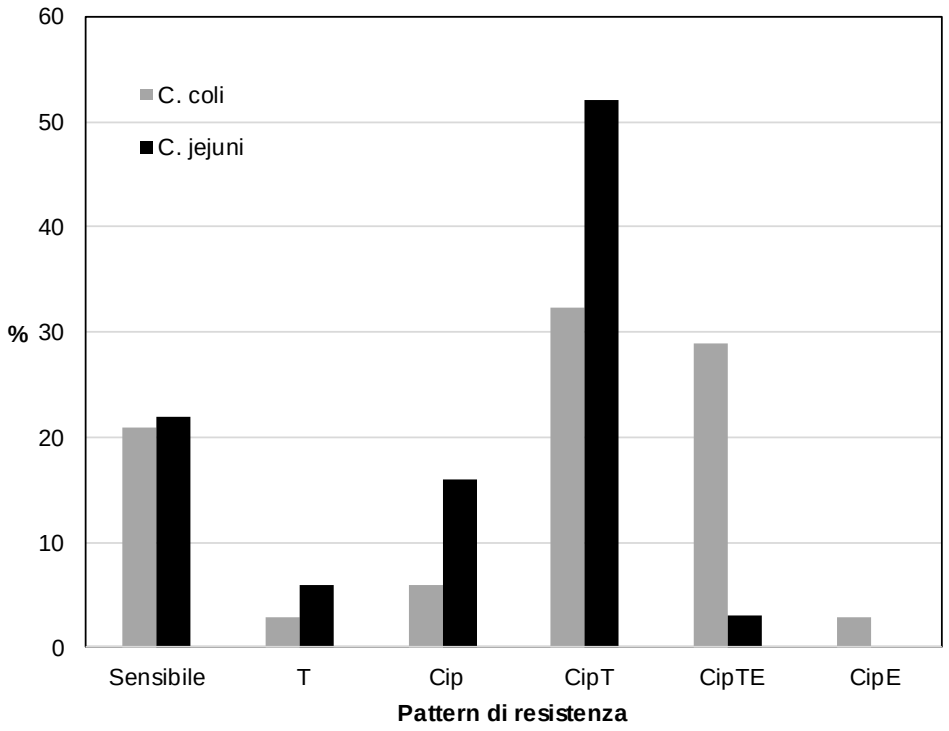


Figura 4. Pattern di resistenza in *C. jejuni* e *C. coli* isolati nel periodo 2014-2015

Tipizzazione molecolare

La tipizzazione molecolare di *Campylobacter* mediante PFGE è stato effettuata su un campione di 100 ceppi di *C. jejuni*, isolati in Piemonte nel periodo tra gennaio 2013-dicembre 2014. La tecnica è stata eseguita in accordo al protocollo U.S. PulseNet per il *Campylobacter* che prevede la restrizione con l'enzima SmaI (CDC, 2013).

I profili ottenuti sono stati analizzati con il software Bionumerics v.6.6. Dei 100 ceppi analizzati, 97 sono risultati tipizzabili. Il dendrogramma ottenuto ha mostrato una grande variabilità genetica tra i vari ceppi (Figura 5).

La PFGE è stata utilizzata come supporto all'indagine epidemiologica in occasione di un episodio epidemico avventuto in una scuola materna di Bergamo nel novembre 2013 (Lucarelli *et al*., 2016).

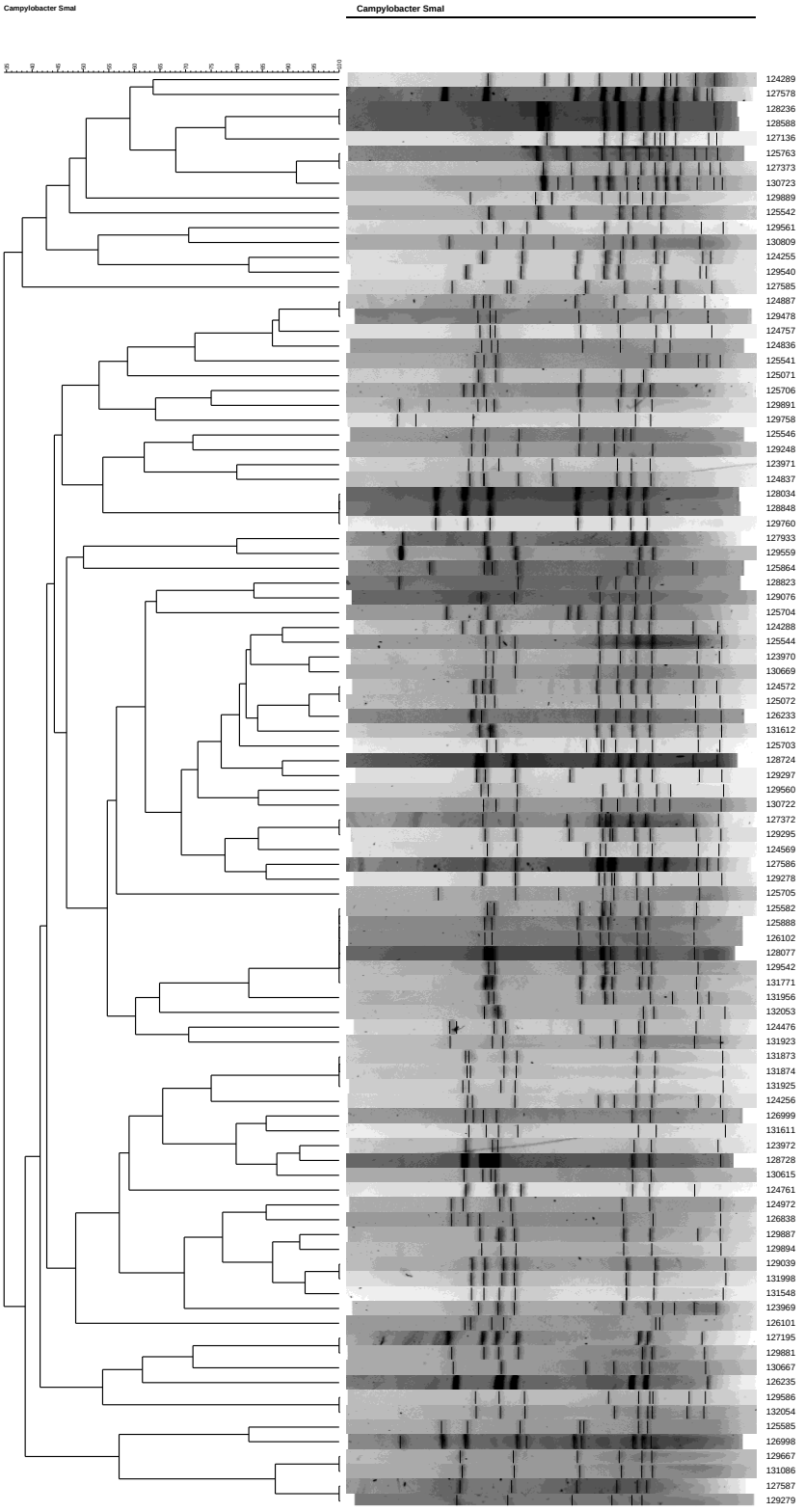


Figura 5. Dendrogramma di 100 ceppi di *Campylobacter* (Enter-Net Italia, 2013-2014)

LISTERIA MONOCYTOGENES

Monica Gianfranceschi (a), Dario De Medici (a), Alfonsina Fiore (a), Mirella Pontello (b),
Giovanna Liguori (c), Giuliana Blasi (d), Antonietta Gattuso (a)
(a) Dipartimento Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma
(b) Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze della Salute.
(c) Alma Mater Studiorum, Centro di Riferimento Regionale Emergenze Microbiologiche, Bologna
(d) Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche, Sezione di Fermo

La listeriosi è una malattia infettiva batterica causata da *Listeria monocytogenes*. L'Organizzazione Mondiale della Sanità considera *L. monocytogenes* un patogeno ad esclusiva trasmissione alimentare (WHO, 2015). Gli alimenti più a rischio sono i *Ready-To-Eat* (RTE) in quanto possono essere consumati senza necessità di cottura/riscaldamento in grado di eliminare/ridurre un'eventuale contaminazione. Fra gli alimenti RTE, sono particolarmente a rischio quelli che hanno una vita commerciale lunga (> 15 giorni) che consente alla *L. monocytogenes*, grazie alle sue caratteristiche di psicrofilia, di moltiplicarsi durante la conservazione a temperatura di refrigerazione degli alimenti.

La listeriosi può manifestarsi come gastroenterite acuta febbrile che, nei soggetti sani, è autolimitante ed è associata all'ingestione di alimenti fortemente contaminati da *L. monocytogenes* (>10^6 UFC/g). La listeriosi invasiva o sistemica colpisce soggetti generalmente immunocompromessi a causa di patologie o terapie e anziani (Goulet *et al*., 2012) ed è caratterizzata da sepsi, meningiti e meningo-encefaliti, che possono manifestarsi dopo un lungo periodo di incubazione variabile da una settimana fino a 90 giorni. Nelle donne in gravidanza, la listeriosi si manifesta come gastroenterite, ma l'eventuale trasmissione trans-placentare può provocare gravi conseguenze al feto (mortalità, parto prematuro, nascita di neonato con meningite o setticemia).

Nelle popolazioni dei Paesi industrializzati la listeriosi è caratterizzata da bassa incidenza (<1 caso/100.000) ma da notevole gravità clinica. L'impatto sulla salute della listeriosi è legato all'elevata letalità ed alle frequenti sequele a lungo termine, causa di mortalità prematura e disabilità cronica (WHO, 2015; Maertens, 2014). Nel 2016, il tasso di ospedalizzazione e di letalità tra i casi di listeriosi in EU erano rispettivamente del 97,7% e del 16,2% (EFSA, 2017a).

Si stima che il 16-27% di tutte le infezioni da *L. monocytogenes* si verifichino nelle donne in gravidanza, con una prevalenza che varia tra 8,6 e 17,4/100.000 nati vivi e che la *L. monocytogenes* è una delle cause più comuni di meningite neonatale (Ronald *et al*., 2011). Il trattamento mediante terapia antibiotica, somministrata precocemente, è in grado di contrastare efficacemente la malattia e, nel caso delle donne in gravidanza, di prevenire la trasmissione dell'infezione al feto (EFSA, 2017a).

Isolamenti di *Listeria monocytogenes* da infezioni umane

In Italia, la listeriosi è una malattia soggetta a notifica obbligatoria, come previsto dal Decreto Ministeriale 15 dicembre 1990 che la colloca tra le malattie rilevanti ad elevata frequenza e/o passibile di interventi di controllo (classe seconda). Dal 2010 la listeriosi fa parte della rete di

sorveglianza Enter-Net Italia. L'andamento del numero degli isolati clinici pervenuti in ISS nel periodo 2010-2015 e quello dei casi notificati nello stesso periodo è riportato in Figura 1. Il loro confronto indica una progressiva convergenza numerica, con un aumento del numero degli isolati per i quali è stato possibile fornire dati di tipizzazione sierologica e molecolare.

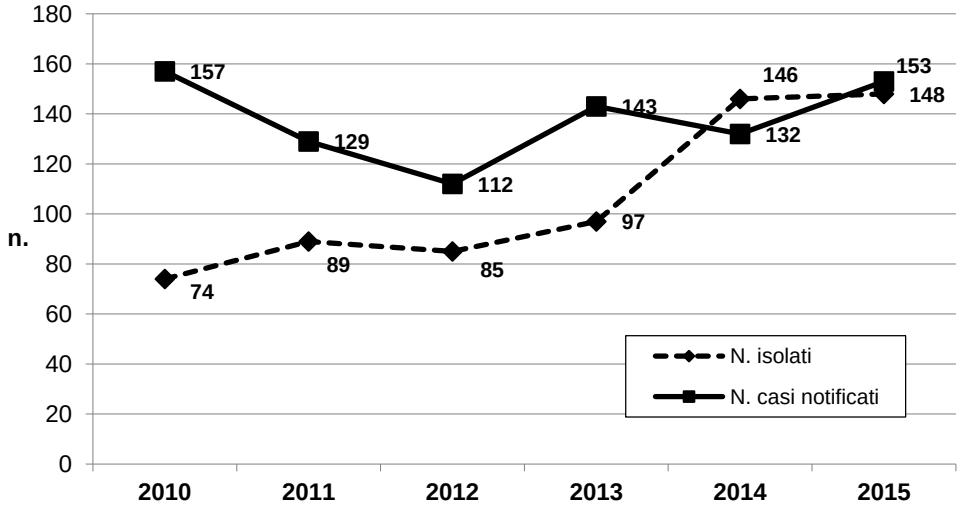


Figura 1. *Listeria monocytogenes*: ceppi isolati pervenuti in ISS tra il 2010 e il 2015 e numero dei casi di malattia notificati nello stesso periodo

Nel periodo 2010-2015 sono pervenuti in ISS 639 isolati clinici di *L. monocytogenes* (Tabella 1), per la maggior parte (n. 554) dalle regioni del Nord Italia, in particolare Emilia Romagna e Lombardia. Solo 73 e 12 isolati sono stati inviati ispettivamente dalle regioni del Centro e del Sud.

Tabella 1. Distribuzione per regione degli isolati clinici di *L. monocytogenes* nel periodo 2010-2015

Regioni	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Totale
Abruzzo	0	0	0	0	1	2	3
Campania	0	0	3	2	1	1	7
Emilia-Romagna	24	29	41	43	45	37	219
Friuli-Venezia Giulia	0	1	1	0	3	0	5
Lazio	3	1	2	1	5	5	17
Liguria	0	1	0	0	0	1	2
Lombardia	42	49	26	34	61	45	257
Marche	1	0	0	4	8	24	37
Molise	0	0	0	0	1	0	1
Piemonte	0	0	0	5	12	18	35
Sardegna	0	0	0	0	1	0	1
Toscana	4	3	4	3	2	2	18
Trentino-Alto Adige	0	5	8	4	4	12	33
Umbria	0	0	0	0	0	1	1
Valle d'Aosta	0	0	0	1	1	0	2
Veneto	0	0	0	0	1	0	1
Totale	74	89	85	97	146	148	639

La maggior parte dei ceppi (n. 457; 71,52%) è stata isolata da campioni ematici mentre il numero dei ceppi isolati da liquido cefalo rachidiano è stata cinque volte inferiore (n.96; 15,02%). L'8,8% dei ceppi è stato isolato da casi di listeriosi correlata alla gravidanza. Quest'ultimo dato tuttavia potrebbe essere sottostimanto dal momento che l'indagine diagnostica su eventi associati alla gravidanza (aborto, parto prematuro e forme gastroenteriche della madre) per l'accertamento dell'eventuale infezione da *L. monocytogenes* non è sempre sistematicamente condotta.

La distribuzione degli isolamenti di *L. monocytogenes* per età dei pazienti è mostrata in Figura 2. La maggior frequenza della malattia nei bambini d'età inferiore all'anno e negli anziani ≥ 65 anni, coerentemente con quanto descritto in letteratura, appare indicativa di una incidenza dell'infezione più elevata nei gruppi di popolazione a rischio.

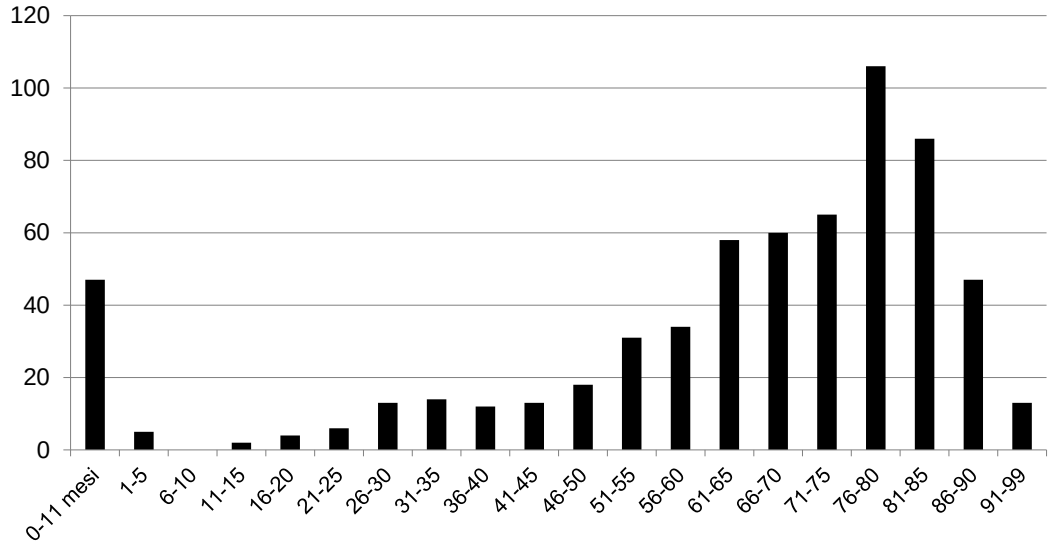


Figura 2. *L. monocytogenes:* ceppi isolati per età dei pazienti nel periodo 2010-2015

Distribuzione dei sierotipi in Italia

L. monocytogenes possiede marker superficiali, quali antigeni somatici O e flagellari H, che mostrano una specificità di gruppo e sono utilizzati come target per l'identificazione dei 13 sierotipi specifici per *L. monocytogenes* l: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e, 7.

