

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

III Workshop nazionale Enter-net Italia
Sistema di sorveglianza delle infezioni enteriche

**Le infezioni gastroenteriche.
L'uomo, gli animali, gli alimenti e l'ambiente:
nuovi scenari epidemiologici**

Istituto Superiore di Sanità
Roma, 6-7 novembre 2003

RIASSUNTI

A cura di
Alfredo Caprioli (a), Ida Luzzi (b),
Alberto Eugenio Tozzi (c) e Susanna Lana (c)

*(a) Laboratorio di Medicina Veterinaria
(b) Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica
(c) Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica*

ISSN 0393-5620
ISTISAN Congressi
03/C5

Istituto Superiore di Sanità

III Workshop nazionale Enter-net Italia. Sistema di sorveglianza delle infezioni enteriche. Le infezioni gastroenteriche. L'uomo, gli animali, gli alimenti e l'ambiente: nuovi scenari epidemiologici. Istituto Superiore di Sanità. Roma, 6-7 novembre 2003. Riassunti.

A cura di Alfredo Caprioli, Ida Luzzi, Alberto Eugenio Tozzi e Susanna Lana
2003, v, 69 p. ISTISAN Congressi 03/C5 (in italiano e inglese)

Enter-net è una rete europea per la sorveglianza delle infezioni enteriche che effettua il monitoraggio delle infezioni da salmonella, *E.coli* O157 ed altri *E.coli* produttori di verocitotossina (VTEC). Finanziata dalla DG SANCO della Commissione Europea, la rete coinvolge 19 Paesi europei. Gli obiettivi di Enter-net sono l'armonizzazione dei metodi di tipizzazione, il mantenimento di database aggiornati, l'identificazione e il controllo degli episodi epidemici a carattere transnazionale, il monitoraggio del fenomeno della antibiotico resistenza nei ceppi batterici isolati. L'Italia è rappresentata nel progetto dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS), che coordina un sistema di sorveglianza nazionale (Enter-net Italia) che coinvolge numerosi laboratori del Servizio Sanitario Nazionale operanti nei settori umano, veterinario e ambientale. A partire dal 2001, le attività di Enter-net Italia vengono presentate nel corso di un workshop annuale che si tiene presso l'ISS. Quest'anno il workshop oltre a presentare le attività di Enter-net Italia, fornirà un aggiornamento sulla patogenesi, diagnosi ed epidemiologia delle infezioni enteriche.

Parole chiave: Infezioni enteriche, Sorveglianza

Istituto Superiore di Sanità

III National workshop Enter-net Italia. Surveillance system of enteric infections. Gastrointestinal infections. Man, animals, food and environment: new epidemiological scenarios. Istituto Superiore di Sanità. Rome, November 6-7, 2003. Abstract book.

Edited by Alfredo Caprioli, Ida Luzzi, Alberto Eugenio Tozzi and Susanna Lana
2003, v, 69 p. ISTISAN Congressi 03/C5 (in Italian and English)

Enter-net is an international network for the surveillance of human gastrointestinal infections, which monitors salmonellosis and Verocytotoxin producing *Escherichia coli* (VTEC) O157, including their antimicrobial resistance. It involves 19 European countries and is funded by the DG SANCO of the European Commission. The main objectives of Enter-net are the harmonisation of typing methods, the establishment of a regularly updated international database including the antimicrobial susceptibility of the isolates, the recognition and investigation of outbreaks involving different countries. The Istituto Superiore di Sanità (ISS, the Italian National Institute of Health) represents Italy in the network and coordinates a national surveillance system (Enter-net Italia) that involves laboratories operating in the medical, veterinary and environmental fields. Starting from 2001, Enter-net Italia activities are presented in an annual workshop held at ISS. This year the workshop is structured as a meeting that, beside presenting Enter-net activities, will provide an updating on the pathogenesis, diagnosis and epidemiology of enteric infections.

Key words: Enteric infections, Surveillance, Italy

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

Il rapporto è disponibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it/pubblicazioni.

