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

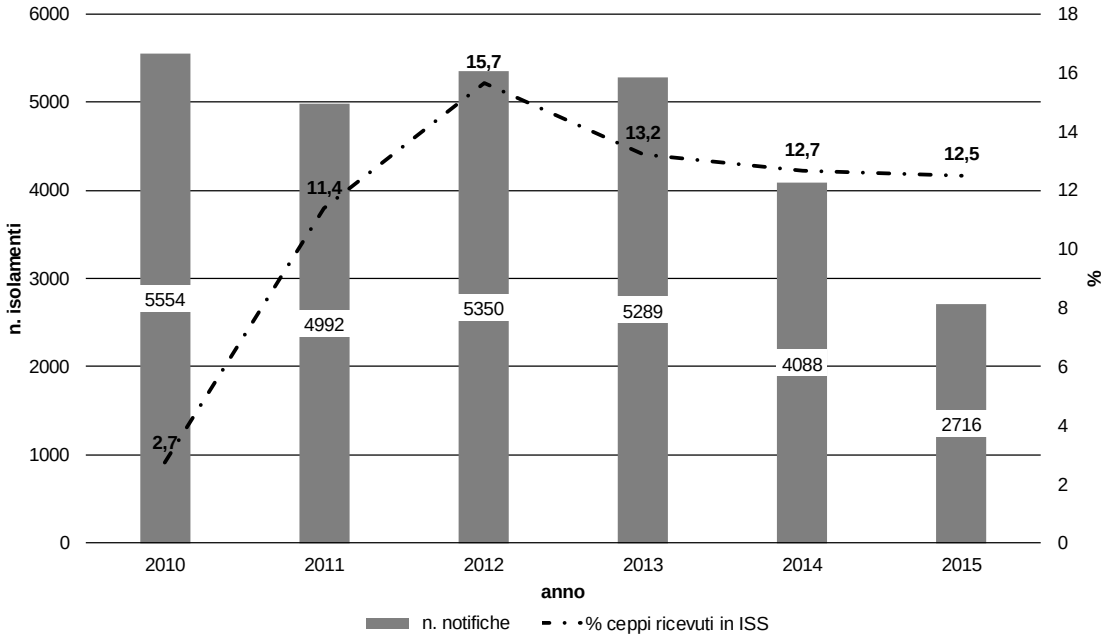

Figura 1. *Salmonella* spp.: ceppi notificati e ceppi ricevuti (%) in ISS (Enter-Net Italia 2010-2015)

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.

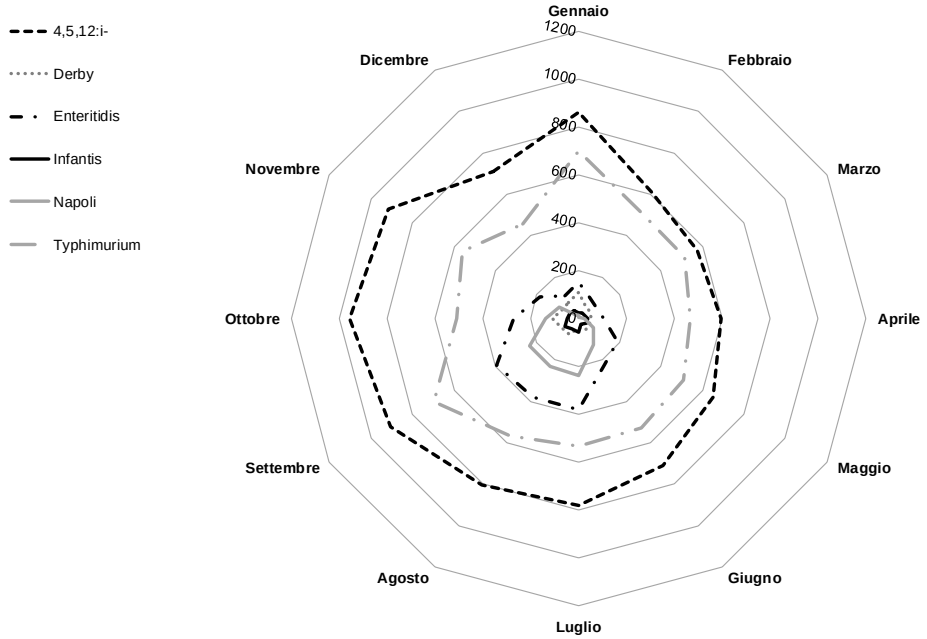

Figura 2. *Salmonella*: distribuzione dei sierotipi più frequenti per mese (Enter-Net Italia, 2010-2015)