I ceppi di *L. monocytogenes* isolati da episodi di listeriosi umana appartengono prevalentemente ai sierotipi 1/2a, 1/2b e 4b e rappresentano il 95% degli isolati da casi clinici di listeriosi epidemica o sporadica (Graves *et al.*, 2007). Nella Figura 18 vengono riportati i principali sierotipi degli isolati clinici di *L. monocytogenes* nel periodo considerato: il sierotipo 1/2a era quello più frequentemente isolato, seguito dal sierotipo 4b, confermando lo stesso andamento riscontrato nel periodo 2000-2010 in Italia e in altri Paesi europei. La prevalenza del sierotipo 1/2a rispetto al sierotipo 4b è associata ad una maggiore frequenza della forma setticemica rispetto alla forma meningitica della listeriosi, che invece era prevalente prima del 2000 (Gianfranceschi *et al.*, 2003). Come negli anni precedenti, anche nel periodo considerato pochi casi di listeriosi erano associati ai sierotipi non comuni 3a e 4d.

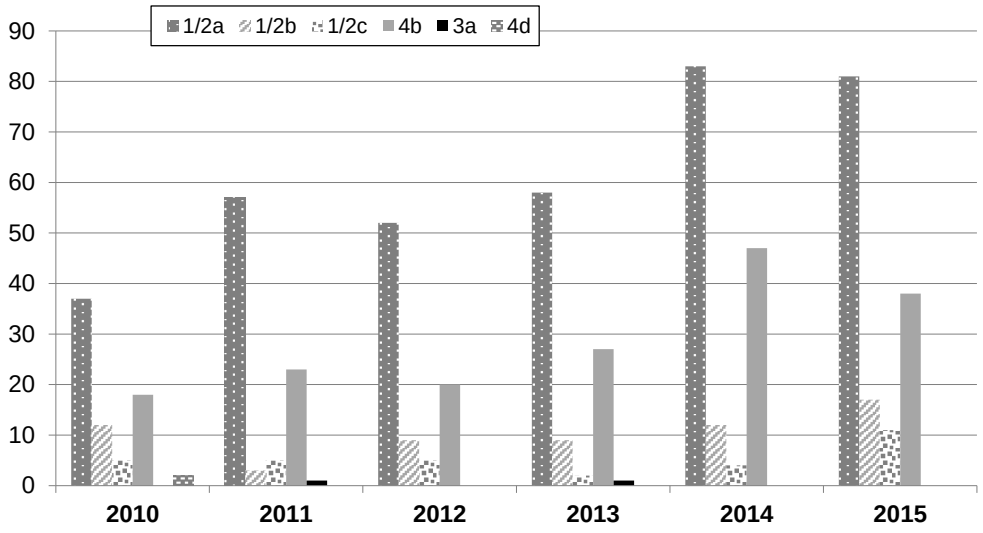


Figura 3. *L. monocytogenes:* isolati clinici per sierotipo e per anno (2010-2015)

Tipizzazione molecolare

Nel periodo 2010-2015, sono stati sottoposti a tipizzazione molecolare, mediante PFGE, 351 isolati clinici di *L. monocytogenes* appartenenti a diversi sierotipi. La tecnica è stata eseguita in accordo al protocollo PulseNet per *L. monocytogenes* (CDC, 2013b) che prevede la restrizione con gli enzimi ApaI e AscI. I profili ottenuti, analizzati con il software Bionumerics v.7.5., sono stati inviati al TESSy – *Molecular Surveillance System*. L'attribuzione del PFGE code da parte dell'ECDC, finora possibile per circa la metà di questi ceppi (177/351), mostra l'esistenza di una grande variabilità genetica.

L'analisi comparativa dei profili dei 351 isolati ha consentito di individuare 7 cluster che includono ceppi di *L. monocytogenes* caratterizzati da un livello di similarità del 100% (Figure 4 e 5).

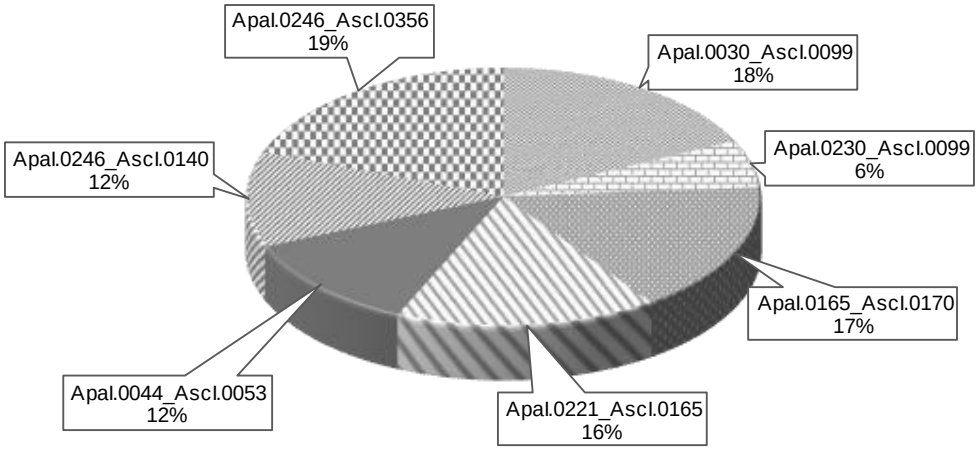


Figura 4. Principali cluster isolati di *L. monocytogenes* (2010-2015)

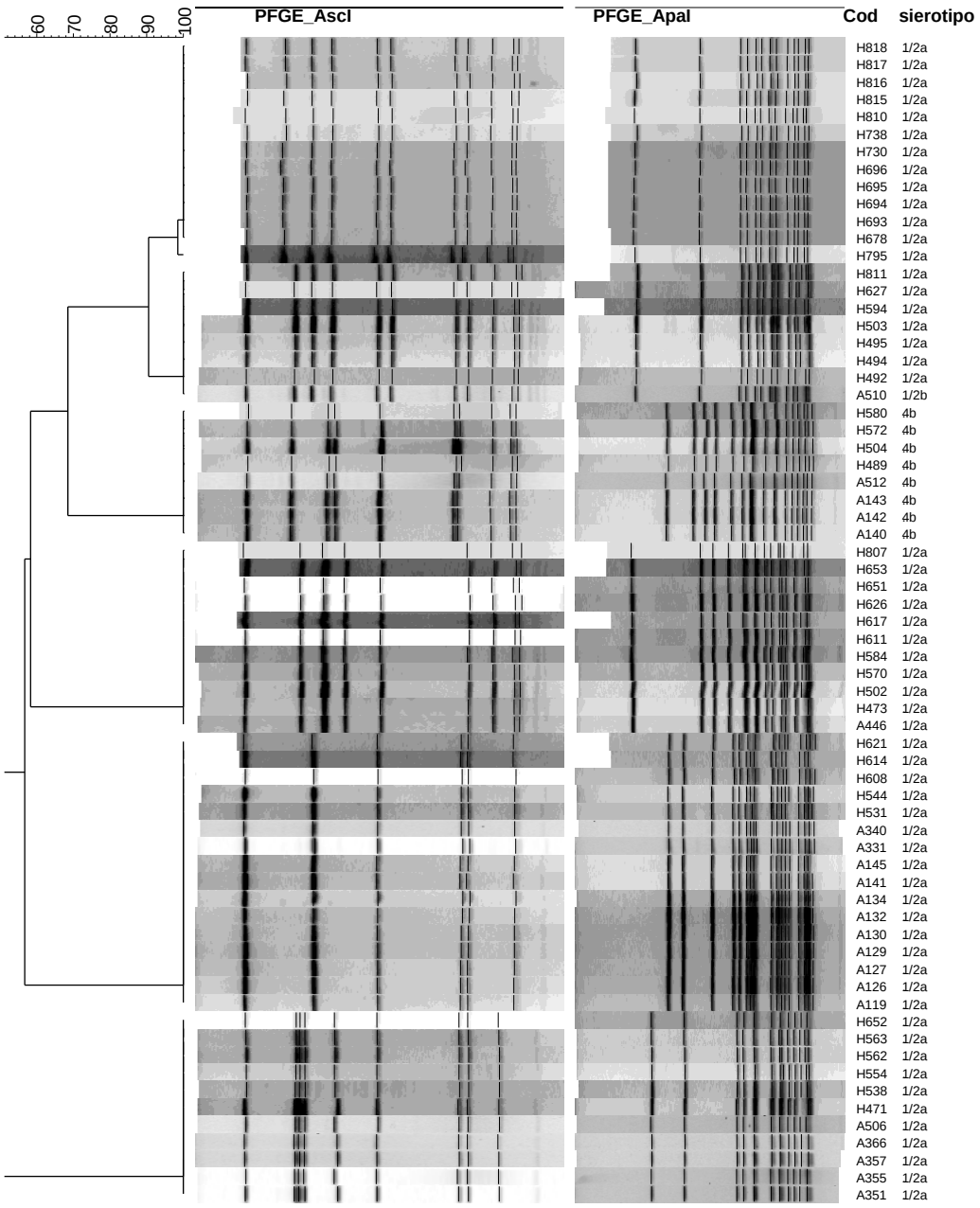


Figura 5. Dendrogramma dei principali cluster di *L. monocytogenes* isolati tra il 2010 e il 2015 individuati in base alla similarità dei profili elettroforetici

Il cluster identificato dal profilo ApaI.0246_AscI.0356 comprende i ceppi di *L. monocytogenes* isolati dai casi di listeriosi coinvolti in un vasto focolaio epidemico verificatosi nelle Marche nel 2015.

Sintesi dell'attività di sorveglianza trasmessa a TESSy ed EPIS, 2010-2015

In Tabella 2 vengono riepilogate le attività di sorveglianza sopra descritte che hanno permesso di trasmettere, annualmente, al sistema europeo TESSy *indicator-based* informazioni epidemiologiche e microbiologiche (sierotipo) di 435 isolati di *L. monocytogenes* e, routinariamente, a TESSy *isolate-based* i profili molecolari di 351 isolati di *L. monocytogenes* relativi ai casi di listeriosi notificati in Italia.

Tabella 2. Dati di sorveglianza delle infezioni da *L. monocytogenes* inviate a TESSy nel periodo 2010-2015

Anno	N. casi notificati	N. isolati pervenuti in ISS	N. di isolati con informazioni epidemiologiche e microbiologiche (sierotipo) inviati a TESSy *indicator-based*[1]	N. di isolati con profili PFGE inviati a TESSy *isolate-based*[2]
2010	157	74	35	20
2011	129	89	50	52
2012	112	85	69	26
2013	143	97	85	61
2014	132	146	78	112
2015	153	148	118	97
Totale	**826**	**639**	**435**	**368**

[1] tutti gli isolati vengono sottoposti a caratterizzazione sierologica. La differenza fra il numero di isolati pervenuti in ISS e il numero di isolati con informazioni epidemiologiche e microbiologiche (sierotipo) inviati annualmente a TESSy indicator-based è dovuta al ricevimento di isolati dopo la scadenza fissata per l'invio a TESSy.
[2] gli isolati da sottoporre a tipizzazione molecolare (PFGE) vengono selezionati in base alla loro rappresentatività geografica e temporale

Nello stesso periodo, le attività di sorveglianza hanno permesso di rispondere a 11 delle 24 allerte (*Urgent Inquiry*) lanciate attraverso il sistema EPIS (*Epidemic Intelligence Information System*), relative ad altrettanti potenziali focolai epidemici di infezione da *L. monocytogenes* di interesse transnazionale. Tra queste, un'allerta è stata lanciata dall'Italia.

Inoltre dal 2013, con l'inserimento del *Molecular Typing Cluster Investigations* (MTCI) nel sistema EPIS, l'ECDC ha notificato la presenza di isolati clinici italiani di *L. monocytogenes* in 5 cluster di cui 3 di grandi dimensioni richiedendo informazioni sugli isolati alimentari con lo stesso profilo molecolare, isolati nello stesso periodo. Le informazioni richieste sono state fornite in collaborazione con il LNR per *L. monocytogenes*

In accordo con le prospettive della sorveglianza europea verso l'adozione routinaria della caratterizzazione degli isolati mediante WGS, l'Italia partecipa al progetto ELiTE-WGS (*European Listeria Typing Exercise – Whole Genome Sequence*), i cui obiettivi sono: i) avere una conoscenza dettagliata dell'epidemiologia molecolare della listeriosi in Europa basata su WGS; ii) conoscere i genotipi che causano, in modo persistente, le infezioni umane e la loro distribuzione temporale e geografica; iii) conoscere i genotipi finora visti solo sporadicamente o in un singolo cluster limitato nel tempo; iv) verificare la corrispondenza tra i cluster basati su PFGE rispetto a quelli basati su WGS.

Nell'ambito di tale progetto l'Italia ha sottoposto a tipizzazione molecolare mediante WGS circa 100 isolati, compresi quelli appartenenti ai cluster identificati, nel periodo considerato.

ESCHERICHIA COLI PRODUTTORE DI SHIGA-TOSSINA

Gaia Scavia (a), Antonella Maugliani (a), Valeria Michelacci (a), Fabio Minelli (a), Paola Chiani (a), Mario Giordano (b), Licia Peruzzi (c), Enrico Vidal (d), Carmine Pecoraro (e), Gianluigi Ardissino (f), Mario Luini (g), Ludwig Moroder (h), Rosangela Tozzoli (a), Alfredo Caprioli (a), Stefano Morabito (a)
(a) Dipartimento Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma
(b) Ospedale Giovanni XXIII, Bari
(c) Ospedale Regina Margherita, Torino
(d) Azienda Ospedaliera di Padova, Padova
(e) Azienda Ospedaliera Pediatrica Santobono-Pausilipon, Napoli
(f) Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico Cà Granda, Clinica De'Marchi, Milano
(g) Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia-Romagna, Lodi
(h) Laboratorio di Sanità Pubblica di Bolzano

Le infezioni da *Escherichia coli* produttore di Shiga-tossina (STEC) sono responsabili di gravi manifestazioni cliniche nell'uomo ed hanno un elevato impatto socio-sanitario dovuto anche alle frequenti sequele croniche, causa di, disabilità e mortalità prematura (Spinale *et al.*, 2013). Queste colpiscono in modo particolare i bambini che più frequentemente sviluppano Sindrome Emolitico Uremica (SEU) come complicanza sistemica dell'infezione intestinale (Tarr *et al.*, 2005). L'infezione da STEC è considerata una zoonosi poiché i ruminanti costituiscono il serbatoio naturale di tali batteri (Nguyen & Sperandio, 2012). La trasmissione all'uomo avviene prevalentemente a seguito dell'ingestione di alimenti contaminati non sottoposti ad adeguata cottura (carni macinate, latticini da latte crudo, vegetali) ma anche per via oro-fecale persona-persona, per contatto diretto con animali infetti o matrici ambientali contaminate (es. acque di balneazione). La trasmissione persona-persona è particolarmente importante nei contesti di comunità come asili nido, scuole materne, ecc. (Garvey *et al*., 2016). Il periodo di incubazione è variabile ma generalmente si aggira tra i 3 e 5 giorni. La gravità delle manifestazioni cliniche connesse all'infezione da STEC dipende anche dall'età e dalle condizioni di salute dell'ospite. Queste possono variare dalle forme asintomatiche, alla diarrea non complicata, alla diarrea ematica fino alla SEU che si manifesta nel 5-10% circa dei casi di infezione da STEC.

Nei pazienti con sintomi gastroenterici, le indagini microbiologiche per la diagnosi di infezione da STEC non sono eseguite di routine dai laboratori microbiologici ospedalieri, ma solo in casi clinicamente sospetti, come nei pazienti con diarrea ematica o SEU. Le indagini per STEC possono essere effettuate anche sui contatti con un caso accertato di infezione da STEC, specialmente in ambito familiare o nelle comunità scolastiche.