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

Redazione: *Paola De Castro* e *Sandra Salinetti*

La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© 2003 Istituto Superiore di Sanità (Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma)

INDICE

Programma	iii
Note per la consultazione	v
Relazioni	1
Comunicazioni orali e poster	17
Sessione 1	
Le infezioni da batteri enteropatogeni	19
Sessione 2	
Le gastroenteriti virali.....	37
Sessione 3	
I patogeni enterici negli alimenti e nell'ambiente.....	45
Indice degli autori	67

PROGRAMMA

6 novembre 2003

15.00 Introduzione e indirizzo di benvenuto
Alfredo Caprioli, Antonio Cassone

SISTEMA DI SORVEGLIANZA DELLE INFEZIONI ENTERICHE ENTER-NET ITALIA: PRESENTAZIONE DELLE ATTIVITÀ 2002-2003

Parte prima

Moderatori: **Ida Luzzi, Caterina Mammina**

15.15 *Sistema di sorveglianza Enter-net: isolamenti di salmonella dall'uomo*
Alberto Eugenio Tozzi

15.30 *Sistema di sorveglianza Enter-vet: le infezioni da salmonella in ambito veterinario*
Antonia Ricci

15.45 *Sistema di sorveglianza Enter-net: isolamenti di salmonella da fonti ambientali*
Giuseppe Cirillo

16.00 Discussione

16.30 Intervallo

Parte seconda

Moderatori: **Mirella Pontello, Stefania Salmaso**

17.00 *Cluster di infezioni da Salmonella enterica sierotipo Napoli in Lombardia*
Pasquale Galetta

17.15 *La tipizzazione molecolare come rafforzamento della sorveglianza delle infezioni da Salmonella*
Ida Luzzi

17.30 *Sistema di sorveglianza Enter-net: sensibilità agli antibiotici dei ceppi di Salmonella isolati nel 2002-2003*
Luca Busani

17.45 *Infezioni da E. coli O157 e altri VTEC in Europa*
Alfredo Caprioli

18.00 Discussione

7 novembre 2003

Sessione 1

LE INFEZIONI DA BATTERI ENTEROPATOGENI

Moderatori: *Antonino Nastasi, Guido Petracca*

9.30 *Le infezioni da Shigella: un problema riemergente in Italia?*
Mirella Pontello, Caterina Mammina

10.00 *Le infezioni da Campylobacter*
Giovanni Pezzotti

10.30 **Comunicazioni orali**

11.00 Intervallo

Sessione 2

LE GASTROENTERITI VIRALI

Moderatori: **Canio Buonavoglia, Franco Maria Ruggeri**

11.30 *Le infezioni da rotavirus in Italia*
Serenella Arista

12.00 *Le infezioni da coronavirus negli animali*
Anna Maria Pratelli

12.30 **Comunicazioni orali**

13.00 Intervallo

Sessione 3

I PATOGENI ENTERICI NEGLI ALIMENTI E NELL'AMBIENTE

Moderatori: **Agostino Macri, Renzo Brizioli**

14.30 *Il ruolo dell'ambiente nella trasmissione delle infezioni enteriche*
Antonino Nastasi

15.00 *Le infezioni enteriche trasmesse da molluschi*
Luciana Croci

15.30 **Comunicazioni orali**

Fine dei lavori

NOTE PER LA CONSULTAZIONE

Il presente lavoro raccoglie tutti gli abstract delle relazioni e dei contributi presentati al workshop.

I lavori sono divisi in due sezioni:

- *Relazioni*
Contiene gli abstract secondo l'ordine previsto nel programma.
- *Comunicazioni orali e poster*
È strutturata in base alle corrispondenti sessioni del programma. I lavori sono presentati in ordine alfabetico del primo autore; i poster sono contrassegnati con la lettera P.

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

RELAZIONI

SISTEMA DI SORVEGLIANZA ENTER-NET: ISOLAMENTI DI SALMONELLA DALL'UOMO

Galetta P., Tozzi A.E., Lana S.

Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Le tossinfezioni alimentari sostenute da un patogeno ubiquitario come Salmonella rappresentano un rilevante problema di sanità pubblica per l'elevata morbosità e per la rilevanza in termini economici, soprattutto in occasione di eventi epidemici. Le misure di profilassi e di controllo delle infezioni trasmesse da alimenti devono affidarsi a solidi sistemi di sorveglianza basati sui laboratori di microbiologia.