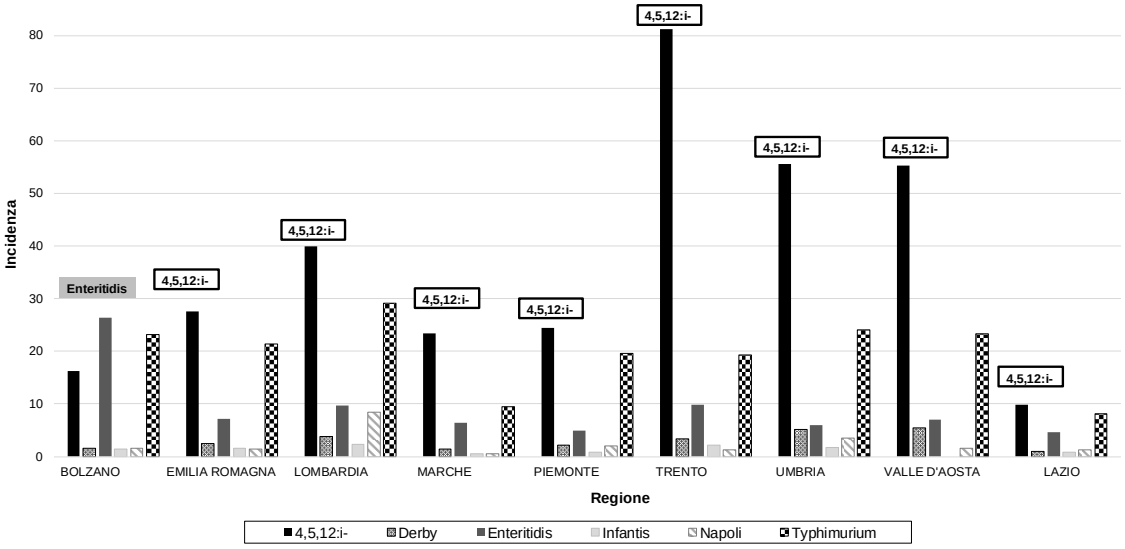

Figura 3. *Salmonella*: tasso di isolamento medio annuale (per 100.000) dei principali sierotipi riportati in alcune regioni italiane (Enter-Net Italia, 2010-2015)

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).

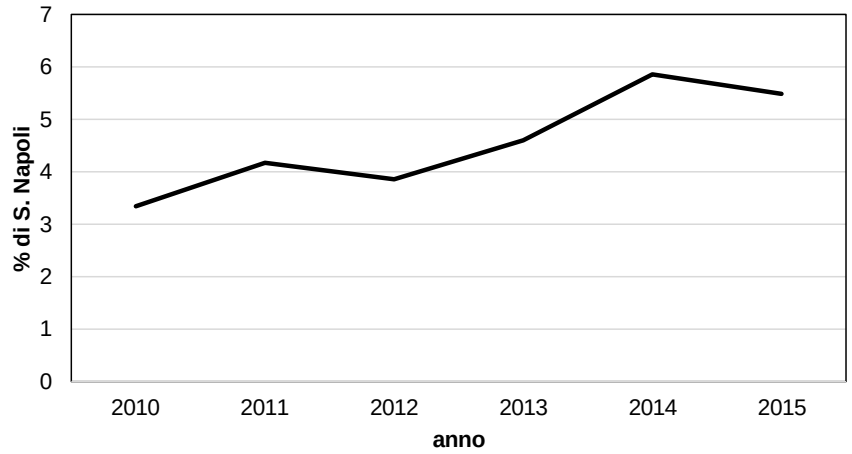

Figura 4. *S*. Napoli: frequenza di isolamenti riportati a Enter-Net Italia (2010-2015)

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).

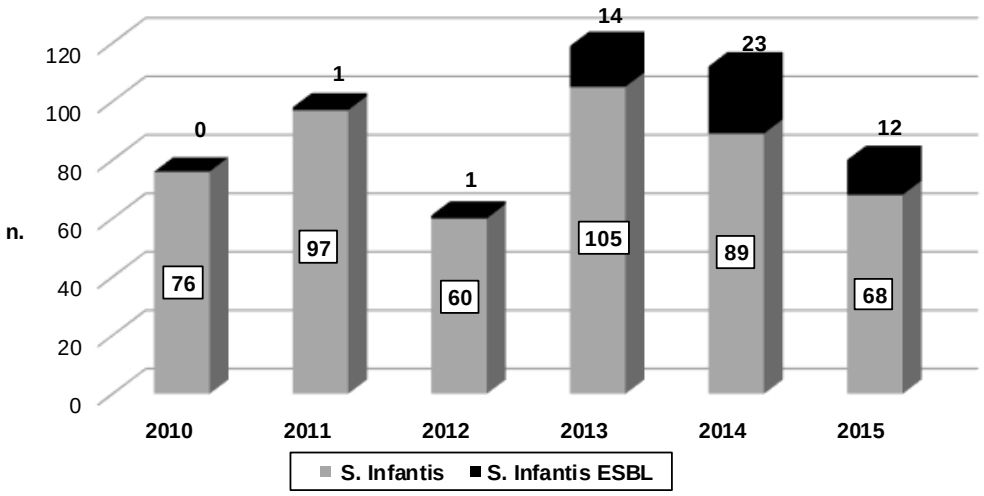

Figura 5. *S*. Infantis e *S*. Infantis produttori di ESBL: isolamenti riportati a Enter-Net Italia (2010-2015)

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.