La prescrizione di specifiche indagini per STEC da parte di medici ospedalieri, medici di medicina generale e pediatri di libera scelta dipende anche dalla disponibilità diagnostica per STEC da parte dei laboratori di primo livello, che è spesso limitata e con copertura del territorio a macchia di leopardo. Questa situazione ha riflessi negativi non solo sulla sensibilità della sorveglianza che è pertanto caratterizzata da un elevato livello di sottostima dei casi incidenti di infezione, ma anche sulla rappresentatività dei ceppi STEC raccolti dal Laboratorio Nazionale di Riferimento (LNR) per *E. coli*, collocato presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS).

La sorveglianza della SEU nella popolazione pediatrica, è al contrario relativamente esente da fattori in grado di introdurre queste potenziali fonti di *bias*. Attraverso il monitoraggio della più grave complicanza delle infezioni da STEC come un evento 'sentinella' della circolazione si talio batteri nella popolazione e grazie alla centralizzazione delle attività diagnostiche presso l'LNR

per *E. coli* dell'ISS, infatti, la sorveglianza della SEU assicura una raccolta di dati diagnostici sui ceppi STEC, altamente rappresentativa in quanto dotata di un livello omogeneo ed elevato di copertura territoriale. Per questo motivo verranno presentati di seguito sia i risultati dell'attività generale di raccolta e tipizzazione dei ceppi STEC condotta dall'LNR per *E. coli* dell'ISS tra il 2010 e il 2015 su qualsiasi caso di infezione da STEC, sia quelli relativi alla sorveglianza SEU, raccolti attraverso l'attività del Registro italiano della SEU.

Oltre alla sorveglianza SEU, la disponibilità d'informazione sui sierogruppi STEC responsabili di infezioni umane deriva dalle attività diagnostiche eseguite su casi non complicati di infezione intestinale e su soggetti asintomatici, in genere familiari dei bambini con SEU. Altri progetti di sorveglianza speciale delle diarree sono stati condotti in collaborazione con l'Associazione Microbiologi Clinici Italiani (AMCLI) e con la Rete Regionale Lombarda SEU e hanno consentito di raccogliere dati sui casi non complicati di gastroenterite da STEC.

Isolamenti di ceppi STEC da infezioni umane

Le informazioni sui ceppi STEC raccolti dall'ISS nel periodo 2010-2015 riguardano 139 isolati. La maggioranza dei ceppi (n. 75) è stata isolata da casi di SEU. I restanti ceppi sono stati raccolti nell'ambito delle indagini di due diversi focolai epidemici di infezione da STEC occorsi in ambiente scolastico, rispettivamente nel 2013 e nel 2015 (n. 13), da familiari di pazienti con SEU (n. 3), da casi sporadici di diarrea emorragica in pazienti pediatrici dedicata (n. 20) e da ulteriori casi sporadici di diarrea indagati sull'intero territorio nazionale (n. 28). La distribuzione dei ceppi STEC per struttura ospedaliera/laboratorio di origine del ceppo o del campione è mostrata nella Tabella 1.

Tabella 1. Distribuzione dei ceppi di *E.coli* produttore di Shiga-tossina (STEC) isolati e/o caratterizzati dall'Istituto Superiore di Sanità tra il 2010 e il 2015, per ospedale/laboratorio di origine del campione/ceppo

Laboratorio / Ospedale	n.
Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico Ospedale Maggiore Cà Granda, Milano	32
Azienda Ospedaliera Universitaria, Città della Salute, Ospedale Regina Margherita, Torino	14
Azienda Ospedaliera di Padova, Padova	12
Policlinico di Bari – Ospedale Giovanni XXIII, Bari	12
Azienda Sanitaria Locale Bolzano	10
Azienda Sanitaria Locale Servizio di Igiene Ostia, Roma	9
Ospedale S. Orsola – Malpighi, Bologna	9
Policlinico Universitario Agostino Gemelli	6
Ospedale Santobono-Pausilipon, Roma	4
Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico Ospedale Bambino Gesù, Roma	4
Ospedali Riuniti Ancona	2
Istituto Nazionale delle Malattie Infettive L. Spallanzani, Roma	2
Ospedale Modena	2
Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari Trento	2
Ospedale Civile Verona	2
Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico G. Gaslini, Genova	2
Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico Ospedale Meyer, Firenze	2
Ospedale Civile Cà Foncello, Treviso	2
altri (<2 ceppi)*	11
Totale	**139**

* include: Ospedale S. Anna, Ferrara; Università di Palermo; Ospedale Bufalini, Cesena; Ospedale G. Di Cristina, Palermo; Ospedale di Pisa; Ospedale Forli; Ospedale Campo di Marte, Lucca; Università Tor Vergata, Roma

La Tabella 2 mostra il numero di isolamenti di STEC per sierogruppo e caratteristiche di virulenza del ceppo STEC (geni *stx1, stx2, eae, aggR*).

Tabella 2. Distribuzione dei ceppi di *E.coli* produttore di Shiga-tossina (STEC) tipizzati dall'Istituto Superiore di Sanità tra il 2010 e il 2015, per sierogruppo e presenza dei principali geni di virulenza

Sierogruppo STEC	Ceppi STEC isolati (n) per geni di virulenza							Totale ceppi STEC	
	stx1+		*stx1+ / stx2+*			*stx2+*			
	eae-	*eae+*	*eae-*	*eae+*	*agg+*	*eae-*	*eae+*	n.	%
O26	-	5	-	2	-	-	49	56	40,3
O157	-		-	11	-	-	18	29	20,9
O111	-	1	-	8	-	-	1	10	7,2
O127	-	-	-	-	6	-	-	6	4,3
O103	1	-	-	-	-	-	2	3	2,2
O145	-	-	-	-	-	-	3	3	2,2
O113	1	-	-	-	-	-	-	1	0,7
O117	-	-	-	-	-	1	-	1	0,7
O128	1	-	-	-	-	-	-	1	0,7
O55	1	-	-	-	-	-	-	1	0,7
O8	-	-	-	-	-	-	1	1	0,7
O91	1	-	-	-	-	-	-	1	0,7
Non tipizzabile	3	4	2	-	-	6	10	25	18,0
O rough				1	-			1	0,7
Totale complessivo	**8**	**10**	**2**	**22**	**6**	**7**	**84**	**139**	**100**

La distribuzione per sierogruppo dei ceppi STEC mostra come STEC O26 fosse di gran lunga il sierogruppo più frequentemente isolato, rappresentando il 40% del totale dei ceppi isolati dai casi di infezione. Segue il sierogruppo STEC O157, il più noto tra i sierogruppi STEC (21% del totale degli isolati), riportato con una frequenza di isolamento pari alla metà circa dei ceppi STEC O26, e gli altri sierogruppi appartenenti ai cosiddetti 'top-5 STEC' (O111, O103, O145). Ad essi appartenevano complessivamente l'11% dei ceppi STEC isolati.

Occorre sottolineare che per la prima volta dall'avvio della sorveglianza di laboratorio delle infezioni da STEC, nel periodo 2010-2015 il numero degli isolamenti di STEC O26 ha superato quello di STEC O157. Questi dati confermano una tendenza già in atto da diversi anni nel nostro Paese, verso un declino delle infezioni da STEC O157 a favore di quelle sostenute dai sierogruppi STEC non-O157 ed in particolare O26 (Caprioli *et al*., 2014).

Per tutti gli altri sierogruppi STEC identificati nel periodo in studio, la frequenza di isolamento non superava l'1% del totale dei ceppi, con l'unica eccezione di STEC O127 cui apparteneva oltre il 4% degli isolati. Questo dato, del tutto inatteso rispetto sia allo storico nazionale ISS (tra il 1988 e il 2009 era stato riportato un solo isolamento di un ceppo STEC O127) sia ai dati TESSy relativi agli altri Paesi dell'UE nel periodo 2010-2015 (10 casi totali) è riconducibile ad un unico episodio epidemico occorso nel 2013 in una scuola materna nel nord Italia che ha visto coinvolti nove pazienti con quattro casi di SEU. Occorre sottolineare che il ceppo isolato dai casi epidemici presentava caratteristiche di virulenza atipiche rispetto ai ceppi STEC tradizionalmente associati a malattia nell'uomo, essendo privo del gene *eae* codificante per il caratteristico fattore di adesione alla mucosa intestinale dei 'classici' ceppi STEC ma dotato, invece, dei geni *aggR* e *aaiC*, tipici degli *E. coli* enteroaggregativi (EAEC). Si tratta di caratteristiche di virulenza simili

a quelle di ceppi STEC cosiddetti 'atipici' come il ceppo STEC O104:H4 (Scheutz *et al*., 2011) responsabile della vasta epidemia in Germania occorsa nel 2011 e del ceppo STEC O111 responsabile di un'altra epidemia di SEU in Francia alla fine degli anni '90 (Morabito *et al*., 1999).

Tra il 2010 e il 2015 due importanti focolai epidemici di infezione da STEC hanno contribuito ad elevare il numero dei ceppi STEC O26 isolati in Italia. Il primo si riferisce ad una vasta epidemia in comunità occorsa nell'estate 2013 in Puglia e connessa al probabile consumo di latticini contaminati che ha coinvolto 20 bambini, tutti con SEU (Germinario *et al*., 2016), da 7 dei quali è stato possibile isolare un ceppo STEC O26 (*stx2*+, *eae*+). L'analisi comparativa dei ceppi caratterizzati mediante PFGE mostrava diversi profili elettroforetici, suggerendo un possibile focolaio ad eziologia multipla (vedi oltre). La seconda epidemia, anch'essa causata da STEC O26 (*stx2*+, *eae*+), si è verificata in un asilo nido della provincia di Roma ed ha coinvolto complessivamente 11 casi (10 con isolamento del ceppo) tra bambini, loro familiari ed il personale del nido, causando un evento di SEU. La caratterizzazione dei ceppi isolati dai pazienti coinvolti nel focolaio, mediante PFGE mostrava un identico profilo elettroforetico. L'andamento dell'epidemia suggeriva una trasmissione per via persona-persona

Esaminando più nel dettaglio i fattori di virulenza associati ai sierogruppi STEC isolati tra il 2010 e il 2015 si evidenzia come la maggioranza dei ceppi STEC fosse portatore di entrambi i geni di virulenza *stx2* ed *eae* (n. 106; 76% degli isolati). Di questi, 94 ceppi appartenevano anche ai cosiddetti sierogruppi *top-5* (n. 94; 68% dei ceppi STEC isolati).

Occorre ricordare che una recente opinione dell'EFSA ha proposto di considerare proprio l'assortimento feno-genotipico caratterizzato da ceppi STEC portatori del gene *eae* ovvero *aaiC* e *aggR* ed appartenenti ai sierogruppi O157, O26, O103, O145, O111, O104, ai più elevati livelli di pericolosità e impatto potenziale per la salute pubblica (Messens, 2015).

In Italia, la proporzione di ceppi STEC portatori dei geni *stx2* ed *eae* isolati tra il 2010 e il 2015 risultava più che doppia rispetto a quanto registrato nella UE nel suo complesso (37,4%) tra il 2010 e il 2012.

Tale rilievo, sebbene non escluda una possibile diversa epidemiologia delle infezioni da STEC nella popolazione del nostro Paese a causa per esempio delle diverse abitudini alimentari, deve essere letto tenendo conto delle peculiarità della sorveglianza STEC in Italia, basata essenzialmente sul rilevamento proprio dei casi clinici di maggiore gravità ovvero della SEU.

Tipizzazione molecolare e identificazione di cluster di infezione da STEC

Tra il 2010 e il 2015 grazie alle attività di sorveglianza epidemiologica e microbiologica del LNR di riferimento per *E. coli* presso l'ISS e del Registro SEU sono stati identificati sul territorio nazionale numerosi cluster e focolai epidemici di casi di SEU associati a infezione da STEC ovvero di casi di infezione da STEC non complicata.

I cluster sono stati individuati sia grazie al rilevamento di un nesso epidemiologico evidente tra i casi, eventualmente confermato anche dalle indagini diagnostiche, sia attraverso l'analisi comparativa dei profili molecolari (PFGE) dei ceppi STEC isolati dai casi.

Ciò ha consentito di approfondire il contesto epidemico in cui sono verificati i cluster, laddove possibile, per documentare la via di trasmissione dell'infezione e la sorgente di contaminazione (Tabella 3).

Tabella 3. Sintesi dei cluster epidemici di casi di infezione da STEC individuati in Italia nel periodo tra il 2010 e il 2015

Anno	Regione	Casi SEU	Altri casi con infezione accertata	Caratteristiche ceppo STEC	Setting	Via di trasmissione accertata (o sospetta)	Sorgente	Cluster PFGE
2010	Emilia Romagna	2	-	O26	comunità	non identificata	non identificata	n.d.
2012	Puglia	3	-	O111	comunità	non identificata	non identificata	n.d.
2013	Puglia	20	-	O26 *(stx2+ eae+)*	comunità	alimentare	latticini	A
2013	Veneto	2	-	O157 *(stx2+ eae+)*	comunità	alimentare	salume	n.d.
2013	Lombardia	4	2	O127 (stx2+, enteroaggregativo)	scuola materna	persona-persona	portatore eliminatore	B
2014	Lazio	2	-	O26 *(stx2+ eae+)*	familiare	persona-persona	non identificata	n.d.
2014	Marche	4	-	O26 *(stx2+ eae+)*	comunità	non identificata	non identificata	C
2014	Lazio	1	10	O26 *(stx2+ eae+)*	asilo nido	persona-persona	portatore eliminatore	D
2014	Emilia Romagna	2	-	O26 *(stx2+ eae+)*	familiare	non identificata	non identificata	E
2014	Piemonte	1	1	O55 *(stx2+ eae+)*	familiare	non identificata	non identificata	n.d.
2015	Sicilia	2[a]	1	O111 *(stx1+, stx2+, eae+)*	comunità	(alimentare)	(formaggio)	F
2015	Lombardia[b]	3	2	O145 *(stx2+, eae+)*	comunità	non identificata	non identificata	G
2015	Bolzano	1	1	O26 *(stx2+ eae+)*	familiare	contatto diretto con ruminanti	allevamento ruminanti	H

a. del cluster fa parte anche un terzo caso di SEU occorso nel gennaio 2016 e pertanto escluso dal presente report.
b. ceppi STEC isolati dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Lodi (Dott. M. Luini) e tipizzati presso l'ISS (Spelta, 2016).

Nelle Figure 1-5 sono riportati, per i principali sierogruppi STEC, i dendrogrammi relativi a 111 ceppi STEC isolati da pazienti tra il 2010 e il 2015 e tipizzati presso l'ISS mediante PFGE: O26 (58 ceppi), O157 (28 ceppi), O111 (13 ceppi), O145 (10 ceppi), O103 (2 ceppi). L'analisi comparativa dei profili relativi a 58 ceppi STEC O26 ha consentito di individuare tre cluster (cluster D, C, E) che includono ceppi STEC caratterizzati da un livello di similarità del 100%, corrispondenti ad altrettanti cluster individuati in base a criteri di epidemiologia descrittiva (distribuzione spazio/temporale dei casi e esposizione a comuni luoghi/veicoli di infezione) (*vedi* Tabella 3). Anche gli isolati appartenenti al cluster H mostrano un livello di similarità del 100%. Per questi ceppi, tuttavia, non erano disponibili informazioni epidemiologiche più dettagliate sui pazienti. Il cluster A comprende i ceppi STEC O26 isolati dai casi di SEU coinvolti nel vasto focolaio epidemico pugliese del 2013 (Germinario *et al*., 2016). Proprio la caratterizzazione molecolare ha consentito di rivelare che si trattava di un'epidemia 'multiclonale'. Il ceppo ascrivibile al cluster G si riferisce invece ad un caso di SEU identificato nell'ambito di un cluster familiare di infezione da STEC O26 connesso ad una scuola fattoria in cui erano allevati ovini e bovini. L'unico ceppo isolato da uno dei pazienti coinvolti nel cluster mostrava una similarità del 100% con i profili ottenuti dai ceppi STEC isolati dagli animali dell'allevamento confermando il ruolo serbatoio di queste specie animali (Pierasco, 2016).