Enter-net è la rete europea di sorveglianza delle infezioni enteriche che effettua il monitoraggio delle infezioni da Salmonella, *E. coli* O157 ed altri *E. coli* produttori di verocitotossina. La rete è attiva dal 1994 e coinvolge tutti i Paesi della Unione Europea. Il coordinamento europeo della rete Enter-net è presso l'HPA di Colindale. La rete nazionale Enter-net Italia, coordinata dall'Istituto Superiore di Sanità, si avvale della partecipazione di laboratori diagnostici che operano nel settore di microbiologia clinica, veterinaria e ambientale. Nell'ambito del sistema di sorveglianza Enter-net Italia vengono raccolti ogni anno dati riguardanti circa 5000 isolamenti di salmonella da uomo. Nel biennio 2001-2002, in particolare, sono stati isolati e tipizzati 10475 ceppi. Il sierotipo più frequentemente isolato è stato S. Typhimurium (46.8%), seguito da S. Enteritidis (26.6%), S. Infantis (5.0%), e S. Derby (2.0%). Nel periodo tra il 2000 e il 2002 la percentuale di casi umani da S. Enteritidis è gradatamente diminuita dal 40-50% osservato costantemente negli anni 90, al 20%. La maggior parte degli isolamenti in questo periodo ha riguardato il gruppo di età compreso tra 1 e 5 anni (40.7%), seguito dagli adulti tra 15 e 64 anni (31.0%). I bambini tra 6 e 14 anni rappresentavano il 16.6% del totale dei casi ed i bambini sotto l'anno di vita il 2.6%. Il 34.5% degli isolamenti si riferisce a pazienti ospedalizzati ed il 14.4% dei pazienti appartengono ai casi di un episodio epidemico. I pazienti dai quali provengono gli isolamenti inviati al sistema di sorveglianza hanno per la maggior parte un'infezione acuta (77.4%), mentre gli isolamenti effettuati in corso di indagine su sospette epidemie sono l'11.8% del totale. La rimanente parte (10.8%) è stata isolata da individui testati per controllo. La più alta proporzione di isolamenti è stata segnalata al sistema di sorveglianza tra residenti della regione Lombardia (25.8%), seguita dalle segnalazioni della regione Veneto (21.7%), mentre le regioni dell'Italia meridionale sono rappresentate con solo il 10.9% dei casi. La distribuzione dei casi isolati per mese segue il classico pattern delle malattie enteriche con un picco estivo. Analizzando la stagionalità per sierotipo, il picco nei mesi estivi è più pronunciato per S. Typhimurium, mentre gli isolamenti di S. Enteritidis sono più frequenti nella stagione autunnale. Il sistema di sorveglianza presenta alcuni limiti in quanto seleziona in modo preferenziale pazienti delle regioni settentrionali e ricoverati in ospedale. Lo studio dell'epidemiologia degli isolamenti di Salmonella in Italia attraverso l'esame dei ceppi tipizzati ha anche lo scopo di evidenziare cambiamenti nella distribuzione dei sierotipi per generare nuove ipotesi di lavoro. La diminuzione della proporzione di casi umani associati a S. Enteritidis, ad esempio, ha generato l'ipotesi che le misure di profilassi prese negli anni scorsi nel settore dell'allevamento avicolo e in quello della preparazione

degli alimenti a base di uova abbia provocato questo fenomeno. I dati italiani vengono inoltre diffusi periodicamente a livello nazionale e analizzati insieme a quelli degli altri Paesi europei per l'identificazione di episodi epidemici internazionali e per lo studio dell'epidemiologia generale di queste infezioni. A livello nazionale, per facilitare questi compiti, è necessario aumentare la rapidità di segnalazione dei casi e la rappresentatività di tutto il territorio.

SISTEMA DI SORVEGLIANZA ENTER-VET: LE INFEZIONI DA SALMONELLA IN AMBITO VETERINARIO

Ricci A. (a), Vio D. (a), Mancin M. (b), Decastelli L. (c), Tagliabue S. (d), