

+



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

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

**Sorveglianza Epidemiologica e Molecolare della Listeriosi in Italia**  
**Report 2021**

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

*\*Dipartimento di Sicurezza Alimentare, Nutrizione e Sanità Pubblica Veterinaria  
\*\*Servizio Grandi Strumentazioni e Core Facilities – Area NGS*

## Premessa

La sorveglianza della listeriosi invasiva nell'uomo, in Italia, si basa sulla collaborazione volontaria tra i Laboratori di Riferimento Regionali per la sorveglianza clinica individuati negli IZZSS, i Laboratori del Servizio Sanitario Nazionale (SSN), e i Laboratori di microbiologia clinica delle Università. I centri, sul territorio nazionale, raccolgono i ceppi clinici di *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) e li inviano all'Istituto Superiore di Sanità (ISS), presso il Reparto di Sicurezza Microbiologica degli Alimenti e Malattie a Trasmissione Alimentare all'interno del quale si trova il Laboratorio di Riferimento Nazionale per la listeriosi in Italia, designato dal Ministero della Salute (Mds), con nota circolare "Sorveglianza e prevenzione della Listeriosi" (0008252-13/03/2017-DGPRE-DGPRE-P). Il laboratorio di riferimento rappresenta l'Operational Contact Point (OCP) nell'ambito del Food and Water-borne Disease (FWD) network del European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC).

Gli isolati clinici di *L. monocytogenes* vengono raccolti dall'ISS che ne effettua la caratterizzazione molecolare mediante Whole Genome Sequencing (WGS) per i centri che non dispongono di tale tecnologia. I laboratori che invece effettuano il sequenziamento, oltre ad inviare il ceppo batterico, caricano direttamente le sequenze genomiche di *L. monocytogenes* sulla piattaforma IRIDA-ARIES (<https://irida.iss.it>) mediante credenziali di accesso rilasciate dall'ISS previa autorizzazione da parte delle autorità competenti regionali. La piattaforma provvede all'analisi automatica dei dati grezzi di sequenza e alla determinazione delle caratteristiche genomiche che vengono raccolte in un database interrogabile, dove ciascun utente può consultare le informazioni analitiche relative ai propri campioni ed effettuare comparazioni con tutti i campioni presenti nel database nazionale. Per la raccolta dei ceppi l'ISS rende disponibile un servizio di spedizione mediante corriere, che ritira e consegna in ISS i ceppi batterici dalle strutture che ne fanno richiesta.

Le informazioni provenienti dalla "Scheda raccolta informazioni sui casi di listeriosi" e dal "Questionario alimentare", appositamente predisposti, unitamente ai risultati di laboratorio, consentono una più approfondita conoscenza dell'epidemiologia della listeriosi invasiva nell'uomo a livello nazionale.

I dati di sorveglianza relativi agli anni 2018, 2019 e 2020 sono disponibili in Report già pubblicati e disponibili online sul sito <https://www.iss.it/snl-chi-siamo>.

## Introduzione

L'obiettivo del report è quello di condividere con i Laboratori di Riferimento Regionali per la sorveglianza clinica, i Laboratori Ospedalieri, i Laboratori di microbiologia clinica delle Università, le Regioni e il Ministero della Salute, i risultati della sorveglianza epidemiologica e molecolare della listeriosi umana effettuata sul territorio nazionale durante il 2021.

L'analisi dei dati annuali viene eseguita nel primo semestre dell'anno successivo, pertanto in tale occasione sono stati aggiornati anche i dati relativi al numero dei ceppi clinici di *L. monocytogenes* isolati nel 2020 pervenuti in ritardo e le notifiche dei casi di listeriosi non disponibili al momento della stesura del Report 2020.

## SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA DELLA LISTERIOSI

### 1. Ceppi clinici di *L. monocytogenes* isolati nel 2021

Nel 2021 sono stati inviati all'Istituto Superiore di Sanità 178 ceppi clinici di *L. monocytogenes* da 15 Regioni Italiane (Figura 1) insieme alle schede per la raccolta dei dati epidemiologici e microbiologici. Le Regioni Lombardia, Lazio, Emilia Romagna e Piemonte hanno inviato il 72,7% del totale degli isolati clinici pervenuti in ISS. I dati relativi al totale dei casi di listeriosi notificati e le notifiche dei casi suddivisi per regioni, al momento della redazione del presente report, non erano ancora disponibili. Nell'ambito della sorveglianza viene adottata la definizione di caso in accordo con la Decisione della Commissione Europea 2018/945 del 22 giugno 2018.

**Figura 1.** Ceppi clinici di *L. monocytogenes* - anno 2021



Nella Tabella 1 vengono riportati, oltre al numero dei ceppi di *L. monocytogenes* raccolti nel 2021, l'aggiornamento del numero dei ceppi di *L. monocytogenes* isolati nel 2020 e pervenuti nei primi mesi del 2021 (9 ceppi Lombardia, 7 ceppi Sicilia, 5 ceppi Piemonte e 1 ceppo Liguria) e le notifiche dei casi di listeriosi inerenti all'anno 2020, non disponibili al momento della stesura del report 2020. Da notare come il numero dei ceppi isolati da casi di listeriosi inviati in ISS nel 2021 sia di molto inferiore rispetto al numero di isolati inviati nel 2020.

**Tabella 1.** Ceppi di *L. monocytogenes* pervenuti in ISS nel 2021 e aggiornamento dati 2020

Regione	2021		2020		
	N. ceppi	Notifiche	N. ceppi inviati Nel 2020	N. ceppi inviati nel 2021/2022 (aggiornamento)	Notifiche*
Abruzzo	1	n. d.	1		4
Basilicata	0	n. d.	0		1
Calabria	3	n. d.	3		5
Campania	0	n. d.	0		27
Emilia-Romagna	21	n. d.	25		4
Friuli-Venezia Giulia	5	n. d.	2		2
Lazio	31	n. d.	39		4
Liguria	3	n. d.	0	1	26
Lombardia	59	n. d.	50	9	46
Marche	4	n. d.	12		52
Molise	0	n. d.	0		2
Piemonte	18	n. d.	33	5	22
Puglia	0	n. d.	0		5
Sardegna	0	n. d.	2		4
Sicilia	5	n. d.	13	7	31
Toscana	8	n. d.	16		34
Trentino-Alto Adige	4	n. d.	6		Bolzano 8 Trento 29
Umbria	9	n. d.	13		0
Valle d'Aosta	1	n. d.	2		0
Veneto	6	n. d.	7		5
<b>Totale</b>	<b>178</b>	n. d.		<b>246</b>	<b>311</b>