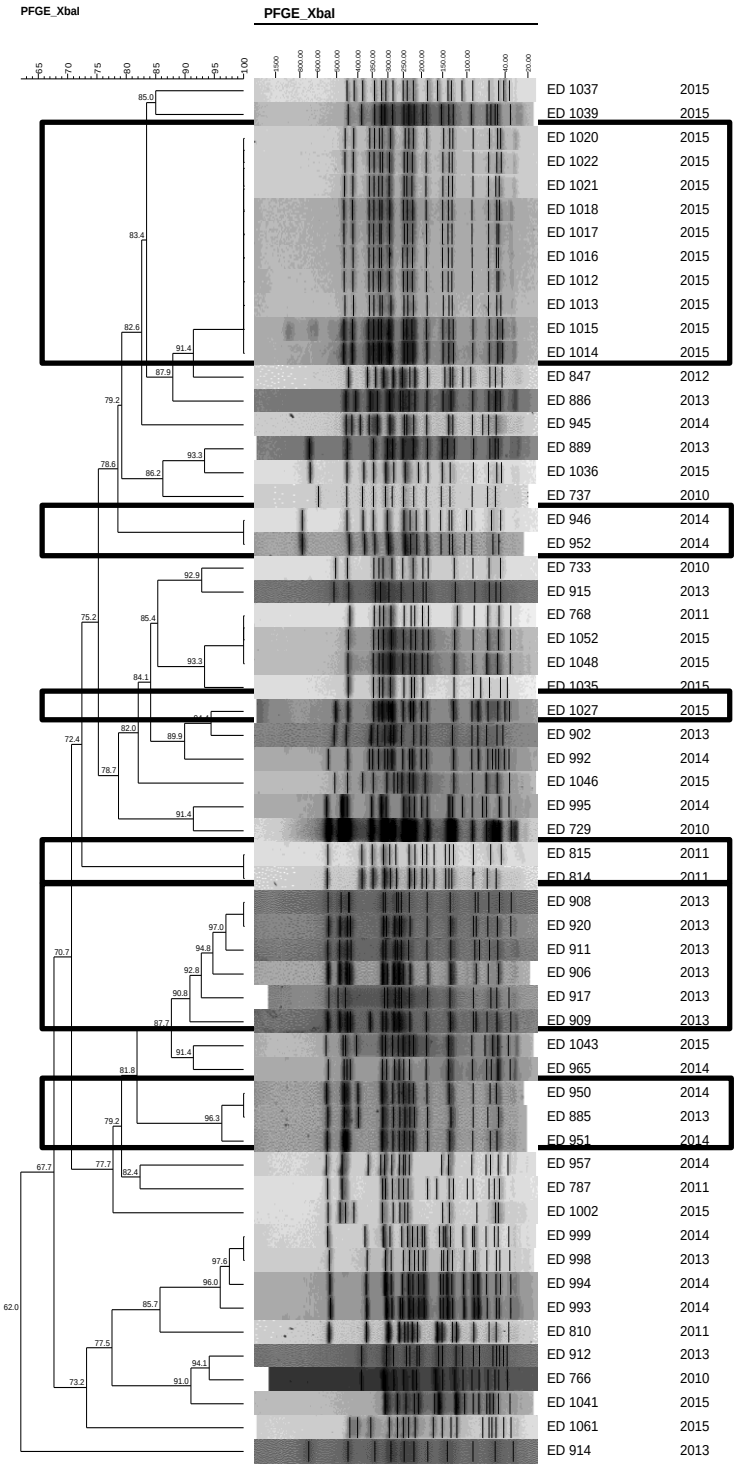


Figura 1. Dendrogramma relativo a 58 ceppi di *E.coli* produttore di Shiga-tossina (STEC) O26 isolati tra il 2010 e il 2015 in Italia da casi di infezione umana. I cluster individuati in base alla similarità dei profili elettroforetici sono evidenziati dai riquadri

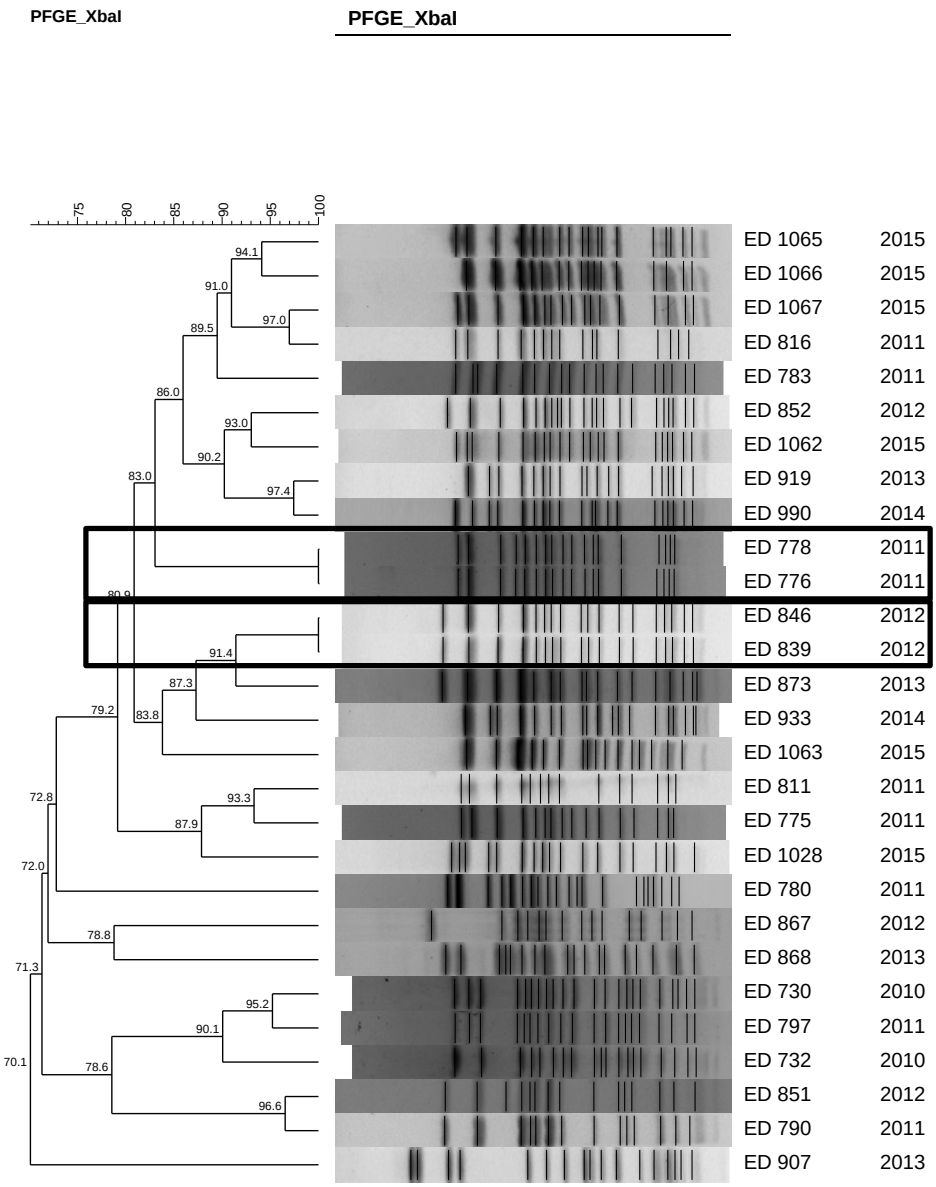


Figura 2. Dendrogramma relativo a 28 ceppi di *E.coli* produttore di Shiga-tossina (STEC) O157 isolati tra il 2010 e il 2015 in Italia da casi di infezione umana. I cluster individuati in base alla similarità dei profili elettroforetici sono evidenziati dai riquadri

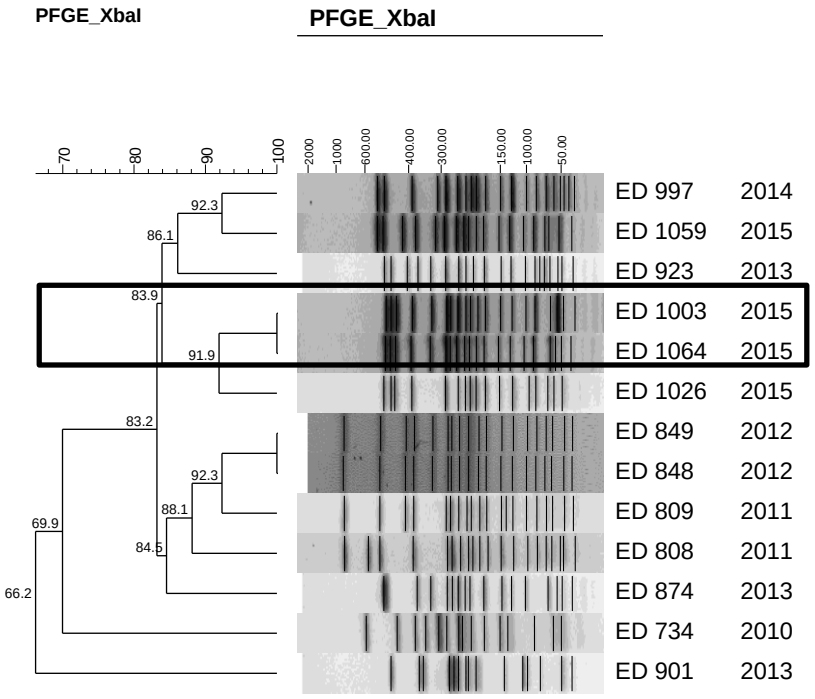


Figura 3. Dendrogramma relativo a 13 ceppi di *E.coli* produttore di Shiga-tossina (STEC) O111 isolati tra il 2010 e il 2015 in Italia da casi di infezione umana. Il cluster, individuato in base alla similarità dei profili elettroforetici dei ceppi è evidenziato dal riquadro

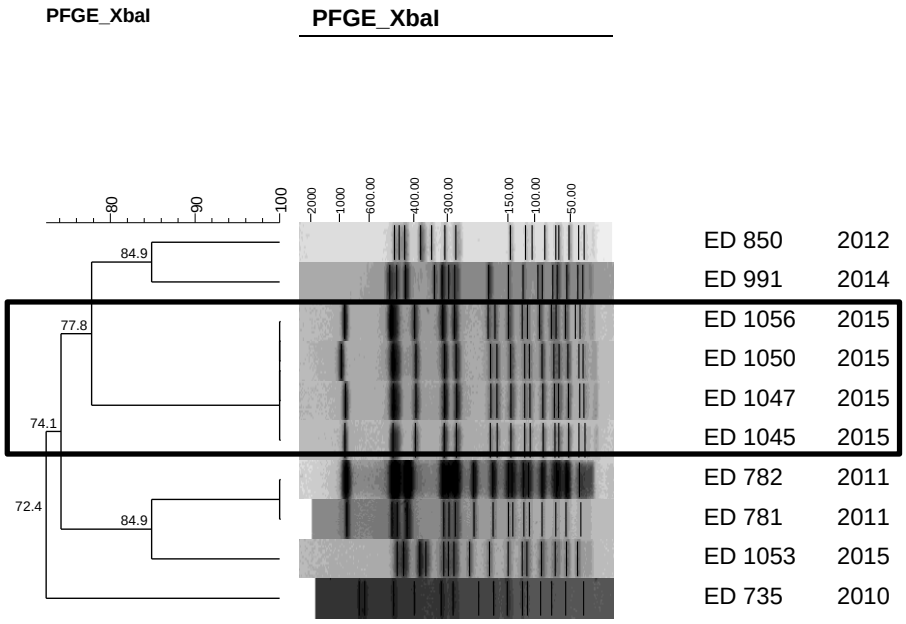


Figura 4. Dendrogramma relativo a 10 ceppi di *E.coli* produttore di Shiga-tossina (STEC) O145 isolati tra il 2010 e il 2015 in Italia da casi di infezione umana. Il cluster individuato in base alla similarità dei profili elettroforetici dei ceppi è evidenziato dal riquadro

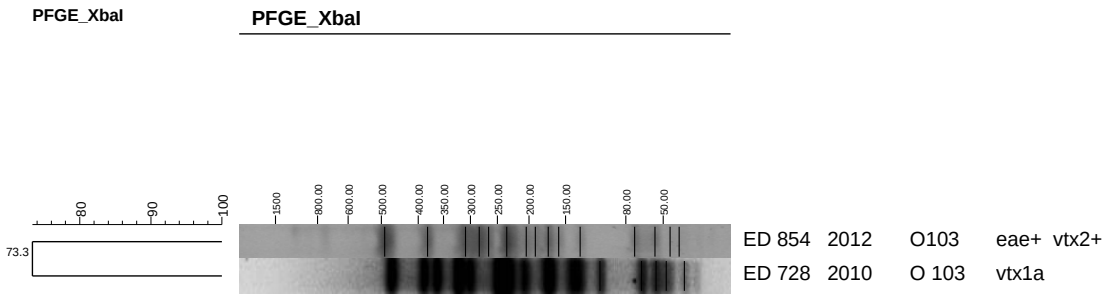


Figura 5. Dendrogramma relativo a 2 ceppi di *E.coli* produttore di Shiga-tossina (STEC) O103 isolati tra il 2010 e il 2015 in Italia da casi di infezione umana e caratterizzati mediante PFGE

Anche l'analisi comparativa dei ceppi STEC O157 isolati nel periodo 2010-2015 (28 ceppi), ha permesso di individuare due diversi cluster, con ceppi caratterizzati dal 100% di similarità dei profili elettroforetici. Per nessuno dei due, tuttavia, erano disponibili informazioni epidemiologiche più dettagliate sulle caratteristiche dei pazienti e sulle potenziali esposizioni a fonti di infezione contaminate da STEC O157.

Per i sierogruppo O111, il dendrogramma costruito su 13 ceppi, permetteva di individuare un cluster con due ceppi caratterizzati dal 100% di similarità. Si tratta di ceppi isolati nel 2015 da altrettanti apparenti casi sporadici di SEU registrati in diverse aree della Sicilia, a distanza di vari mesi (*vedi* Tabella 3). È utile sottolineare che in questo stesso cluster è compreso anche un altro ceppo STEC O111 relativo ad un terzo caso di SEU occorso in Sicilia nel gennaio 2016 e pertanto escluso dal presente report. Le informazioni relative alle esposizioni dei pazienti a potenziali fonti di infezione per STEC suggeriscono quale possibile veicolo alimentare di infezione, il consumo di latticini di produzione locale.

Il dendrogramma relativo ai ceppi STEC O145 evidenzia la presenza di un unico cluster con quattro ceppi caratterizzati dal 100% di similarità dei profili elettroforetici. Si tratta di ceppi isolati da pazienti coinvolti in un episodio epidemico identificato dalla rete regionale SEU della regione Lombardia nel 2015 (Spelta, 2016) per il quale la sorgente epidemica è rimasta ignota (*vedi* Tabella 3).

Nel corso del periodo in studio soltanto due ceppi STEC O103 sono stati isolati e caratterizzati mediante PFGE. I ceppi mostravano profili elettroforetici diversi (*vedi* Figura 5).

Ulteriori 25 ceppi STEC appartenenti a sierogruppi meno frequentemente riportati dai casi clinici di infezione da STEC (O8, O91, O113, O117, O127 e O128) sono stati tipizzati mediante PFGE. Tra questi anche tre ceppi STEC O127 isolati da pazienti che facevano parte del cluster epidemico registrato nel 2013 in una scuola materna in Lombardia (Tabella 3) e più sopra descritto. L'analisi comparativa indicava l'esistenza di un unico cluster con livello di similarità dei pulsotipi del 100%.

Sintesi dell'attività di sorveglianza trasmessa a TESSy ed EPIS, 2010-2015

Tra il 2010 e il 2015, le attività di sorveglianza più sopra descritte hanno permesso di trasmettere al sistema europeo TESSy informazioni su 393 casi totali di infezione da STEC registrati in Italia, tra i quali 326 casi confermati. Inoltre sono stati sottomessi al sistema TESSy–*isolate based* i profili molecolari di 49 ceppi STEC isolati da altrettanti casi confermati e tipizzati secondi gli standard adottati dall'ECDC (Tabella 4). Nello stesso periodo le attività di sorveglianza hanno permesso di rispondere a 21 delle 43 allerte (*Urgent Inquiry*) lanciate attraverso il sistema EPIS (*Epidemic Intelligence Information System*), relative ad altrettanti potenziali focolai epidemici di infezione da STEC di interesse transnazionale. Tra queste, tre allerte sono state lanciate dall'Italia.