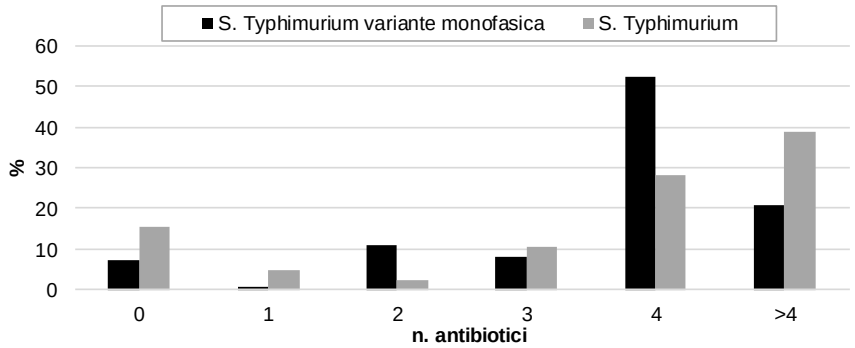

Figura 6. Frequenza dei ceppi di *S.* Typhimurium e *S.* Typhimurium variante monofasica resistenti a 0,1,2,3,4 e più di 4 antibiotici

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).

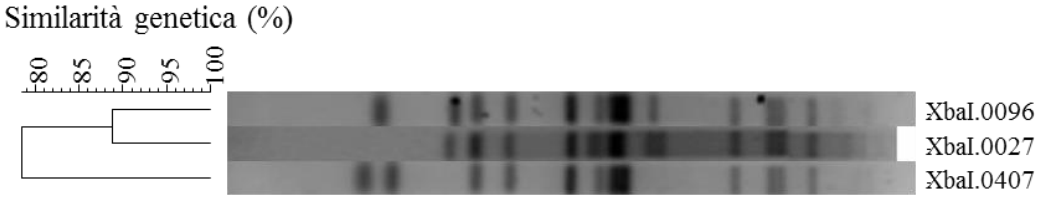

Figura 7. Dendrogramma dei tre principali pulsotipi identificati in *S*. Typhimurium variante monofasica, nel periodo 2010-2015

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).

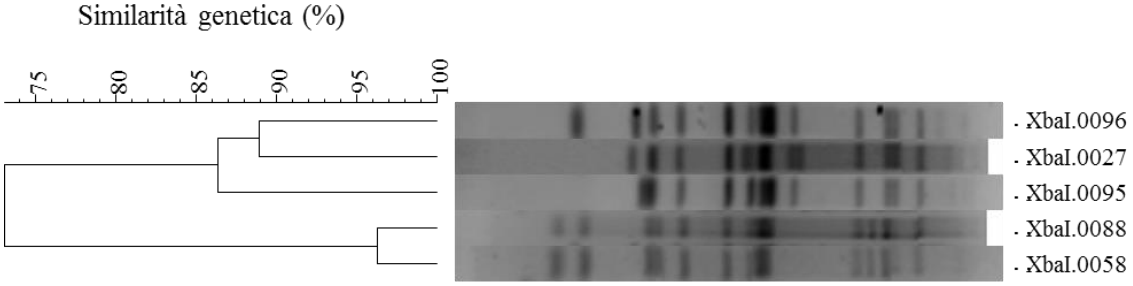

Figura 8. Dendrogramma dei cinque principali pulsotipi identificati in *S*. Typhimurium, nel periodo 2010-2015

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).

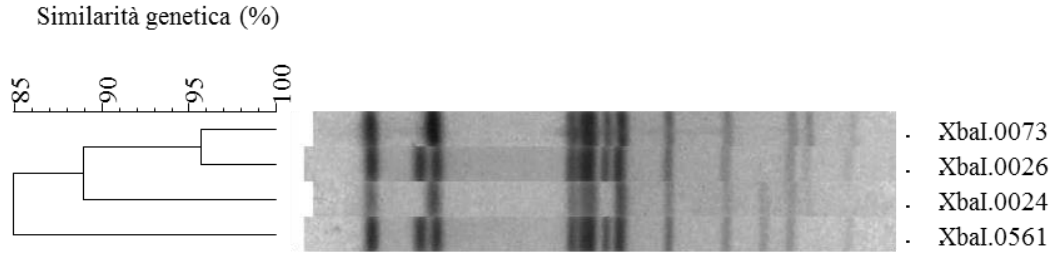

Figura 9. Dendrogramma dei principali pulsotipi identificati in *S*. Enteritidis, nel periodo 2010-2015

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