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

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

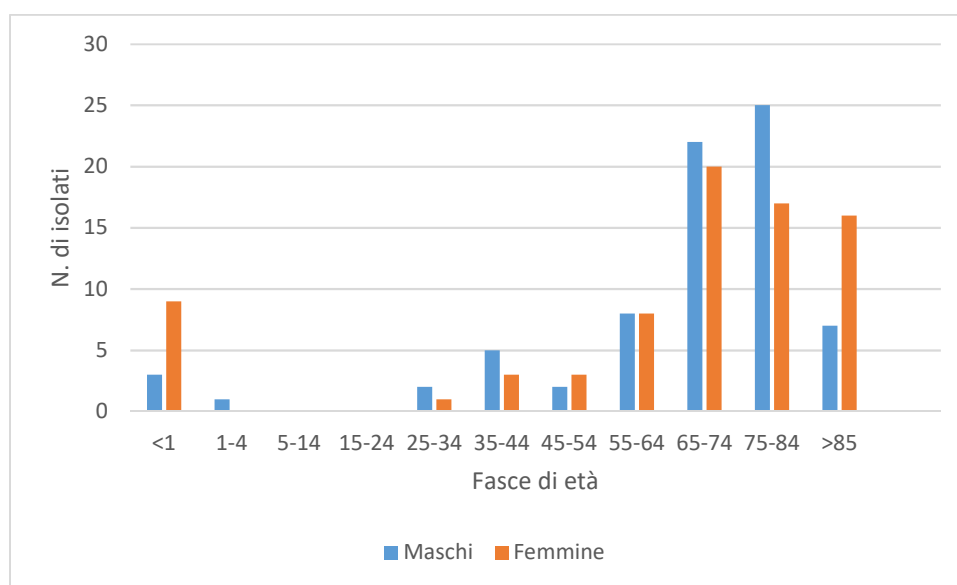
## 2. Informazioni epidemiologiche sui casi di listeriosi

Le informazioni sul paziente relative a: età, sesso, residenza, data del prelievo, quadro clinico, fattori di rischio, tipo di campione da cui è stata isolata la *L. monocytogenes*, ospedalizzazione ed esito del

ricovero, vengono raccolte attraverso la “Scheda raccolta dati epidemiologici”. Nel 93% dei casi le schede risultano complete per le informazioni riguardanti età, quadro clinico e tipo di campione da cui è stata isolata la *L. monocytogenes*; nel 87% dei casi risultano complete per le informazioni relative al sesso, nel 84% dei casi per le informazioni relative, rispettivamente a fattori di rischio e ospedalizzazione, ed infine nel 70% dei casi risultano complete per le informazioni relative alla residenza.

I dati epidemiologici relativi all’ospedale, alla data di prelievo e al tipo di campione da cui è stata isolata la *L. monocytogenes* sono inseriti nel database IRIDA-ARIES in forma anonimizzata (senza riferimenti all’identificazione del paziente) e con l’aggregazione delle informazioni sulla residenza a livello di Regione. Dall’analisi dei dati epidemiologici disponibili si osserva che il 71,1% del totale dei casi riguardava individui di età superiore ai 65 anni in particolare, quelli compresi nella fascia di età tra 70 e 101 anni. L’86,5% dei casi di listeriosi ha interessato in egual misura individui di sesso femminile (77) e individui di sesso maschile (77), mentre per il 13,5% dei casi (24) il sesso non è stato riportato (Figura 2).

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



La manifestazione clinica predominante è risultata essere la setticemia con il 73,6% dei casi, seguita da meningite (6,6%), e meningoencefalite (2,2%). Il dettaglio delle manifestazioni cliniche associate ai casi di listeriosi è riportato nella Tabella 2. Solo in 5 casi non è stata segnalata la manifestazione clinica. Oltre all’età avanzata, che rappresenta un noto fattore di rischio per la listeriosi, molti pazienti presentavano anche concomitanti condizioni patologiche, tra cui insufficienza epatica/renale, cardiopatie, diabete, vari tipi di tumori, persone che hanno avuto un trapianto, persone sottoposte a dialisi.

Il 10% (18) dei casi di listeriosi verificatisi nel 2021 era legato alla gravidanza con 5 nati pretermine e 2 aborti rispettivamente alla 18<sup>a</sup> e 21<sup>a</sup> settimana di gravidanza. Nella maggior parte dei casi il sito di isolamento della *L. monocytogenes* era il sangue (77,7%, 14), mentre nella restante parte dei casi il sito di isolamento era la placenta (16,7%, 3) e il Liquido Cefalo Rachidiano (5,6%, 1). Le regioni che

hanno segnalato casi materno/neonatali sono stati il Lazio (6), l'Umbria (4), la Lombardia (4), la Calabria (2) e la Sicilia (1).

Tutti i 178 ceppi di *L. monocytogenes* pervenuti in ISS nel 2021 sono stati isolati da pazienti ospedalizzati. L'esito della malattia è stato reso noto solo per il 19% dei casi; in dettaglio, 18 casi sono stati segnalati dalla Lombardia, 4 dal Lazio, 3 dalla Calabria, 2 dall'Umbria, 2 dal Friuli Venezia Giulia, 1 dal Piemonte, 1 dal Veneto, 1 dalla Valle d'Aosta e 1 dalle Marche. Nel 38% dei casi per i quali l'esito era disponibile (n=34) il paziente risultava deceduto.

Per la maggior parte dei casi di listeriosi segnalati nel 2021 non si conosce il decorso clinico. A tal proposito è necessario tener presente che il decorso clinico della malattia non è facile da seguire in quanto il trasferimento dei pazienti in diversi reparti rende difficoltoso per i laboratori di riferimento regionali e per gli stessi laboratori ospedalieri rintracciare tale tipo di informazione.

**Tabella 2.** Dettaglio delle manifestazioni cliniche associate ai casi di listeriosi

<b>Manifestazione clinica</b>	<b>N. di casi</b>	<b>Sito d'isolamento di <i>L. monocytogenes</i></b>
Setticemia	131	Sangue
Meningite	12	LCR
Meningoencefalite	4	Sangue/ LCR
Setticemia e Meningoencefalite	5	Sangue/LCR
Iperpiressia	3	Sangue
Polmonite	3	Sangue
Astenia	2	Sangue
Setticemia e meningite	2	Sangue/ LCR
Gastroenterite	2	Sangue
Coma epatico	1	Sangue
Insufficienza renale acuta	1	Sangue
Ictus ischemico	1	Sangue
Polmonite con versamento pleurico	1	Sangue/Liquido pleurico
Insufficienza respiratoria	1	Sangue
Ascite	1	Liquido ascitico
Infezione di protesi all'anca	1	Diversi siti rimozione protesi
Sieroma	1	Liquido articolare/Liquido sieroso
Empiema pleurico	1	Pus pleurico

## **SORVEGLIANZA MOLECOLARE MEDIANTE WGS SUI CEPPI DI *LISTERIA MONOCYTOGENES* ISOLATI NEL 2021**

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

Le sequenze genomiche ottenute dai ceppi di *L. monocytogenes* pervenuti in ISS nel 2021 sono state inserite nella piattaforma IRIDA-ARIES. Gli utenti autorizzati possono consultare e scaricare le sequenze genomiche, il sierogruppo, i determinanti di virulenza, il Sequence Type e, dal 2020, lineage e clonal complex, relativi ai ceppi della propria regione e confrontare le proprie sequenze genomiche con quelle dei ceppi circolanti in altre regioni. La piattaforma IRIDA-ARIES comprende, al momento della pubblicazione del presente report, 980 sequenze genomiche di *L. monocytogenes* provenienti da casi clinici, verificatesi in Italia, tra il 2010 e il 2021. Dei 178 ceppi di *L. monocytogenes* pervenuti in ISS nel 2021, 166 sono stati sottoposti a sequenziamento, di questi, 79 ceppi sono stati sequenziati dall'ISS, che ha provveduto a caricare le relative sequenze nella piattaforma IRIDA-ARIES, i rimanenti 87 ceppi sono stati sequenziati dai centri sul territorio e le relative sequenze sono state inserite nella piattaforma IRIDA-ARIES direttamente dagli utenti delle seguenti regioni: Lombardia (44), Lazio (12), Piemonte (12), Umbria (9), Marche (4), Toscana (3) e Liguria (3). Per quanto riguarda l'inserimento delle sequenze prodotte sul territorio, viene seguita una politica diversa a seconda delle regioni: l'Emilia-Romagna pur inviando in ISS tutti i ceppi isolati nell'arco dell'anno, sottomette solo le sequenze relative alla segnalazione di un cluster in cui la regione risultata coinvolta, mentre le restanti regioni sottomettono alla piattaforma IRIDA-ARIES tutte le sequenze disponibili.

### **4. Risultati dell'analisi genomica**

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

#### **4.1 Controllo di qualità**

Al momento della sottomissione delle sequenze nella piattaforma IRIDA-ARIES, il software esegue un controllo di qualità dei dati di sequenziamento basato sulla determinazione di: i) profondità di sequenziamento, ii) copertura in profondità e in lunghezza dei geni dello schema MLST (7 geni). La combinazione di questi parametri genera un flag contrassegnato dai termini "*passed*" per le sequenze con profondità di lettura > di 100× e con copertura dei geni MLST del 100% con profondità maggiore o uguale a 30× e "*failed*" per quelle che non soddisfano uno tra questi parametri; è da precisare che tutte le sequenze *failed* sono comunque utilizzate nel caso di analisi legate a focolai. In Figura 3 viene mostrato l'esito del controllo di qualità relativo alle sequenze dei ceppi isolati nell'anno in esame.

**Figura 3.** Controllo di qualità sulle sequenze dei ceppi clinici di *L. monocytogenes* isolati nel 2021

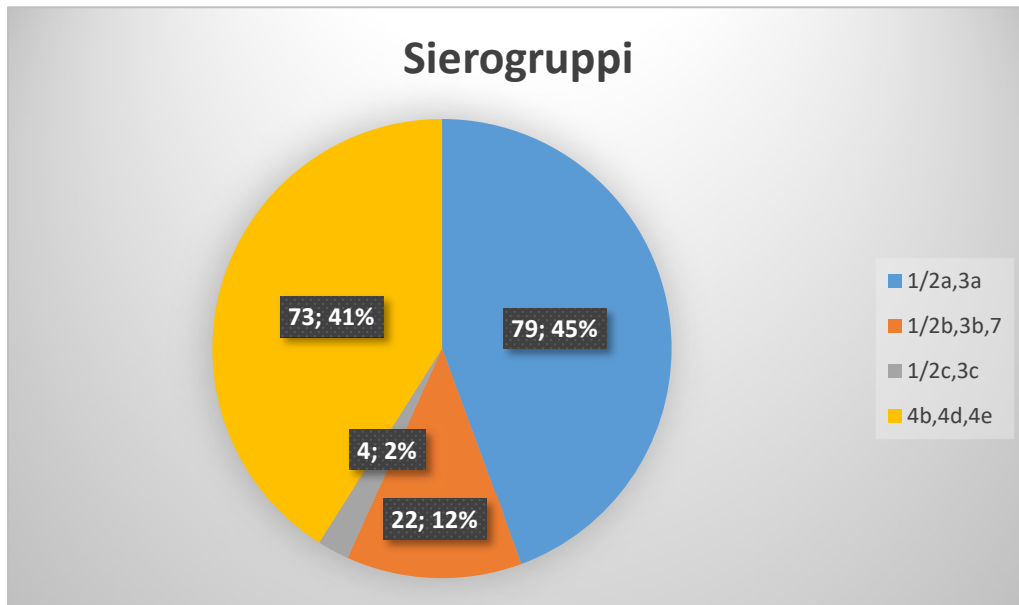


#### **4.2 Sierogruppi**

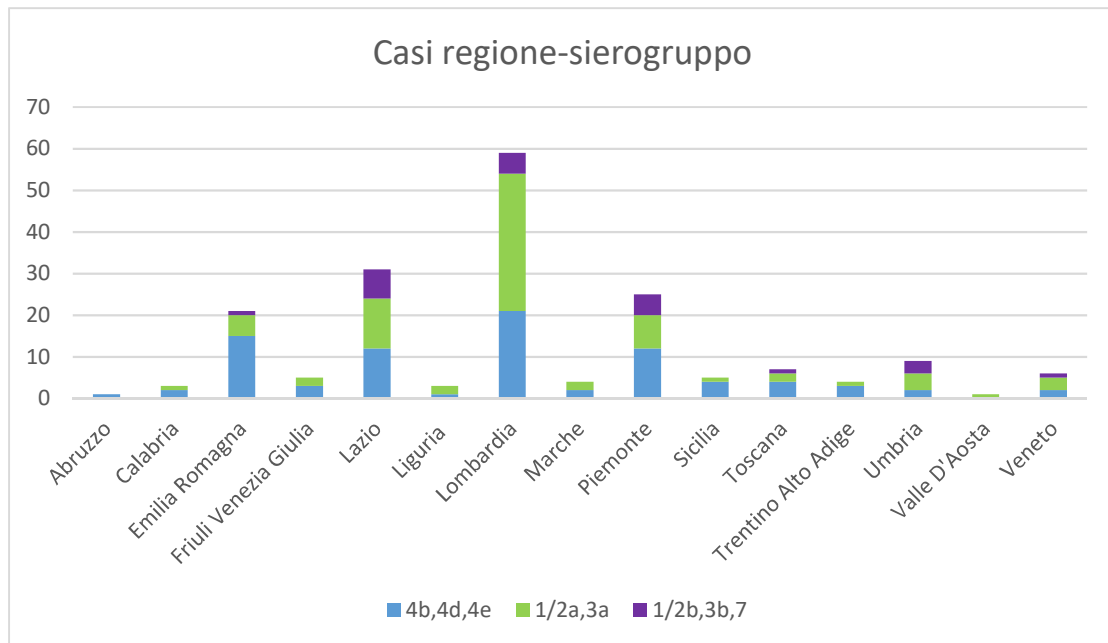
Nel 2021 i sierogruppi prevalentemente associati ai casi di listeriosi riportati all'ISS sono stati: 1/2a,3a (79, 45%), 4b,4d,4e (73, 41%), 1/2b,3b,7 (22, 12%); solo 4 casi risultano associati al sierogruppo 1/2c, 3c (2%) (Figura 4). Da notare, rispetto agli anni precedenti, un aumento degli isolati clinici con sierogruppo 1/2a, 3a. A livello regionale, limitatamente alle 4 regioni più rappresentative come numero di isolati clinici inviati, il sierogruppo 1/2a, 3a prevale in Lombardia con 33/59 ceppi (56%) e nel Lazio con 12/31 ceppi (38,7%). Il sierogruppo 4b, 4d, 4e prevale in Lombardia con 21/59 ceppi (35,6%) seguita dall'Emilia Romagna con 15/21 ceppi (71,4%) e dal Lazio con 12/31 ceppi (35,6%), rispettivamente (Figura 5). In generale, i sierogruppi 1/2a,3a e 4b,4d,4e risultano essere quelli maggiormente associati ai casi di setticemia, mentre il sierogruppo 4b,4d,4e risulta essere legato soprattutto ai casi di meningite.



**Figura 4.** Distribuzione dei sierogruppi identificati mediante analisi genomica nel 2021



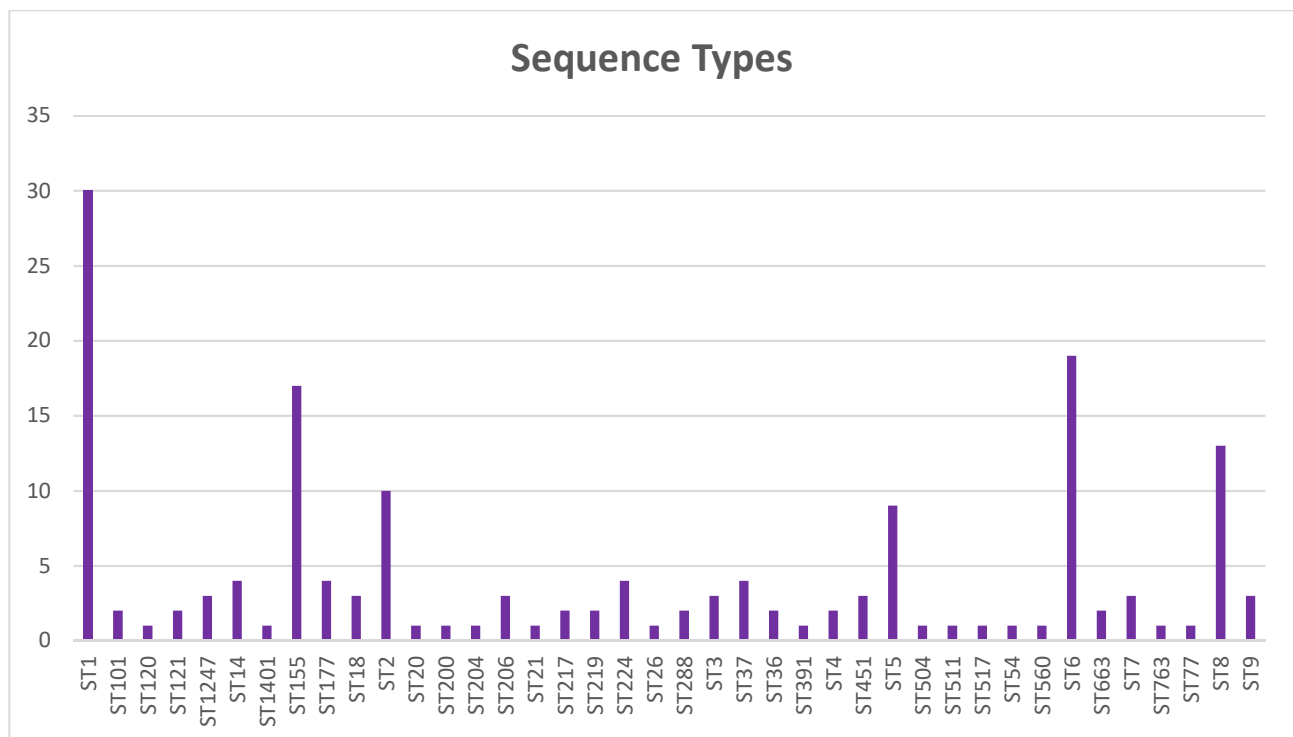
**Figura 5.** Distribuzione dei sierogruppi divisi per Regione di provenienza (2021)



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

La maggior parte dei ceppi clinici di *L. monocytogenes* appartiene al Lineage I (55%), la restante parte al Lineage II. I ceppi isolati nel 2021 risultano divisi in 40 Sequence Types/Clonal Complex diversi a dimostrazione dell'ampia varietà che caratterizza la popolazione di *L. monocytogenes* presente in Italia. Nello specifico, i ceppi isolati nel 2021 risultano distribuiti prevalentemente fra 6 diversi "Sequence Types": ST1, ST2, ST5, ST6, appartenenti al Lineage I e ST8 e ST155 appartenenti al Lineage II, equamente distribuiti su tutta la penisola (Figura 6). Rispetto all'anno precedente si assiste ad un aumento del ST1 (18, 1% nel 2021, 15% nel 2020) e ad una diminuzione di ST2 (6% nel 2021, 13,5% nel 2020) e del ST5 (5,4% nel 2021, 15,6% nel 2020). Nel 2021 sono stati messi in evidenza tre ST numericamente non rilevanti nel 2020, in particolare il ST6 (11,4%), ST155 (10,2%) e ST8 (7,8%). In generale, nel 2021, i ST più rappresentativi risultano essere il ST1, il ST6 e il ST155 tutti relativi a ceppi isolati da casi di setticemia nell'uomo.

**Figura 6.** Distribuzione dei diversi ST degli isolati clinici di *L. monocytogenes* nel 2021



### 4.4. Analisi dei cluster genomici

Un cluster di isolati clinici è definito come un gruppo di due o più genomi di *L. monocytogenes* che differiscono per non più di sette differenze alleliche sul totale del "core genome" della specie che include un totale 1.748 geni. Questa misura identifica un grado di correlazione tra isolati clinici che può indicare un'origine clonale comune e che pertanto deve essere approfondita a livello epidemiologico.

L'analisi filogenetica dei genomi dei 166 ceppi di *L. monocytogenes* inseriti nella piattaforma IRIDA-ARIES nel 2021 ha consentito l'identificazione di 25 cluster, la maggior parte dei quali è composta da un numero di ceppi che varia da 2 a 8. Solo due cluster, il cluster 9 e il cluster 6 sono composti rispettivamente da 11 e 10 ceppi.

Il cluster\_ 9 comprende: 1 ceppo isolato nel Veneto, 1 in Toscana, 2 ceppi isolati in Piemonte e 7 ceppi isolati in Lombardia; tutti gli 11 ceppi appartengono al ST6, CC6, Lineage I, sierogruppo 4b, 4d, 4e.

Il cluster\_ 6 comprende: 1 ceppo isolato in Liguria, 1 nel Lazio, 2 in Lombardia, 2 in Umbria, 2 in Piemonte e 2 nel Veneto; tutti e 10 i ceppi appartengono al ST155, CC155, Lineage II, sierogruppo 1/2a, 3a.

Da segnalare il Cluster\_4 costituito da 5 ceppi tutti isolati nel Lazio in un periodo compreso tra febbraio e maggio 2021. Tutti e 5 i ceppi presentavano profili allelici strettamente correlati con  $\leq 4$  differenze alleliche (cgMLST secondo lo schema di Moura) (Tabella 3).

L'analisi filogenetica dei genomi dei ceppi clinici di *L. monocytogenes* ottenuta comparando tutti i dati presenti nel database IRIDA-ARIES dal 2010 al 2021, ha consentito l'identificazione di 90 cluster. Diciannove cluster (1, 11, 2, 28, 3, 31, 32, 39, 4, 5, 53, 6, 76, 8, 80, 81, 84, 9, 90) risultano composti da un numero di ceppi che varia da 12 a 47 con un'estesa diffusione geografica, coinvolgendo fino a 11 regioni. Come per il 2020, anche per il 2021 particolare attenzione va rivolta ai cluster 1, 4 e 90, così come ai cluster 6, 11, 9 e 31.

Il cluster\_ 1 (ST8, CC8, Lineage II, 1/2a, 3a) risulta composto da 43 ceppi di *L. monocytogenes*, isolati in 11 Regioni con una distribuzione geografica che comprende il nord (Lombardia 17, Piemonte 4, Veneto 4, Emilia Romagna 4, Trentino Alto Adige e Friuli Venezia Giulia 1) il centro (Lazio 5, Umbria 2, Toscana e Marche 1) e il sud (Calabria 4), e una distribuzione temporale che va dal 2014 al 2021. Tutti e 47 ceppi mostrano una differenza allelica compresa tra 1 e 18 AD (cgMLST secondo lo schema di Moura et al. 2016) e di questi, 19 ceppi isolati rispettivamente in Lombardia (7), Lazio (3), Calabria (3), Veneto (2) Emilia Romagna (2), Friuli Venezia Giulia (1) e Umbria (1) presentano un profilo con  $\leq 4$  differenze alleliche.

Il cluster\_ 4 (ST5, CC5, Lineage I, 1/2b, 3b, 7) risulta composto da 47 ceppi di *L. monocytogenes* isolati in 4 Regioni: Lazio (38), Lombardia (5), Marche (3) e Piemonte (1) con una distribuzione temporale che va dal 2013 al 2021. Tutti e 47 ceppi mostrano una differenza allelica compresa tra 1 e 17 AD (cgMLST secondo lo schema di Moura et al. 2016), di questi, 29 ceppi isolati rispettivamente nel Lazio (21), Lombardia (4), Marche (2) e Piemonte (1) presentano un profilo con  $\leq 4$  differenze alleliche.

Il cluster\_ 90 (ST2, CC2, Lineage I, 4b, 4d, 4e) risulta composto da 33 ceppi di *L. monocytogenes* isolati in 5 Regioni: Sicilia (26), Lombardia (3), Piemonte (2), Lazio (1) e Toscana (1), con una distribuzione temporale che va dal 2019 al 2021. Tutti e 33 ceppi mostrano una differenza allelica compresa tra 0 e 13 AD (cgMLST secondo lo schema di Moura et al. 2016) e di questi, 26 ceppi isolati rispettivamente in Sicilia (21), Lombardia (3) e Piemonte (2) presentano un profilo con  $\leq 4$  differenze alleliche. In particolare 11 ceppi isolati in Sicilia, 2 ceppi isolati in Piemonte e 1 ceppo isolato in Lombardia presentano un profilo con 0 alleli di differenza.

Il cluster\_ 6 (ST155, CC155, Lineage II, 1/2a, 3a) risulta composto da 33 ceppi di *L. monocytogenes* isolati in 9 Regioni: Emilia Romagna (12), Lombardia (7), Veneto (4), Toscana (3), Umbria (2),

Piemonte (2), Lazio (1), Liguria (1) e Campania (1) con una distribuzione temporale che va dal 2011 al 2021. Tutti e 33 ceppi mostrano una differenza allelica compresa tra 0 e 17 AD (cgMLST secondo lo schema di Moura et al. 2016) e di questi, 11 ceppi isolati rispettivamente in Veneto (3), Lombardia (2), Piemonte (2), Umbria (2), Lazio (1) e Toscana (1) presentano un profilo con  $\leq 4$  differenze alleliche.

Il cluster \_11 (ST7, CC7, Lineage II, 1/2a,3a) risulta composto da 31 ceppi di *L. monocytogenes* isolati in 4 Regioni: Marche (24), Emilia Romagna (5), Umbria (1) e Lombardia (1), con una distribuzione temporale che va dal 2011 al 2018. Tutti e 31 i ceppi mostrano una differenza allelica compresa tra 0 e 17 AD (cgMLST secondo lo schema di Moura et al. 2016) e di questi, 22 ceppi isolati rispettivamente nelle Marche (19), Emilia Romagna (3) e Umbria (1) presentano un profilo con  $\leq 4$  differenze alleliche.

Il cluster\_9 (ST6, CC6, Lineage I, 4b, 4d, 4e) risulta composto da 23 ceppi di *L. monocytogenes* isolati in 5 Regioni: Lombardia (14), Piemonte (5), Toscana (1), Veneto (1), Trentino Alto Adige (1) e Valle d'Aosta (1), con una distribuzione temporale che va dal 2017 al 2021. Tutti e 23 ceppi mostrano una differenza allelica compresa tra 0 e 16 AD (cgMLST secondo lo schema di Moura et al. 2016), di questi, 9 ceppi isolati rispettivamente in Lombardia (7), Toscana (1) e Valle d'Aosta (1) presentano un profilo con  $\leq 4$  differenze alleliche.