Tabella 4. Dati di sorveglianza delle infezioni da STEC inviate a TESSy nel perodo 2010-2015

Anno	TESSy		
	Indicator-based		***Isolate-based***
	Casi confermati	**Casi totali**	**Profili PFGE trasmessi a ECDC**
2010	33	41	6
2011	51	69	16
2012	50	68	-
2013	65	70	4
2014	68	77	4
2015	59	68	19

SINTESI DELL'ATTIVITÀ DI SORVEGLIANZA DEL REGISTRO ITALIANO SEU TRA IL 2010 E IL 2015

Roberto Chimenz (a), Alessandra Gianviti (b), Mario Giordano (c), Silvio Maringhini (d), Marco Materassi (e), Giovanni Montini (f), Andrea Pasini (g), Carmine Pecoraro (h), Licia Peruzzi (i), Ilse Ratsch (l), Antonella Trivelli (m), Enrico Vidal (n), Gaia Scavia (o)
(a) Azienda Ospedaliera Universitaria, Policlinico G. Martino, Messina
(b) Ospedale Bambino Gesù, Roma
(c) Ospedale Giovanni XXIII, Bari
(d) AOC "G. Di Cristina", Palermo
(e) Ospedale Meyer, Firenze
(f) Istituto di Ricovero e Cura a Carattere scientifico Cà Granda, Clinica De'Marchi, Milano
(g) Ospedale S. Orsola Malpighi, Bologna
(h) Azienda Ospedaliera di Rilievo Nazionale Santobono-Pausilipon, Napoli
(i) Ospedale Regina Margherita, Torino
(l) Ospedale Salesi, Ancona
(m) Istituto di Ricovero e Cura a Carattere scientifico Pediatrico G. Gaslini, Genova
(n) Azienda Ospedaliera di Padova, Padova
(o) Dipartimento Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Nel periodo 2010-2015 sono stati riportati al Registro Italiano Sindrome Emolitico Uremica (SEU), 322 casi di malattia pari a 54 casi in media per anno. Dall'avvio della sorveglianza nel 1988, il numero di casi segnalati al Registro SEU è andato crescendo nel corso degli anni (Figura 1). I casi riportati in Italia sono stati segnalati da 24 diversi centri ospedalieri.

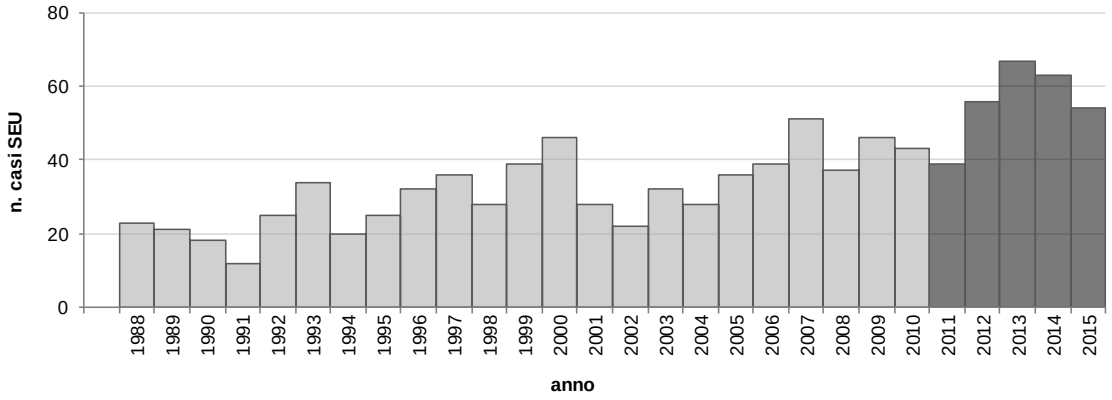


Figura 1. Distribuzione dei casi di SEU (n.1.047) riportati annualmente al Registro italiano SEU, tra il 1988 e il 2015 (gli anni 2010-2015 ai quali si riferisce il presente report sono in grigio scuro)

Complessivamente nei sei anni presi in considerazione dal presente report, il tasso annuale medio di incidenza della SEU nella popolazione pediatrica (0-15 anni) è stato di 0,59 casi per 100.000 abitanti. Si tratta di un dato lontano dai valori d'incidenza di molti Paesi dell'Europa continentale, anche se il trend rispetto al quinquennio precedente 2005-2009 (0,48 casi per abitante *100.000) appare in crescita. Il tasso d'incidenza nei bambini di età inferiore ai 5 anni (1,7 casi per abitante

*100.000) era circa tre volte superiore a quello riscontrato nell'intera popolazione pediatrica. L'età mediana dei casi di SEU registrati era di 30 mesi (IQR: 39 mesi). Nella Figura 2 è riportata la distribuzione per età dei pazienti con SEU, all'esordio clinico della malattia.

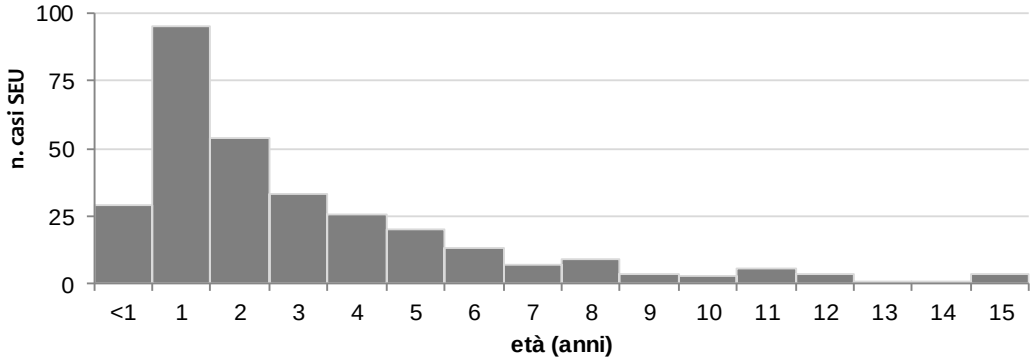


Figura 2. Distribuzione dell'età dei pazienti con SEU (in anni compiuti) riportati al Registro italiano SEU tra il 2010 e il 2015 (n. 309)

La distribuzione per sesso dei casi di SEU era identica tra maschi e femmine (50%). Nel periodo considerato, sono stati riportati casi di malattia da tutte le regioni italiane ad eccezione della Valle d'Aosta e del Molise. In 15 casi, la SEU è esordita a seguito di un soggiorno all'estero, in particolare in Francia (3 casi), Egitto (3 casi), Romania (2 casi), Albania (2 casi), Belgio (1 caso). Inoltre sono stati segnalati dalle autorità competenti del Belgio e Svizzera, due casi di SEU in pazienti stranieri che avevano soggiornato in Italia.

La distribuzione dei casi autoctoni (n. 288) per regione di esordio della malattia è riportata in Figura 3 (per 23 casi questa informazione non era disponibile).

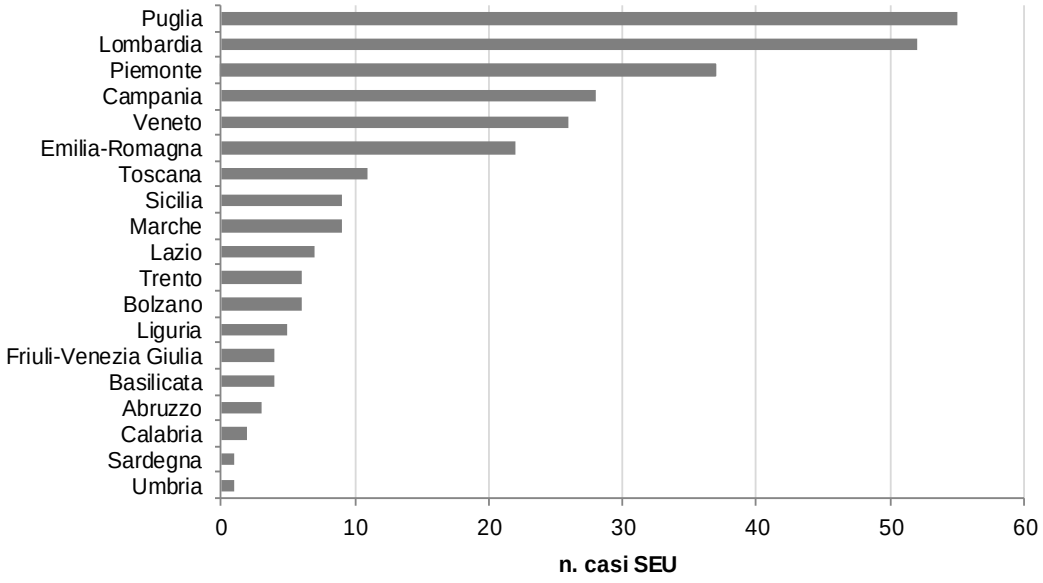


Figura 3. Distribuzione dei casi di SEU riportati al Registro italiano SEU tra il 2010-2015, per regione di esordio della malattia (n. 288)

Nella Figura 4 è mostrata la mappa delle regioni in cui è stato registrato almeno un caso di SEU tra il 2010 e il 2015.

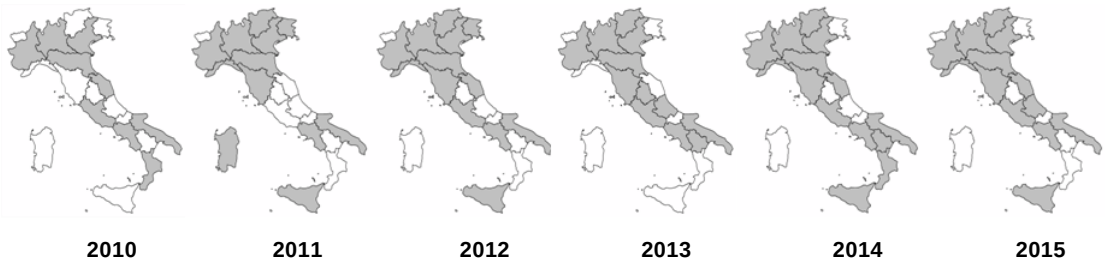


Figura 4. Regioni che hanno riportato almeno un caso di SEU al Registro italiano SEU nel periodo 2010-2015

La Figura 5 mostra la distribuzione dei casi di SEU segnalati al registro, per mese e anno. Appare evidente la marcata stagionalità, caratterizzata da un andamento tipicamente estivo/autunnale, con picchi nei mesi di luglio/agosto. Il picco di casi di SEU del mese di agosto 2013 e caratterizzato da una numerosità superiore ai valori stagionali attesi, era legato al già ricordato focolaio epidemico di infezione da STEC O26 in Puglia (Germinario *et al*., 2016).

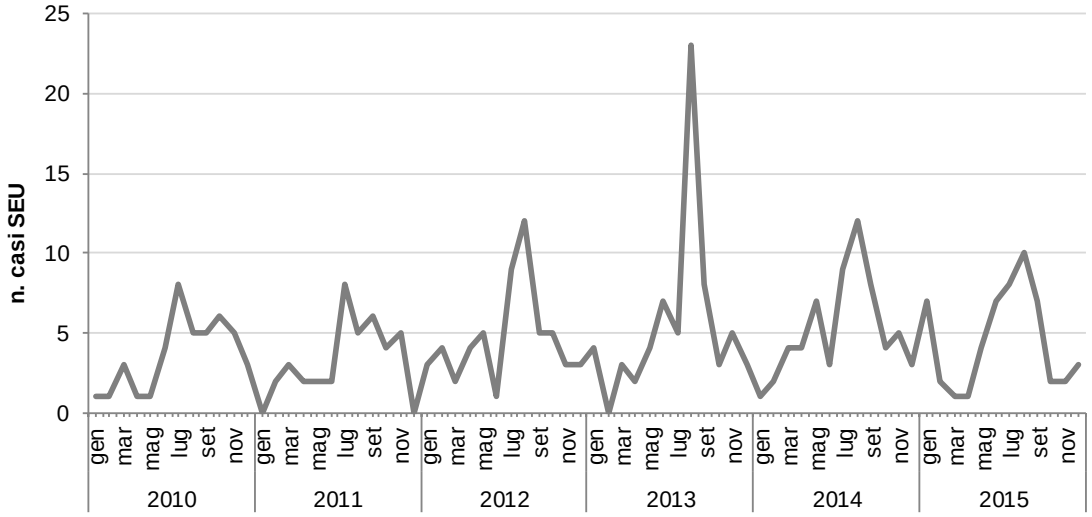


Figura 5. Distribuzione dei casi di SEU riportati al Registro italiano SEU nel periodo 2010-2015, per mese e anno di esordio clinico della malattia

Da un punto di vista clinico, l'esordio della SEU era caratterizzato da diarrea in 255 dei 275 casi con informazioni disponibili (93%). In 126 di essi si trattava di diarrea emorragica (50% dei casi con diarrea).

L'impatto di salute della SEU in termini di letalità acuta e complicanze è stato misurato attraverso uno studio retrospettivo specifico, condotto nell'ambito del Registro Italiano SEU che ha visto coinvolti 9 centri di nefrologia pediatrica e relativo a casi di SEU segnalati tra il 2009 e

il 2014. Tale studio (Appendice B) ha permesso di stimare il tasso di letalità acuta e complicanze pari rispettivamente al 3,8% dei casi (8 decessi) e 20,3% (44 casi prevalentemente complicanze di tipo neurologico) su 210 casi riportati. La proporzione di pazienti per cui è stato necessario il trattamento dialitico era pari al 48%.

Infezioni da STEC nei casi di SEU

Nei casi di SEU la diagnostica per STEC si è avvalsa dei seguenti metodi:

- isolamento dei ceppi STEC da campioni fecali mediante semina su Agar MacConkey ed esame delle colonie per produzione di Shiga-tossina (Stx) mediante saggio di citotossicità su colture di cellule Vero e presenza di geni codificanti per Stx e fattore di adesione *attaching/effacing* (*eae*) mediante PCR (3). I ceppi isolati sono tipizzati mediante identificazione dell'antigene somatico O di sierogruppo;
- esame delle feci per la presenza di Stx fecale libera mediante saggio di citotossicita su colture di cellule Vero (3, 5);
- esame delle feci per la presenza di geni *stx* e *eae* mediante saggio Real-Time PCR;
- esame dei sieri mediante ELISA per la presenza di anticorpi sierici diretti contro il lipopolisaccaride (LPS, antigene O) dei principali sierogruppi VTEC: O157, O26, O103, O111, O145 (3, 6).

Nel periodo 2010-2015, le indagini diagnostiche per STEC, condotte dall'ISS hanno riguardato 299 casi di SEU (93% dei casi di totali di SEU segnalati).

Il riscontro di un'infezione da STEC è stato ottenuto in 234 (78%) dei casi esaminati. L'isolamento di uno o più ceppi STEC è stato possibile in 72 casi. Per altri 138 pazienti, la diagnosi di infezione è stata ottenuta attraverso metodiche indirette come la ricerca degli anticorpi sierici anti-Lps per i principali sierogruppi STEC (130 casi) e il test di citotossicità su cellule Vero (8 casi). Per 24 casi la diagnosi è avvenuta grazie all'identificazione dei geni *stx*, con saggio Real-Time PCR nelle brodocolture fecali, senza successivo isolamento del ceppo STEC. Occorre sottolineare che la diagnosi, ottenuta mediante il test sulle cellule Vero e il rilevamento dei geni *stx* non consente di identificare il sierogruppo STEC infettante che pertanto era disponibile complessivamente per soli 202 casi.

Il sierogruppo identificato più frequentemente nei casi di SEU è stato O26, seguito da O157, O111, O103, O145 ed altri meno frequenti (Tabella 1).

Tabella 1. Sierogruppi *E.coli* produttore di Shiga-tossina (STEC) identificati dai casi di Sindrome Emolitico Uremica riportati al Registro italiano SEU tra il 2010 e il 2015

Sierogruppo STEC	n.	% sui casi di SEU con infezione da STEC e sierogruppo noto (n. 202)
O26	107	53,0
O157	41	20,3
O111	25	12,4
O103	17	8,4
O145	6	3,0
altri	11	5,4

altri sierogruppi includono: O117 (1 caso), O127 (1 caso), O80 (1 caso); O non-determinabile (8 casi)

In 5 casi di SEU è stata riscontrata un'infezione multipla associata cioè a più sierogruppi STEC. In tutti questi casi il sierogruppo O26 era sempre presente, in associazione con il STEC O157 (1 caso), O145, (1 caso), O111 (1 caso), O103 (1 caso) e O non determinabile (1 caso).

Oltre alla lettura della stima puntuale della frequenza dei sierogruppi identificati nel periodo di riferimento, è interessante valutare la tendenza epidemiologica nel tempo, attraverso il confronto dei sierogruppi STEC identificati nel periodo 2010-2015, rispetto a quelli relativi ai precedenti periodi di sorveglianza. La Figura 6 mostra la distribuzione di frequenza dei sierogruppi STEC tra il 1988 e il 2015. Per facilitare il confronto i dati relativi agli anni precedenti al 2010 sono stati aggregati in periodi di 11 anni ciascuno.

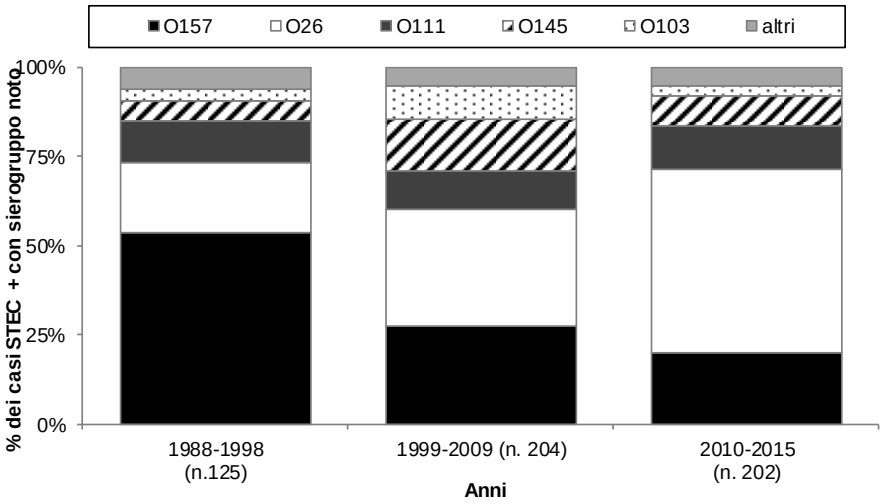


Figura 6. Distribuzione di frequenza dei sierogruppi *E.coli* produttore di Shiga-tossina (STEC) identificati dai casi di SEU riportati al Registro italiano SEU tra il 1988 e il 2015, in tre diversi periodi di sorveglianza

È interessante notare come la proporzione dei casi associati a infezione da STEC O157 sia andata progressivamente riducendosi nel tempo, a favore dei ceppi STEC non-O157. In particolare il sierogruppo O26 è andato rimpiazzando, per frequenza, il sierogruppo O157 fino a sostiuirne il ruolo di principale sierogruppo STEC diagnosticato nei casi SEU, nel periodo più recente di sorveglianza.

Tale rilievo assume implicazioni importanti in relazione all'adozione di misure di controllo delle infezioni da STEC, dal momento che l'epidemiologia delle infezioni da STEC O26 è meno nota rispetto a quella di STEC O157.

CONCLUSIONI

Ida Luzzi (a), Aurora García-Fernández (a), Anna Maria Dionisi (a), Claudia Lucarelli (a), Antonietta Gattuso (b), Monica Gianfranceschi (b), Antonella Maugliani (b), Alfredo Caprioli (b), Stefano Morabito (b), Gaia Scavia (b)
(a) Dipartimento Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità, Roma
(b) Dipartimento Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Le attività di sorveglianza di laboratorio delle infezioni da *Salmonella*, *Campylobacter*, *Listeria* e STEC intraprese tra il 2010 e il 2015 mostrano come il sistema Enter-Net Italia e il Registro italiano della Sindrome Uremico-Emolitica (SEU) consentano di cogliere pienamente il mandato europeo per la sorveglianza degli agenti a trasmissione alimentare. In termini informativi, infatti, i dati raccolti permettono di alimentare tutti i flussi informativi (TESSy ed EPIS) dedicati alle malattie trasmesse da alimenti ed acqua, sviluppati dallo *European Center for Disease Control* (ECDC) nel corso degli ultimi anni, con buona completezza dei dati sulle caratteristiche dei patogeni associati ai casi di malattia.

Il quadro epidemiologico complessivo che i dati restituiscono per il nostro Paese, nonostante i possibili *bias* strutturali che caratterizzano i due sistemi di sorveglianza, appare coerente con i quadri epidemiologici tipici di ciascun patogeno (es. distribuzione dell'età dei casi, stagionalità) e con le tendenze temporali individuate, anche a livello europeo, non solo per i singoli agenti infettivi ma anche relativamente alla dinamica dei loro sottotipi. Queste sono caratterizzate da una progressiva riduzione dell'incidenza nella popolazione delle infezioni da *Salmonella* (ad eccezione della variante monofasica di *S.* Typhimurium), da una relativa stabilità con tendenza all'aumento delle infezioni da *Campylobacter* e da STEC e da un incremento dei casi di listeriosi e della loro gravità. Tali tendenze possono essere interpretate alla luce degli interventi e/o cambiamenti occorsi nei serbatoi animali e nel settore alimentare. Risulterebbe così, relativamente semplice interpretare i trend di riduzione delle salmonellosi nell'uomo negli ultimi anni, come conseguenza dell'efficacia dei programmi di controllo delle infezioni da *Salmonella* negli allevamenti avicoli (Ministero della Salute, 2016). Più complesso, invece, relazionare i quadri epidemiologici descritti, ai cambiamenti che quotidianamente intervengono nelle abitudini alimentari dei consumatori e nella filiera di approvigionamento alimentare e di import/export delle materie prime. Si tratta di dati che completerebbero la capacità di lettura della sorveglianza.

Proprio l'elemento di continuità che i due sistemi di sorveglianza assicurano nel corso del tempo costituisce un valore aggiunto importante in termini di sorveglianza poichè consente di valutare l'evoluzione dei trend epidemiologici nel tempo, fornendo una solida base per la valutazione delle politiche di controllo dei patogeni nei serbatoi animali e nelle filiere alimentari. Purtroppo a livello territoriale la copertura della sorveglianza non è sempre assicurata con la stessa intensità e ciò costituisce un'importante criticità. Come già ricordato, infatti, occorre non sottovalutare i motivi dei *bias* che caratterizzano strutturalmente la fase di produzione e raccolta dei dati delle sorveglianze Enter-Net Italia e del Registro italiano SEU e che ne limitano soprattutto la sensibilità, la tempestività e la rappresentatività geografica. Tali criticità, già descritte nei capitoli precedenti, si riferiscono ad elementi solo parzialmente contenibili poiché spesso dipendenti dalle scelte autonome operate nei territori regionali in tema di sorveglianza delle Malattie Trasmesse da Alimenti (MTA), ovvero dalla diversa disponibilità di risorse dedicate alle attività diagnostiche, di tipizzazione e di indagine epidemiologica. La disponibilità di linee di indirizzo comuni a livello nazionale per le indagini diagnostiche ed epidemiologiche

dei casi di MTA, armonizzate anche con gli standard europei migliorerebbe sensibilmente la sorveglianza. A livello dei singoli laboratori, un elemento il cui impatto sulla sorveglianza in prospettiva dovrà essere tenuto in considerazione è l'impiego di metodiche diagnostiche indipendenti da quella culturale che non consentono l'isolamento del ceppo.

Sul piano metodologico, occorre sottolineare come l'organizzazione dei due sistemi di sorveglianza attraverso una rete ramificata sul territorio, consenta non solo un efficace trasferimento delle informazioni di sorveglianza verso l'Unione Europea (UE), per permettere una lettura complessiva dei trend epidemiologici, ma anche di dotare il nostro Paese di un sistema capace di disseminare rapidamente al territorio e rispondere ad eventuali allerte epidemiche ed emergenze nel settore alimentare.

Il contributo informativo delle reti Enter-Net Italia e del Registro SEU alla ricerca attiva di possibili casi collegati, in occasione di episodi epidemici in comunità inclusi quelli transnazionali, è stato determinante per poter caratterizzare, ovvero quantificare e qualificare il rischio epidemico nelle diverse aree territoriali italiane. È quanto avvenuto in numerose circostanze tra il 2010 e il 2015. Nel 2011 durante la grande epidemia di infezione da *E.coli* O104:H4 nel 2011 in Germania, la disseminazione dell'allerta attraverso il Registro SEU ha consentito di accertare l'assenza di casi epidemici nel nostro Paese e di rilevare che un ceppo STEC O104 con elevata similarità genetica rispetto al ceppo epidemico era stato isolato due anni prima, da un paziente con SEU rientrato da un soggiorno in Nord Africa, la stessa macroarea geografica da cui originavano i semi di fieno greco responsabili dell'epidemia tedesca (Scavia, 2011b). Nel 2012, l'attivazione della rete Enter-Net Italia ed il coinvolgimento della rete gemella EnterVet a seguito di un'allerta europea per *S.* Stanley (ECDC, 2014; Kinros *et al*., 2014), consentì non solo di identificare l'esistenza di casi d'infezione in Italia ma di verificare anche che alcuni campioni di carne di tacchino esaminati poco prima nel nostro Paese risultavano contaminati da ceppi di *S.* Stanley dello stesso pulsotipo del ceppo epidemico (Comunicazione personale Antonia Ricci). Nel 2013, un'allerta internazionale relativa ad una grave epidemia di Listeriosi negli Stati Uniti (Heimaan *et al*., 2016), attraverso il ricollegamento della rete Enter-Net Italia con le attività analitiche condotte sulle matrici alimentari (latticini) e coordinate dal LNR per la *L. monocytogenes*, ha permesso di accertare l'assenza di casi epidemici in Italia e di rivelare l'origine della contaminzione della fonte epidemica (latticini prodotti in Italia ed esportati negli USA) (Acciari *et al*., 2016). Attività analoghe a quelle descritte sono state condotte attarverso le reti Enter-Net Italia e il Registro SEU nel 2011, per l'allerta relativa ad un focolaio di infezione da *S.* Stratchona associata al consumo di pomodori pachino di produzione italiana che era stata oggetto anche di un'allerta RASFF (*Rapid Alert System for Food and Feed*) (Müller *et al*., 2013). Nel 2012 durante un focolaio di infezione di origine alimentare da *E. coli* enteroinvasivo che aveva colpito in modo importante la caserma dei vigili del fuoco di Milano (Escher *et al*., 2014). E ancora, nel 2013 in occasione del focolaio epidemico di SEU da STEC O26 in Puglia (Germinario *et al*., 2016) e dell'allerta per l'aumento di *S.* Mikawasima in UE (ECDC, 2013). Nel 2014, per un focolaio che ha coinvolto diverse scuole in Lombardia dovuto a *S.* Napoli (Huedo *et al*., 2016) e per l'epidemia di *S.* Thypimurium var. monofasica in Abruzzo (Cito *et al*., 2016). Nel 2015, in occasione del grave focolaio epidemico di Listeriosi nella regione Marche (Marini *et al*., 2016).

Queste circostanze esemplificano con chiarezza quanto la disponibilità di reti consolidate di laboratorio o centri clinici di riferimento sia indispensabile per realizzare compiutamente sul territorio, la sorveglianza delle malattie a trasmissione alimentare e non limitarne l'attività alla sola fase di raccolta e trasmissione dati. La disponibilità di reti come Enter-Net Italia e il Registro SEU costituisce, dunque, una risorsa importante per la capacità complessiva del Paese di rispondere alle emergenze epidemiche di origine alimentare. È da sottolineare in tal senso che la disponibilità di reti di riferimento nel settore medico appare meno consolidata rispetto al settore veterinario e della sicurezza alimentare, dove questa strutturazione è prevista dalla normativa

europea. Altre risorse importanti in termini di *preparedness* sono rappresentate dalla disponibilità di standard metodologici per la tipizzazione dei patogeni, armonizzati con il settore veterinario e della sicurezza alimentare ed ambientale, per assicurare la piena integrazione multisettoriale e consentire l'individuazione dei serbatoi animali, delle filiere alimentari che più pesano nel determinare le malattie nell'uomo. Parimenti, la realizzazione nei diversi ambiti disciplinari, di database di sorveglianza tra loro comparabili ed interoperbili costituisce un altro requisito chiave per realizzare l'approccio integrato, indispensabile per affrontare eventi epidemici e caratterizzare i rischi emergenti in sicurezza alimentare, così come indicato della Commissione Europea nel suo documento di indirizzo *Vision paper on the development of data bases for molecular testing of foodborne pathogens in view of outbreak preparedness* (European Commission, 2013). Proprio recentemente, la *European Food Safety Authority* (EFSA) ed ECDC hanno dato avvio alla fase di condivisione dei dati di tipizzazione molecolare dei ceppi di *Salmonella*, *Listeria* e STEC isolati da campioni clinici, alimentari e animali e che verranno analizzati congiuntamente, insieme alle informazioni epidemiologiche ad essi collegati (EFSA, 2014). Tale realizzazione costituisce la prospettiva più innovativa in termini operativi per la sorveglianza delle MTA ed è destinata a costituire lo standard futuro anche per i singoli Stati Membri, sebbene esista un'importante discussione metodologica sulla scelta dei metodi più appropriati per la caratterizzazione molecolare dei patogeni e l'applicabilità delle tecniche di WGS (*Whole Genome Sequencing*) (EFSA, 2013b; EFSA, 2014).

BIBLIOGRAFIA

Acciari VA, Iannetti L, Gattuso A, Sonnessa M, Scavia G, Montagna C, Addante N, Torresi M, Zocchi L, Scattolini S, Centorame P, Marfoglia C, Prencipe VA, Gianfranceschi MV. Tracing sources of Listeria contamination in traditional Italian cheese associated with a US outbreak: investigations in Italy. *Epidemiol Infect* 2016;144(13):2719-27.

Barco L, Ramon E, Cortini E, Longo A, Dalla Pozza MC, Lettini AA, Dionisi AM, Olsen JE, Ricci A. Molecular characterization of Salmonella enterica serovar 4,[5],12:i:- DT193 ASSuT strains from two outbreaks in Italy. *Foodborne Pathog Dis* 2014;11(2):138-44.

Caprioli A Scavia G, Morabito S. Public health microbiology of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr* 2014; 2(6).

CDC. *Control Multistate Outbreak of Salmonella Poona Infections Linked to Imported Cucumbers* Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention; 2016. Disponibile all'indirizzo https://www.cdc.gov/salmonella/poona-09-15/; ultima consultazione 15/11/2017.

CDC. *Standard operating procedure for PulseNet PFGE of Campylobacter jejuni.* Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention; 2013a. Disponibile all'indirizzo: https://www.cdc.gov/pulsenet/pdf/campylobacter-pfge-protocol-508c.pdf; ultima consultazione 15/11/17.

CDC. *Standard operating procedure for PulseNet PFGE of Listeria monocytogenes* Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention; 2013b. Disponibile all'indirizzo: https://www.cdc.gov/pulsenet/pdf/listeria-pfge-protocol-508c.pdf; ultima consultazione 15/11/17.

Cibin V, Barco L, Mancin M, Ricci A. *Enter-Vet Report 2015*. Legnaro: Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi-Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie; 2015. Disponibile all'indirizzo http://www.izsvenezie.it/documenti/temi/salmonellosi/enter-vet/entervet-report-2015.pdf; ultima consultazione 15/11/2017.

Cito F, Baldinelli F, Calistri P, Di Giannatale E, Scavia G, Orsini M, Iannetti S, Sacchini L, Mangone I, Candeloro L, Conte A, Ippoliti C, Morelli D, Migliorati G, Barile NB, Marfoglia C, Salucci S, Cammà C, Marcacci M, Ancora M, Dionisi AM, Owczartek S, Luzzi I, on behalf of the outbreak investigation group. Outbreak of unusual Salmonella enterica serovar Typhimurium monophasic variant 1,4 [5],12:i:- , Italy, June 2013 to September 2014. *Euro Surveill* 2016;21(15):pii=30194.

Connerton IF, Connerton P.L. Campylobacter foodborne disease. In: Dodd CER, Aldsworth T, Stein RA, Cliver DO, Riemann HP (Ed.). *Foodborne Diseases.* 3rd Edition. London: Elserivier-Academic Press; 2017. p. 209-21.

Crump JA, Mintz ED. Global trends in typhoid and paratyphoid fever. *Clin Infect Dis* 2010;50:241-6.

Di Giannatale E, Sacchini L, Persiani T, Alessiani A, Marotta F, Zilli K. First outbreak of food poisoning caused by Salmonella enterica subspecies enterica serovar Berta in Italy. *Lett Appl Microbiol* 2012;55(2):122-7.

Dionisi AM, Lucarelli C, Benedetti I, Owczarek S, Luzzi I. Molecular characterisation of multidrug-resistant Salmonella enterica serotype Infantis from humans, animals and the environment in Italy. *Int J Antimicrob Agents* 2011;38(5):384-9.

Dionisi AM, Owczarek S, Benedetti I, Luzzi I, García-Fernández A.Extended-spectrum β-lactamase-producing Salmonella enterica serovar Infantis from humans in Italy. *Int J Antimicrob Agents* 2016;48(3):345-6.

Dionisio D, Esperti F, Vivarelli A, Fabbri C, Apicella P, Meola N, Lencioni P, Vannucci R. Acute terminal ileitis mimicking Crohn's disease caused by Salmonella veneziana. *Int J Infect Dis* 2001;5(4):225-7.

ECDC. *EU protocol for harmonised monitoring of antimicrobial resistance in human Salmonella and Campylobacter isolates*. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2016. Disponibile all'indirizzo: https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/ Publications/antimicrobial-resistance-Salmonella-Campylobacter-harmonised-monitoring.pdf; ultima consultazione 15/11/2017.