Il cluster\_31 (ST38, CC101, Lineage II, 1/2a, 3a) risulta composto da 23 ceppi di *L. monocytogenes* tutti isolati in Lombardia: 17 ceppi nel 2010, 5 ceppi nel 2011 e 1 ceppo nel 2013 (Tabella 4).

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

**Tabella 3.** Cluster individuati nel 2021

Cluster	Sequence type Clonal Complex	Lineage	Sierogruppo	Numero di casi	Regioni coinvolte nel cluster
Cluster_1	ST8/CC8	II	1/2a,3a	8	Lombardia, Marche, Piemonte, Trentino Alto Adige
Cluster_106	ST1/CC1	I	4b,4d,4e	2	Lombardia
Cluster_165	ST14/CC14	II	1/2a,3a	3	Lazio, Toscana
Cluster_182	ST1/CC1	I	4b,4d,4e	2	Liguria, Toscana
Cluster_227	ST1/CC1	I	4b,4d,4e	2	Lombardia
Cluster_229	ST37/CC37	II	1/2a,3a	3	Lombardia
Cluster_243	ST177/CC177	II	1/2a,3a	4	Lombardia Piemonte
Cluster_249	ST8/CC8	II	1/2a,3a	2	Lombardia
Cluster_262	ST6/CC6	I	4b,4d,4e	6	Lazio, Abruzzo
Cluster_270	ST663/CC663	I	4b,4d,4e	2	Calabria
Cluster_29	ST206/CC14	II	1/2a,3a	3	Liguria, Lombardia
Cluster_300	ST1/CC1	I	4b,4d,4e	2	Piemonte
Cluster_301	ST217/CC217	I	4b,4d,4e	2	Piemonte
Cluster_32	ST2/CC2	I	4b,4d,4e	3	Lazio, Piemonte
Cluster_36	ST1247/CC8	II	1/2a,3a	2	Lazio
Cluster_38	ST38/CC101	II	1/2a,3a	2	Lombardia
Cluster_39	ST3/CC3	I	1/2b,3b,7	2	Piemonte, Umbria
Cluster_4	ST5/CC5	I	1/2b,3b,7	5	Lazio
Cluster_6	ST155/CC155	II	1/2a,3a	10	Lazio, Liguria, Lombardia, Piemonte, Umbria, Veneto
Cluster_76	ST1/CC1	I	4b,4d,4e	4	Lombardia, Marche, Sicilia
Cluster_8	ST288/CC288	I	1/2b,3b,7	2	Piemonte
Cluster_80	ST224/CC224	I	1/2b,3b,7	3	Lombardia
Cluster_84	ST155/CC155	II	1/2a,3a	5	Calabria, Friuli Venezia Giulia, Lombardia, Piemonte
Cluster_9	ST6/CC6	I	4b,4d,4e	11	Lombardia, Piemonte, Toscana, Veneto
Cluster_90	ST2/CC2	I	4b,4d,4e	2	Sicilia

**Tabella 4.** Cluster individuati nel periodo 2010-2021

Cluster	Sequence Type Clonal Complex	Lineage	Sierogruppo	Numero di casi nel cluster	Regioni coinvolte nel cluster
Cluster 1	ST8/CC 8	II	1/2a, 3a	43	Calabria, Emilia Romagna, Friuli Venezia Giulia, Lazio, Lombardia, Marche, Piemonte, Toscana, Trentino Alto Adige, Umbria, Veneto (2014, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021)
Cluster 10	ST4/CC4	I	4b, 4d, 4e	6	Veneto, Toscana, Lazio (2014, 2017, 2018, 2019, 2020)
Cluster 100	ST1/CC1	I	4b, 4d, 4e	6	Lombardia, Piemonte, Umbria, Toscana (2018, 2019, 2021)
Cluster 102	ST1/CC1	I	4b, 4d, 4e	2	Marche, Lombardia (2018)
Cluster 103	ST394/CC415	II	1/2a, 3a	7	Toscana, Friuli Venezia Giulia, Marche (2015, 2016, 2018)
Cluster 105	ST2/CC2	I	4b, 4d, 4e	2	Lazio, Marche (2018, 2020)
Cluster 106	ST1/CC1	I	4b, 4d, 4e	9	Emilia Romagna, Lombardia, Piemonte, Toscana, Umbria (2013, 2018, 2019, 2020, 2021)
Cluster 11	ST7/CC7	II	1/2a, 3a	31	Emilia Romagna, Lombardia, Marche, Umbria (2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2018)
Cluster 12	ST8/CC8	II	1/2a, 3a	2	Basilicata, Lazio (2016)
Cluster 13	ST1/CC1	I	4b, 4d, 4e	4	Emilia Romagna, Marche (2012, 2014, 2019)
Cluster 14	ST29/CC29	II	1/2a, 3a	5	Trentino Alto Adige, Lombardia, Marche, Emilia Romagna (2011, 2013, 2014, 2015)
Cluster 15	ST1/CC1	I	4b, 4d, 4e	3	Lombardia (2010)
Cluster 150	ST391/CC89	II	1/2a, 3a	2	Lombardia, Emilia Romagna (2012, 2017)
Cluster 156	St9/CC9	II	1/2c, 3c	2	Piemonte, Emilia Romagna (2020)
Cluster 159	ST20/20	II	1/2a, 3a	3	Piemonte, Lombardia (2018, 2021)
Cluster 16	ST1/CC1	I	4b, 4d, 4e	2	Marche (2015, 2016)
Cluster 165	ST14/CC14	II	1/2a, 3a	3	Lazio, Toscana (2021)
Cluster 166	ST87/CC87	I	1/2b, 3b, 7	2	Piemonte (2020)
Cluster 167	ST101/CC101	II	1/2a, 3a	2	Umbria, Lombardia (2020)
Cluster 17	ST1/CC1	I	4b, 4d, 4e	6	Trentino Alto Adige, Emilia Romagna, Marche, Piemonte (205, 2018, 2019)
Cluster 181	ST38/CC101	II	1/2a, 3a	3	Lombardia, Toscana (2015, 2018)
Cluster 182	ST1/CC1	I	4b, 4d, 4e	5	Toscana, Liguria (2018, 2019, 2020, 2021)
Cluster 191	ST37/CC37	II	1/2a, 3a	3	Lombardia, Puglia (2019, 2020, 2021)
Cluster 2	ST1/CC1	I	4b, 4d, 4e	12	Campania, Emilia Romagna, Friuli Venezia Giulia, Lazio, Lombardia, Toscana (2013, 2017, 2018, 2019)
Cluster 201	ST5/CC5	I	1/2b, 3b, 7	3	Lombardia, Trentino Alto Adige, Veneto (2020)
Cluster 209	ST37/CC37	II	1/2a, 3a	2	Umbria (2020)
Cluster 217	ST3/CC3	I	1/2b, 3b, 7	2	Umbria, Lombardia (2018, 2020)
Cluster 227	ST1/CC1	I	4b, 4d, 4e	4	Lombardia, Lazio (2018, 2020, 2021)
Cluster 228	ST18/CC18	II	1/2a, 3a	3	Lombardia, Piemonte (2019, 2020, 2021)
Cluster 229	ST37/CC37	II	1/2a, 3a	4	Lombardia, Toscana (2018, 2021)
Cluster 243	ST177/CC177	II	1/2a, 3a	4	Piemonte, Lombardia (2021)
Cluster 244	ST26/CC26	II	1/2a, 3a	2	Lombardia (2021)
Cluster 249	ST8/CC8	II	1/2a, 3a	2	Lombardia (2021)

Cluster	Sequence Type Clonal Complex	Lineage	Sierogruppo	Numero di casi nel cluster	Regioni coinvolte nel cluster
Cluster 258	ST77/CC77	I	1/2b, 3b, 7	2	Umbria, Veneto (2018, 2021)
Cluster 262	ST6/CC6	I	4b, 4d, 4e	7	Lazio, Abruzzo (2020, 2021)
Cluster 263	ST1/CC1	I	4b, 4d, 4e	3	Lombardia, Lazio (2018, 2021)
Cluster 265	ST1/CC1	I	4b, 4d, 4e	2	Lombardia, Marche (2020, 2021)
Cluster 270	ST663/CC663	I	4b, 4d, 4e	3	Calabria, Lombardia (2018, 2021)
Cluster 28	ST325/Cc31	II	1/2a, 3a	13	Lombardia, Piemonte, Trentino Alto Adige, Veneto (2011, 2017, 2018, 2019, 2020)
Cluster 29	ST206/CC14	II	1/2a, 3a	5	Liguria, Lombardia, Marche, Piemonte (2017, 2018, 2021)
Cluster 297	St504/CC475	II	1/2a, 3a	2	Piemonte (2020)
Cluster 298	ST398/CC398	II	1/2a, 3a	2	Piemonte, Lazio (2019, 2020)
Cluster 299	ST9/CC9	II	1/2c, 3c	2	Piemonte, Marche (2020, 2021)
Cluster 3	ST1/CC1	I	4b, 4d, 4e	12	Lombardia, Piemonte, Trentino Alto Adige (2017, 2018, 2021)
Cluster 300	ST1/CC1	I	4b, 4d, 4e	2	Piemonte (2021)
Cluster 301	ST217/CC217	I	4b, 4d, 4e	2	Piemonte (2021)
Cluster 31	ST38/CC101	II	1/2a, 3a	23	Lombardia (2010, 2011, 2013)
Cluster 311	ST517/CC517	I	1/2b, 3b, 7	2	Lombardia (2020, 2021)
Cluster 313	ST219/CC4	I	4b, 4d, 4e	2	Lombardia, Piemonte (2019, 2021)
Cluster 32	ST2/CC2	I	4b, 4d, 4e	10	Campania, Lazio, Marche, Piemonte (2016, 2018, 2019, 2020, 2021)
Cluster 328	ST36/CC36	II	1/2a, 3a	3	Lombardia (2014, 2017, 2019)
Cluster 36	ST1247/CC8	II	1/2a, 3a	5	Lazio, Lombardia, Emilia Romagna (2019, 2021)
Cluster 37	ST8/CC8	II	1/2a, 3a	4	Lazio, Umbria, Lombardia (2018, 2019)
Cluster 39	ST3/CC3	I	1/2b, 3b, 7	12	Lombardia, Piemonte, Toscana, Umbria (2018, 2019, 2020, 2021)
Cluster 4	ST5/CC5	I	1/2b, 3b, 7	47	Lazio, Lombardia, Marche, Piemonte (2013, 2015, 2018, 2019, 2020, 2021)
Cluster 40	ST9/CC9	II	1/2c, 3c	3	Lombardia, Lazio (2019)
Cluster 45	ST32/CC32	I	4b, 4d, 4e	4	Piemonte, Lombardia, Trentino Alto Adige (2019, 2020)
Cluster 46	ST8/CC8	II	1/2a, 3a	2	Liguria (2019)
Cluster 47	ST120/CC8	II	1/2a, 3a	3	Lombardia, Marche (2015, 2020, 2021)
Cluster 5	ST6/CC6	I	4b, 4d, 4e	24	Calabria, Campania, Friuli Venezia Giulia, Lazio, Lombardia, Piemonte, Toscana, Umbria (2018, 2019)
Cluster 52	ST1/CC1	I	4b, 4d, 4e	4	Toscana (2019)
Cluster 53	ST155/CC155	II	1/2a, 3a	15	Lazio, Lombardia, Puglia, Sicilia, Toscana, Trentino Alto Adige, Umbria (2018, 2019, 2020, 2021)
Cluster 56	ST2/CC2	I	4b, 4d, 4e	7	Lombardia, Piemonte, Toscana (2017, 2018, 2019)
Cluster 57	St29/CC29	II	1/2a, 3a	4	Piemonte, Lombardia (2011, 2019)
Cluster 58	ST6/CC6	I	4b, 4d, 4e	5	Abruzzo, Lombardia, Toscana (2013, 2018, 2019)
Cluster 6	ST155/CC155	II	1/2a, 3a	33	Campania, Emilia Romagna, Lazio, Liguria, Lombardia, Piemonte, Toscana, Umbria, Veneto (2011, 2012, 2013, 2014, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021)
Cluster 63	ST1/CC1	I	4b, 4d, 4e	2	Piemonte (2018, 2019)