ECDC. *JOINT ECDC–EFSA Rapid Outbreak Assessment. Multi-country outbreak of Salmonella Stanley infections Third update*. Stockholm: European Center for Disease Control; 2014. Disponibile all'indirizzo: https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/salmonella-stanley-multi-country-outbreak-assessment-8-May-2014.pdf; ultima consultazione 15/11/2017.

ECDC. *Rapid Outbreak Assessment. Unusual increase of Salmonella Mikawasima infections in humans*. Stockholm: European Center for Disease Control; 2013. Disponibile all'indirizzo https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/RRA-unusual-increase-salmonella-mikawasima-cases-in-EU-EEA-28-november-2013.pdf; ultima consultazione 15/11/2017.

ECDC. Typhoid and paratyphoid fever, European Center for disease control, 2015. Stokholm, disponibile all'indirizzo https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/Typhoid%20and%20paratyphoid%20fever%20AER_1.pdf

EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards). Scientific Opinion on the evaluation of molecular typing methods for major food-borne microbiological hazards and their use for attribution modelling, outbreak investigation and scanning surveillance: Part 1 (evaluation of methods and applications). *EFSA Journal* 2013 b;11(12):3502, 84 pp.

EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards). Scientific Opinion on the evaluation of molecular typing methods for major food-borne microbiological hazards and their use for attribution modelling, outbreak investigation and scanning surveillance: Part 2 (surveillance and data management activities). *EFSA Journal* 2014;12(7):3784, 46 pp.

EFSA. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2015. *EFSA Journal* 2017a;15(2):4694 212pp

EFSA. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA Journal* 2017b;15(12):5077.

EFSA. *United Kingdom. The report referred to in article 9 Of Directive 2003/99/EC trends and sources of zoonoses and zoonotic agents in humans, foodstuffs, animals and feedingstuffs*. Parma: European Food Safety Authority; 2013a. Disponibile all'indirizzo: https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/assets/ zoocountryreport13uk.pdf; ultima consultazione 15/11/2017

Escher M, Scavia G, Morabito S, Tozzoli R, Maugliani A, Cantoni S, Fracchia S, Bettati A, Casa R, Gesu GP, Torresani E, Caprioli A A severe foodborne outbreak of diarrhoea linked to a canteen in Italy caused by enteroinvasive Escherichia coli, an uncommon agent. *Epidemiol Infect* 2014;142(12):2559-66.

European Commission. Vision paper on the development of data bases for molecular testing of foodborne pathogens in view of outbreak preparedness. Brussels: EU; 2013. Disponibile all'indirizzo: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/biosafety-crisis-vision-paper_en.pdf; ultima consultazione 15/11/2017

Fisher IS, Jourdan-Da Silva N, Hächler H, Weill FX, Schmid H, Danan C, Kérouanton A, Lane CR, Dionisi AM, Luzzi I. Human infections due to Salmonella Napoli: a multicountry, emerging enigma recognized by the Enter-net international surveillance network. *Foodborne Pathog Dis* 2009;6(5):613-9.

Franco A, Leekitcharoenphon P, Feltrin F, Alba P, Cordaro G, Iurescia M, Tolli R, D'Incau M, Staffolani M, Di Giannatale E, Hendriksen RS, Battisti A.Emergence of a Clonal Lineage of Multidrug-Resistant ESBL-Producing Salmonella Infantis Transmitted from Broilers and Broiler Meat to Humans in Italy between 2011 and 2014. *PLoS One* 2015; 10(12).

Gallati C, Stephan R, Hächler H, Malorny B, Schroeter A, Nüesch-Inderbinen M. Characterization of Salmonella enterica subsp. enterica serovar 4,[5],12:i:- clones isolated from human and other sources in Switzerland between 2007 and 2011. *Foodborne Pathog Dis* 2013;10(6):549-54.

García-Fernández A, Gallina S, Owczarek S, Dionisi AM, Benedetti I, Decastelli L, Luzzi I. Emergence of Ciprofloxacin-Resistant Salmonella enterica Serovar Typhi in Italy. *PLoS One* 2015;10(6):e0132065.

Garvey P, Carroll A, McNamara E, McKeown PJ. Verotoxigenic Escherichia coli transmission in Ireland: a review of notified outbreaks, 2004-2012. *Epidemiology and Infection* 2016;144(5):917-26.

Germinario C, Caprioli A, Giordano M, *et al.* Community-wide outbreak of haemolytic uraemic syndrome associated with Shiga toxin 2-producing Escherichia coli O26:H11 in southern Italy, Summer 2013. *Eurosurveill* 2016; 21(38).

Gianfranceschi M, Gattuso A, Tartaro S and Aureli P. Incidence of Listeria monocytogenes in food and environmental samples in Italy between 1990 and 1999: Serotype distribution in food, environmental and clinical samples. *European Journal of Epidemiology* 2003;18:1001-6.

Goulet V, Hebert M, Hedberg C, Laurent E, Vaillant V, De Valk H, *et al*. Incidence of listeriosis and related mortality among groups at risk of acquiring listeriosis. *Clin Infect Dis* 2012;54(5):652-60.

Graves LM, Swaminathan B, Hunter SB. Subtying Listeria monocytogenes. In: Ryser ET, Marth EH (Ed.). *Listeria, listeriosis and food safety*. 3rd ed. New York: CRC Press; 2007. p. 283-304.

Graziani C, Busani L, Dionisi AM, Caprioli A, Ivarsson S, Hedenström I *et al*. Virulotyping of Salmonella enterica serovar Napoli strains isolated in Italy from human and nonhuman sourceS. *Foodborne Pathog Dis* 2011;8:997-1003.

Graziani C, Galetta P, Busani L, Dionisi AM, Filetici E, Ricci A, Caprioli A, Luzzi I. *Le infezioni da Salmonella: diagnostica, epidemiologia e sorveglianza*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2005. (Rapporti ISTISAN 05/27).

Graziani C, Losasso C, Luzzi I, Ricci A, Scavia G, Pasquali P. Salmonella. In: Dodd CER, Aldsworth T, Stein RA, Cliver DO, Riemann HP (Ed.). *Foodborne Diseases.* 3rd Edition. London: Elserivier-Academic Press; 2017. p. 133-69.

Graziani C, Luzzi I, Owczarek S, Dionisi AM, Busani L. Salmonella enterica Serovar Napoli Infection in Italy from 2000 to 2013: Spatial and Spatio-Temporal Analysis of Cases Distribution and the Effect of Human and Animal Density on the Risk of Infection. *PLoS One* 2015;10(11): e0142419

Graziani C, Mughini-Gras L, Owczarek S, Dionisi AM, Luzzi I, Busani L. Distribution of Salmonella enterica isolates from human cases in Italy, 1980 to 2011. *Euro Surveill* 2013;18(27):pii=20519.

Grimont P, Xavier-Weill F. *Antigenic formulae of the Salmonella serovars*. 9th Ed.. Paris: Institut Pasteur; 2007.

Heaton PA, Mazhar H, Nabahi A, Fernando AM, Paul SP. Neonatal meningitis and septicaemia caused by Salmonella agama. *Br J Hosp Med (Lond)* 2015;76(8):484-5.

Heiman KE, Garalde VB, Gronostaj M, Jackson KA, Beam S, Joseph L, Saupe A, Ricotta E, Waechter H, Wellman A, Adams-Cameron M, Ray G, Fields A, Chen Y, Datta A, Burall L, Sabol A, Kucerova Z, Trees E, Metz M, Leblanc P, Lance S, Griffin PM, Tauxe RV, Silk BJ Multistate outbreak of listeriosis caused by imported cheese and evidence of cross-contamination of other cheeses, USA, 2012. *Epidemiol Infect* 2016;144(13):2698-708.

Horváth JK, Mengel M, Krisztalovics K, Nogrady N, Pászti J, Lenglet A, Takkinen Investigation into an unusual increase of human cases of Salmonella Goldcoast infection in Hungary in 2009. *J Euro Surveill* 2013;18(11):20422.5.

Huedo P, Gori M, Amato E, Bianchi R, Valerio E, Magnoli L, Pontello M. A multischool outbreak due to Salmonella enterica serovar Napoli associated with elevated rates of hospitalizations and bacteremia, Milan, Italy, 2014. *Foodborne Pathog Dis* 2016;13(8):417-22.

Jensen MBF, Schjørring S, Björkman JT, Torpdahl M, Litrup E, Nielsen EM, Niskanen T. External quality assessment for molecular typing of Salmonella 2013-2015: performance of the European national public health reference laboratories. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017;36(10):1923-32.

Karpman D, Loos S, Tati R, Arvidsson I Hemolytic Uremic syndrome. *J Intern Med* 2017;281(2):123-48.

Keithlin J, Sargeant J, Thomas MK, Fazil A. Systematic review and meta-analysis of the proportion of Campylobacter cases that develop chronic sequelae. *BMC Public Health* 2014;22:1203.

Kinross P, van Alphen L, Martinez Urtaza J, Struelens M, Takkinen J, Coulombier D, Makela P, Bertrand S, Mattheus W, Schmid D, Kanitz E, Rucker V, Krisztalovics K, Paszti J, Szogyenyi Z, Lancz Z, Rabsch W, Pfefferkorn B, Hiller P, Mooijman K, Gossner C. Multidisciplinary investigation of a multicountry outbreak of Salmonella Stanley infections associated with turkey meat in the European Union, August 2011 to January 2013. *Euro Surveill* 2014;19(19). pii: 20801.

Knoblauch AM, Bratschi MW, Zuske MK, Althaus D, Stephan R, Hächler H, Baumgartner A, Prager R, Rabsch W, Altpeter E, Jost M, Mäusezahl M, Hatz C, Kiefer S. Cross-border outbreak of Salmonella enterica ssp. enterica serovar Bovismorbificans: multiple approaches for an outbreak investigation in Germany and Switzerland. *Swiss Med Wkly* 2015;145:w14182.

Lamont RF, Sobel J, Mazaki-Tovi S, Kusanovic JP, Vaisbuch E, Sun Kwon Kim, Uldbjerg N, Romero R. Listeriosis in human pregnancy: a systematic review. *J Perinat Med* 2011;39(3):227-36.

Lucarelli C, Dionisi AM, Trezzi L, Farina C, Passera M, Kärki T, D'Ancona F, Luzzi I. Molecular and epidemiological analysis of a Campylobacter jejuni outbreak in Northern Italy in November 2013. *Foodborne Pathog Dis* 2016;13(9):490-4.

Maertens de Noordhout C, Devleesschauwer B, Angulo FJ, Verbeke G, Haagsma J, Kirk M, Havelaar A, Speybroeck N. The global burden of listeriosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2014;14(11):1073-82.

Malorny B, Bunge C, Helmuth R. Discrimination of d-tartrate-fermenting and -nonfermenting Salmonella enterica subsp. enterica isolates by genotypic and phenotypic methodS. *J Clin Microbiol* 2003;41(9):4292-7.

Marini E, Magi G, Vincenzi C, Manso E, Facinelli B.Ongoing outbreak of invasive listeriosis due to serotype 1/2a Listeria monocytogenes, Ancona province, Italy, January 2015 to February 2016. *Euro Surveill* 2016;21(17).

Messens W, Bolton D, Frankel G, Liebana E, McLauchlin J, Morabito S, Oswald E, Threlfall EJ. Defining pathogenic verocytotoxin-producing Escherichia coli (VTEC) from cases of human infection in the European Union, 2007-2010. *Epidemiol Infect* 2015;143(8):1652-61

Ministero della Salute. *Piano Nazionale di controllo delle salmonellosi negli avicoli, 2016-2018.* Roma: Ministero della Salute. Disponibile all'indirizzo: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2453_allegato.pdf; ultima consultazione 15/11/2017

Morabito S, Karch H, Schmidt H, Minelli F, Mariani-Kurkdjian P, Allerberger F, Bettelheim KA, Caprioli A. Molecular characterisation of verocytotoxin-producing Escherichia coli of serogroup O111 from different countries. *J Med Microbiol* 1999;48(10):891-6.

Mossong J, Marques P, Ragimbeau C, Huberty-Krau P, Losch S, Meyer G, Moris G, Strottner C, Rabsch W, Schneider F. Outbreaks of monophasic Salmonella enterica serovar 4,[5],12:i:- in Luxemburg, 2006. *Euro Surveill* 2007;12:719.

Mughini-Gras L, Barrucci F, Smid JH, Graziani C, Luzzi I, Ricci A, Barco L, Rosmini R, Havelaar AH, VAN Pelt W, Busani L. Attribution of human Salmonella infections to animal and food sources in Italy (2002-2010): adaptations of the Dutch and modified Hald source attribution models. *Epidemiol Infect* 2014;142(5):1070-82.

Müller L, Kjelsø C, Frank C, Jensen T, Torpdahl M, Søborg B, Dorleans F, Rabsch W, Prager R, Gossner CM, Ethelberg S.Outbreak of Salmonella Strathcona caused by datterino tomatoes, Denmark, 2011. 10. *Epidemiol Infect* 2013;141(8):1625-39.

Nguyen Y, Sperandio V. Enterohemorrhagic E. coli (EHEC) pathogenesis. *Front Cell Infect Microbiol* 2012;2:90.

Oggioni C, Fontana G, Pavan A, Gramegna M, Ferretti V, Piatti A *et al*. Investigation of potential risk factors for Salmonella enterica subsp enterica serotype Napoli: a nested case-control study in Lombardia region. *Ann Ig Med Prev Comunità* 2010;22:327-35.

Ribot EM, Hise KB. Future challenges for tracking foodborne diseases: PulseNet, a 20-year-old US surveillance system for foodborne diseases, is expanding both globally and technologically. *EMBO Rep* 2016;17(11):1499-505.

Scavia G, Ciaravino G, Luzzi I, Lenglet A, Ricci A, Barco L, Pavan A, Zaffanella F, Dionisi AM. A multistate epidemic outbreak of Salmonella Goldcoast infection in humans, June 2009 to March 2010: the investigation in Italy. *Euro Surveill* 2013;18(11):20424.

Scavia G, Edefonti A, Vidal E, Emma F, Percoraro C, Amore A, *et al*. A twenty-two year epidemiological surveillance of pediatric aemolytic uremic syndrome in Italy. *Pediatr Nephrol* 2011a;26:1624-5.

Scavia G, Morabito S, Tozzoli R, Michelacci V, Marziano ML, Minelli F, Ferreri C, Paglialonga F, Edefonti A, Caprioli A Similarity of Shiga toxin-producing Escherichia coli O104:H4 strains from Italy and Germany. *Emerg Infect Dis* 2011b;17(10):1957-8.

Scheutz F, Nielsen EM, Frimodt-Møller J, Boisen N, Morabito S, Tozzoli R, Nataro JP, Caprioli A Characteristics of the enteroaggregative Shiga toxin/verotoxin-producing Escherichia coli O104:H4 strain causing the outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, May to June 2011. *Euro Surveill* 2011;16(24).pii:19889.

Schjørring S, Niskanen T, Torpdahl M, Björkman JT, Nielsen EM. Evaluation of molecular typing of foodborne pathogens in European reference laboratories from 2012 to 2013. *Euro Surveill* 2016;21(50):pii=30429.

Spinale JM, Ruebner RL, Copelovitch L, Kaplan BS. Long-term outcomes of Shiga toxin hemolytic uremic syndrome. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)* 2013;28(11):2097-105.

Swaminathan B1, Gerner-Smidt P, Ng LK, Lukinmaa S, Kam KM, Rolando S, Gutiérrez EP, Binsztein N.Building PulseNet International: an interconnected system of laboratory networks to facilitate timely public health recognition and response to foodborne disease outbreaks and emerging foodborne diseases. *Foodborne Pathog Dis* 2006;3(1):36-50.

Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL Shiga-toxin-producing Escherichia coli and haemolytic uraemic syndrome. *Lancet* 2005;365(9464):1073-86.

van Walle I. ECDC starts pilot phase for collection of molecular typing data. *Euro Surveill* 2013;18:pii=20357.

Wacheck S, Fredriksson-Ahomaa M, König M, Stolle A, Stephan R. Wild boars as an important reservoir for foodborne pathogens. *Foodborne Pathog DiS* 2010; 7(3):307-12.

WHO. *WHO estimates of the global burden of foodborne diseases. I. Foodborne diseases burden epidemiology reference group 2007-2015*. Geneva: World Health Organization; 2015.

Zottola T, Montagnaro S, Magnapera C, Sasso S, De Martino L, Bragagnolo A, D'Amici L, Condoleo R, Pisanelli G, Iovane G, Pagnini U. Prevalence and antimicrobial susceptibility of Salmonella in European wild boar (Sus scrofa); Latium Region - Italy. *Comp Immunol Microbiol Infect DiS* 2013;36(2):161-8.