Cluster	Sequence Type Clonal Complex	Lineage	Sierogruppo	Numero di casi nel cluster	Regioni coinvolte nel cluster
Cluster 69	ST121/CC121	II	1/2a, 3a	2	Piemonte, Trentino Alto Adige (2015, 2019)
Cluster 74	ST29/CC29	II	1/2a, 3a	2	Friuli Venezia Giulia (2018)
Cluster 75	ST155/CC155	II	1/2a, 3a	3	Lombardia (2014, 2017, 2019)
Cluster 76	ST1/CC1	I	4b, 4d, 4e	18	Lazio, Liguria, Lombardia, Marche, Piemonte, Sicilia, Trentino Alto Adige (2015, 2019, 2020, 2021)
Cluster 78	ST3/CC3	I	1/2b, 3b, 7	3	Lazio, Lombardia, Umbria (2019, 2021)
Cluster 79	ST87/CC87	I	1/2b, 3b, 7	2	Lombardia, Lazio (2019)
Cluster 8	ST288/CC288	I	1/2b, 3b, 7	16	Lombardia, Piemonte, Trentino Alto Adige (2017, 2018, 2019, 2020, 2021)
Cluster 80	ST224/CC224	I	1/2b, 3b, 7	16	Lombardia, (2017, 2018, 2019, 2020, 2021)
Cluster 81	ST451/CC451	II	1/2a, 3a	12	Lazio, Lombardia, Piemonte, Toscana, Umbria (2018, 2019, 2020, 2021)
Cluster 83	ST808/CC379	I	1/2b, 3b, 7	2	Piemonte, Friuli Venezia Giulia (2019)
Cluster 84	ST155/CC155	II	1/2a, 3a	16	Calabria, Friuli Venezia Giulia, Lombardia, Piemonte, Toscana, Trentino Alto Adige (2015, 2018, 2019, 2020, 2021)
Cluster 85	ST217/CC217	I	4b, 4d, 4e	3	Lazio, Lombardia (2018, 2019)
Cluster 86	ST2/CC2	I	4b, 4d, 4e	2	Lazio (2013, 2019)
Cluster 87	ST38/CC101	II	1/2a, 3a	3	Piemonte, Lombardia (2019, 2020)
Cluster 89	ST2/CC2	I	4b, 4d, 4e	4	Veneto (2019)
Cluster 9	ST6/CC6	I	4b, 4d, 4e	23	Lombardia, Piemonte, Toscana, Trentino Alto Adige, Valle D'Aosta, Veneto (2017, 2018, 2019, 2020, 2021)
Cluster 90	ST2/CC2	I	4b, 4d, 4e	33	Lazio, Lombardia, Piemonte, Sicilia, Toscana (2019, 2020, 2021)
Cluster 93	ST14/CC14	II	1/2a, 3a	3	Lazio, Lombardia (2011, 2014, 2019)
Cluster 94	ST5/CC5	I	1/2b, 3b, 7	2	Lazio, Trentino Alto Adige (2018, 2020)
Cluster 95	ST2/CC2	I	4b, 4d, 4e	3	Lombardia, Emilia Romagna (2018, 2019, 2020)
Cluster 96	ST59/CC59	I	1/2b, 3b, 7	3	Emilia Romagna, Lombardia (2019)
Cluster 97	ST191/CC191	I	Cluster	2	Lombardia (2019)
Cluster 98	ST391/CC89	II	1/2a, 3a	3	Marche, Emilia Romagna (2013, 2019, 2020)

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



## Conclusioni

Nel 2021 sono pervenuti in ISS 178 ceppi isolati da casi di listeriosi invasiva nell'uomo. Occorre sottolineare che l'attività di isolamento e di caratterizzazione molecolare dei ceppi di *L. monocytogenes* mediante l'analisi genomica consente di seguire le dinamiche della circolazione dei ceppi sul territorio nazionale sia in modo puntuale, per la pronta identificazione di possibili focolai, sia retrospettivamente permettendo di identificare focolai persistenti e la relativa dimensione territoriale. Tutto questo consente di mettere in campo misure per mitigare l'impatto di focolai identificati precocemente e di comprendere i meccanismi che permettono la persistenza di ceppi di *L. monocytogenes*. Inoltre, la raccolta dei dati di genomica a livello nazionale consente di rispondere, in tempo reale, alle allerte internazionali sulla identificazione di cluster attraverso la comparazione del profilo genomico degli isolati e la valutazione della presenza di isolati con profilo compatibile. Dall'analisi dei dati dei ceppi clinici inviati nel 2021 e sequenziati sia in ISS che sul territorio è emerso un quadro molto netto relativamente alla circolazione dei diversi sierogruppi e "Sequence Types" di *L. monocytogenes* in Italia e in modo particolare, è stato possibile identificare diversi clusters genomici. Quest'ultimo aspetto riveste una particolare rilevanza dal momento che il servizio di allerta in tempo reale presente nella piattaforma IRIDA-ARIES assicura la pronta e completa diffusione delle informazioni relative a possibili clusters di casi di infezione nell'uomo, a tutti gli attori che devono essere coinvolti nelle indagini.

Attualmente, presso l'ISS, viene eseguito il sequenziamento genomico dei ceppi clinici inviati in ottemperanza alla nota circolare "Sorveglianza e prevenzione della Listeriosi" (0008252-13/03/2017-DGPRE-DGPRE-P); viene inoltre eseguito il sequenziamento genomico dei ceppi clinici presenti nella collezione ISS dal 2000 al fine di pervenire ad una analisi storica della distribuzione geografica e temporale di *L. monocytogenes* sul territorio nazionale e di comprenderne le dinamiche di circolazione nella popolazione.

La produzione e raccolta delle informazioni di sequenziamento genomico presso l'ISS e l'offerta degli strumenti analitici completamente automatizzati presenti nella piattaforma IRIDA-ARIES rappresentano una importante risorsa per il territorio che ha accesso ad un livello analitico avanzato, senza dover necessariamente investire in acquisizione e/o formazione di risorse in ambito specifico. Estendere la copertura territoriale della raccolta dati attraverso l'invio degli isolati clinici in ISS ed il loro sequenziamento utilizzando risorse disponibili sul territorio consente di definire con precisione lo spettro dei ceppi di *L. monocytogenes* circolanti sul territorio e di ridurre sensibilmente i tempi che intercorrono tra l'isolamento del ceppo dal caso di malattia e la possibile identificazione di clusters con la conseguente riduzione dei tempi dell'azione di contrasto da parte delle Autorità sanitarie. Questo aspetto necessita di essere ulteriormente migliorato stimolando una maggiore adesione delle Regioni alla raccolta dati nazionali.

Ad oggi gli isolati clinici di *L. monocytogenes* inclusi nella piattaforma IRIDA – ARIES provengono da 15 delle 20 Regioni italiane.

## **Contatti**

[alfonsina.fiore@iss.it](mailto:alfonsina.fiore@iss.it)

[antonietta.gattuso@iss.it](mailto:antonietta.gattuso@iss.it)

[gianni.ciccaglioni@iss.it](mailto:gianni.ciccaglioni@iss.it)

[marco.ortoffi@iss.it](mailto:marco.ortoffi@iss.it)

Per la segnalazione dei casi di listeriosi: [listeriosi@iss.it](mailto:listeriosi@iss.it)

Per l'invio dei ceppi di *Listeria monocytogenes*, indirizzo:

Istituto Superiore di Sanità- Ufficio campioni, via del Castro Laurenziano 25, 00161 Roma.

## **Sito web**

All'indirizzo <https://www.iss.it/snl-chi-siamo> sono disponibili, fra l'altro: la documentazione relativa alla sorveglianza della listeriosi, il modulo per l'invio dei ceppi batterici, il questionario per la raccolta delle informazioni epidemiologiche e microbiologiche sui casi di listeriosi e il questionario alimentare dove vengono raccolte le informazioni che riguardano le abitudini alimentari del paziente e poter risalire all'alimento che ha provocato la listeriosi.