APPENDICE A
Centri partecipanti alla sorveglianza

Centri regionali di riferimento Enter-Net Italia

VALLE D'AOSTA
Ospedale Regionale "U. Parini" – Claudio Giacomazzi

PIEMONTE
Istituto Zooprofilattico Sperimentale Torino – Silvia Gallina

PROVINCIA AUTONOMA DI TRENTO
APSS Trento– Italo dell'Eva

PROVINCIA AUTONOMA DI BOLZANO
APPA Bolzano, Laboratorio biologico – Alberta Stenico
Azienda Sanitaria dell'Alto Adige – Ludwig Moroder

LOMBARDIA
Università degli Studi di Milano, CEPIS – Mirella Pontello
ATS Insubria Varese – Nicola Corcione
ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo – Claudio Farina
ATS Brescia – Daria Barberis
ASST Lariana Como – Eugenio Sala
ATS Val Padana Cremona – Cristina Somenzi
ATS Brianza, Lecco – Anna Molinari
ATS Val Padana Mantova – Cristina Franchini
ATS della Montagna Sondrio – Anna Maria Cioccarelli
IRCCS San Matteo Pavia – Piero Marone
ATS Città Metropolitana Milano – Sonia Vitaliti

EMILIA ROMAGNA
Istituto Zooprofilattico Sperimentale Parma – Stefano Pongolini

MARCHE
Istituto Zooprofilattico Sperimentale Macerata – Stefano Fisichella

UMBRIA
Istituto Zooprofilattico Sperimentale Perugia – Stefania Scuota

ABRUZZO
Istituto Zooprofilattico Sperimentale Teramo – Elisabetta Di Giannatale

LAZIO
Istituto Zooprofilattico Sperimentale Roma – Stefano Bilei

CAMPANIA
Istituto Zooprofilattico Sperimentale Portici – Yolande Proroga

PUGLIA
Università di Bari – Danila De Vito

SARDEGNA
Università di Sassari – Antonio Azara

FRIULI VENEZIA GIULIA
Istituto Zooprofilattico Sperimentale Venezie – Antonia Ricci

LIGURIA
Istituto Zooprofilattico Sperimentale Torino – Silvia Gallina

VENETO
Agenzia Regionale Prevenzione e Protezione Ambientale – Gloria Bandettini

Centri clinici partecipanti al Registro italiano della Sindrome Emolitico Uremica

Ospedale Regina Margherita, Torino – Licia Peruzzi
IRCCS Burlo Garofalo, Trieste – Marco Pennesi
IRCCS Cà Granda – Clinica De'Marchi, Milano – Giovanni Montini
Azienda Ospedaliera di Padova, Padova – Enrico Vidal
IRCCS Pediatrico G. Gaslini, Genova – Antonella Trivelli
Ospedale S. Orsola Malpighi, Bologna – Andrea Pasini
Ospedale Meyer, Firenze – Paola Romagnani
Ospedale Salesi, Ancona – Ilse Ratsch
IRCCS Pediatrico Bambino Gesù, Roma – Francesco Emma
AO Pediatrica Santobono-Pausilipon, Napoli – Carmine Pecoraro
Ospedale Giovanni XXIII, Bari – Mario Giordano
AOU Policlinico G. Martino, Messina – Roberto Chimenz
AOC G. Di Cristina, Palermo – Silvio Maringhini

Centri partecipanti alla sorveglianza della *Listeria monocytogenes*

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Fermo – Barbara Palombo
AO Ospedali Riuniti Marche Nord – Laboratorio analisi Ospedale S. Croce – Barbara Pieretti
ASUR Marche AV 3 – Laboratorio analisi Civitanova Marche – Luciana Gironacci
ASUR Marche AV 4 – Laboratorio di analisi Fermo – Marisiana Granatelli
AO Università Ospedali Riuniti di Ancona – Esther Manso
Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte Liguria e Valle D'Aosta, Torino – Silvia Gallina
Azienda Ospedaliero-Universitaria Maggiore della Carità di Novara – Elisa Gobbato, Stefano Andreoni
UO Laboratorio di Sanità Pubblica, Dipartimento di Prevenzione – Trento – Marinella Frenguelli, Italo Dell'Eva
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana – Roma – Stefano Bilei, Rita Tolli
Ospedale di Bolzano – Ludwig Moroder
ORN San Giuseppe Moscati di Avellino – Gianpaolo Buonopane
Centro di Riferimentio Regionale sulle Tossinfezioni Alimentari – Regione Toscana – Costanza Pierozzi
Ospedale Santo Stefano di Prato – Roberto degli Innocenti

APPENDICE B
Analisi della mortalità e incidenza delle complicanze derivanti da sindrome emolitico uremica nei centri partecipanti al Registro italiano SEU

Background

Il Registro Italiano della Sindrome Emolitico Uremica (www.iss.it/seu) si è costituito nel 2005 nell'ambito della Società Italiana di Nefrologia Pediatrica, sulla base delle attività di studio e sorveglianza epidemiologica intraprese fin dal 1988 in collaborazione con l'Istituto Superiore di Sanità (ISS). Infatti, a differenza di altri Paesi europei, in Italia la SEU non è soggetta a notifica obbligatoria secondo il sistema di notifica delle malattie infettive (DM 15/12/1990). La segnalazione volontaria dei casi di SEU da parte dei centri di nefrologia pediatrica ha consentito di conoscere l'epidemiologia della SEU nel nostro Paese attraverso i dati di sorveglianza. Dal 2014, il Registro SEU è entrato a far parte del Sistema Statistico Nazionale (SISTAN).

I partecipanti: i centri clinici che aderiscono al Registro SEU, sono rappresentati stabilmente dai principali centri ospedalieri di nefrologia pediatrica[1] operanti sul territorio nazionale.

Obiettivi dello studio

Il presente studio ha la finalità di descrivere la frequenza della mortalità e delle complicanze tra i casi di SEU registrati dai Centri di nefrologia pediatrica aderenti al Registro Italiano SEU, tra il 2009 e il 2014. A tal fine, occorre sottolineare che esistendo una certa difficoltà nel definire univocamente gli eventi da considerare come complicanze nel decorso clinico della SEU, gli eventi presi in considerazione al fine di fornire una un'indicazione generale della gravità della malattia il Comtato Scientifico del registro ha stabilito di raccogliere dati relativi alla presenza di complicanze non renali in corso di SEU che possono costituire importanti determinanti di mortalità e morbidità (Tarr, 2005). Tra questi i sintomi/segni neurologici, l'insufficienza respiratoria o altre complicanze di SEU al momento della diagnosi. É stato inoltre usato come *proxy* di compromissione della funzionalità renale durante la malattia, la necessità di trattamento dialitico mediante emodialisi o dialisi peritoneale. Al contrario, non sono state considerate informazioni sulla presenza di proteinuria, ipertensione e insufficienza renale cronica alla dimissione, considerate sequele e non già complicanze.

Per quanto riguarda la mortalità si è convenuto di far riferimento alla stima dell'indice di letalità nella fase acuta della malattia, definita come la proporzione dei decessi durante il periodo di degenza, tra i pazienti ricoverati a seguito di un episodio acuto di SEU diagnosticato secondo i criteri adottati dal Registro (www.iss.it/seu).

Raccolta e analisi dei dati

È stato richiesto ai 12 centri partecipanti al Registro SEU di fornire i dati su tutti i casi di SEU segnalati al Registro tra il 1/1/2009 e il 31/12/2014. I dati raccolti si riferivano oltre che alle informazioni anagrafiche, ai seguenti elementi:

- presenza di diarrea prodromica
- esito indagini diagnostiche per *E. coli* produttori di Shiga-tossina (STEC)
- Segnalazione di SEU 'atipica'
- Presenza di sintomi neurologici
- Presenza di convulsioni
- Necessità di trattamento dialitico
- Tipo di trattamento dialitico (emodialisi o dialisi peritoneale)
- Altre complicanze in fase acuta
- Decesso durante il ricovero

[1] I centri di nefrologia pediatrica che partecipano stabilmente al Registro sono: AO Salesi, Ancona; AO S. Giovanni XXIII, Bari; IRCCS Meyer, Firenze; IRCCS G. Gaslini, Genova; IRCCS Ospedale Maggiore – Ca' Granda – Clinica pediatrica De Marchi, Milano; AOU Padova; IRCCS Bambino Gesù, Roma; AOU Regina Margherita, Torino; Ospedale Burlo Garofalo, Trieste; AO Santobono– Pausilipon, Napoli; AO G. Di Cristina, Palermo; AO Sant'Orsola Malpighi, Bologna; AOU G. Marino, Messina.

L'analisi dei dati ha preso in considerazione la stima della proporzione di decessi, complicazioni e trattamento dialitico tra i pazienti segnalati complessivamente dai centri clinici. Dalla stima delle complicanze e del ricorso al trattamento dialitico sono stati esclusi i pazienti deceduti. La stessa analisi è stata ripetuta stratificando i casi rispetto all'esito della diagnostica per STEC ed alla presenza o meno di diarrea prodromica. La combinazione di questi elementi costituisce un utile e semplice indicatore di prognosi (Gianviti, 2003).

Risultati

Hanno partecipato alla raccolta 9 centri clinici. Un centro ha inviato i dati oltre il termine previsto quando la validazione del dataset e l'elaborazione delle stime era già stata effettuata ed è pertanto stato escluso dall'analisi.

Complessivamente sono stati raccolti dati su 210 pazienti (media casi/centro 17,5; range 4-48).

La classificazione dei casi in base alla categoria prognostica è riportata in Tabella B1.

Tabella B1. Distribuzione dei casi di SEU segnalati tra il 2009 e il 2014, per categoria prognostica. D= diarrea prodromica; STEC= evidenza di infezione da *E.coli* produttore di Shiga-tossina (STEC).

categoria prognostica	N	%
D+VTEC+	152	72%
D-VTEC+	3	1%
D+VTEC-	24	11%
D-VTEC-	9	4%
VTEC+	8	4%
D+	1	0,5%
VTEC-	6	3%
sconosciuta	7	3%

Letalità

Tra i casi di SEU segnalati tra il 2009 e il 2014 sono stati riportati complessivamente 8 decessi in fase acuta pari ad un tasso di letalità del 3,8% del totale.

La letalità per macrocategoria prognostica è riportata in Tabella B2.

Tabella B2. Letalità (decessi su casi di SEU segnalati tra il 2009 e il 2014) per macrocategoria prognostica. D= diarrea prodromica; STEC= evidenza di infezione da *E. coli* produttore di Shiga-tossina (STEC)

LETALITA'			
MACROCATEGORIA	NO	SI	%
D+	172	5	2,8%
VTEC+	160	3	1,8%
D-	12	0	0,0%
VTEC-	37	2	15,4%

Complicanze

Tra i casi di SEU segnalati tra il 2009 e il 2014, complicanze in fase acuta sono state riportate complessivamente in 46 casi, pari al 22,8% del totale.

La proporzione di complicanze per macrocategoria prognostica è riportata in Tabella B3.

Tabella B3. Pazienti con complicanze in fase acuta, tra i casi di SEU segnalati tra il 2009 e il 2014, per macrocategoria prognostica. D= diarrea prodromica; VTEC= evidenza di infezione da E. coli produttore di Verocitoissina (VTEC)

COMPLICANZE			
MACROCATEGORIA	**NO**	**SI**	**%**
D+	133	40	22,3%
VTEC+	124	36	22,1%
D-	9	2	11,8%
VTEC-	29	8	61,5%

La proporzione di casi che presentava complicanze neurologiche, segnatamente convulsioni, ed altre complicanze (insufficienza respiratoria ed enterorragia) è riportata in Tabella B4.

Tabella B4. Pazienti con complicanze neurologiche, convulsioni e altre complicanze nei casi di SEU segnalati tra il 2009 e il 2014 per macrocategoria prognostica. D= diarrea prodromica; STEC= evidenza di infezione da *E. coli* produttore di Shiga-tossina

COMPLICANZE	N	% su totale casi
NEUROLOGICHE	41	20,3%
convulsioni	28	13,9%
ALTRE COMPLICANZE	3	1,5%
ND	8	4,0%
totale	44	22%

Dialisi

Tra i casi di SEU segnalati tra il 2009 e il 2014, la necessità del trattamento dialitico è stata riportata complessivamente in 96 casi pari al 48,0% dei pazienti con SEU. In 72 casi si trattava di emodialisi (75% dei pazienti dializzati) e in 36 di dialisi peritoneale (37,5%). Per i rimanenti casi l'informazione non era disponibile.

La proporzione di pazienti dializzati per macrocategoria prognostica è riportata in Tabella B5.

Tabella B5. Pazienti sottoposti a trattamento dialitico tra i casi di SEU segnalati tra il 2009 e il 2014, per macrocategoria prognostica. D= diarrea prodromica; VTEC= evidenza di infezione da *E. coli* produttore di Verocitoissina

	DIALISI		
CATEGORIA PROGNOSTICA	**NO**	**SI**	**%**
D+	85	81	49%
VTEC+	82	72	47%
D-	6	6	50%
VTEC-	15	22	59%

Conclusioni

La stima della mortlità (letalità) tra i casi di SEU registrati negli ultimi 5 anni nei centri di nefrologia pediatrica aderenti al Registro Italiano SEU appare in linea con i dati di letteratura internazionale per i Paesi industrializzati che riportano valori variabili tra l'1% e il 5% con una tendenza alla riduzione (Majowicz, 2014; Loirat, 2013; Spinale, 2013; Bertholet-Thomas, 2011; Tarr, 2005; Ruggenenti, 2001; Coia, 1998).

Anche il dato relativo al trattamento dialitico rientra nei valori descritti in letteratura e talvolta inferiore. Bertholet-Thomas e collaboratori (2011) indicavano un ricorso alla dialisi nel 46% dei pazienti; Grisaru *et al* così come Adragna *et al*. (in Keefe, 2014) stimavano che la percentuale di pazienti con SEU dializzati era pari al 43% rispettivamente in Canada e in Argentina. Valori superiori, pari al 52% e 68% sono riportati

da Balestracci *et al* in Argentina (in Keefe *et al*. 2014) e da Hickey *et al* in (in Keefe *et al*. 2014) USA. Infine una riduzione della percentuale di pazienti dializzati a livelli inferiori al 40% viene riportata da Bitzan (2009) e da Wong *et al* (2012) solo nel caso in cui si riescano a effettuare trattamenti di supporto ottimali (iperidratazione) all'esordio della malattia clinica.

Referenze

Bertholet-Thomas A,Ranchin B, King LA *et al*. Post-diarrheal haemolytic uremic syndrome: when shall we consider it? Which follow-up? *Arch Pediatr* 2011;18(7):823-30.

Bitzan M. Treatment options for HUS secondary to Escherichia coli O157:H7. *Kidney Int* 2009;75 (Suppl 112):S62-S66.

Coia JE Clinical, microbiological and epidemiological aspects of Escherichia coli O157 infection. *Immunol Med Microbiol* 1998;20(1):1-9.

Gianviti A. De Petris L. Edefonti A. *et al*. Risk factors for poor renal prognosis in children with hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2003;18:1229-35.

Keefe Davis T, Van De Kar NCAJ, Tarr PI. Shiga Toxin/Verocytotoxin-Producing Escherichia coli Infections: Practical Clinical Perspectives. *Microbiol Spectr.*2014;2(4)

Loirat C. Hemolytic uremic syndrome caused by Shiga-toxin-producing Escherichia coli. *Rev Prat* 2013;63(1):11-6.

Majowicz SE, Scallan E, Jones-Bitton A *et al*. Global incidence of human Shiga toxin-producing Escherichia coli infections and deaths: a systematic review and knowledge synthesis. *Foodborne Pathog Dis* 2014;11(6):447-55.

Ruggenenti P, Noris M, Remuzzi G. Thrombotic microangiopathy, hemolytic uremic syndrome, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Kidney Int* 2001;60(3):831-46. Review.

Spinale JM, Ruebner RL, Copelovitch L *et al*. Long-term outcomes of Shiga toxin hemolytic uremic syndrome. Pediatr Nephrol. 2013 Nov;28(11):2097-105. doi: 10.1007/s00467-012-2383-6.

Tarr PI, Gordon CA, Chandler WL Shiga-toxin-producing Escherichia coli and haemolytic uraemic syndrome. Lancet 2005; 365:1073-86.

Wong CS, Mooney JC, Brandt JR *et al*. Risk factors fo the Hemolyitc Uremic Syndrome in children infected with *E. coli* O157:H7: a multivariable analysis. *Clin Infect Dis* 55:33-41

Serie Rapporti ISTISAN
numero di dicembre 2017, 3° Suppl.

Stampato in proprio
Settore Attività Editoriali – Istituto Superiore di Sanità

Roma, dicembre 2017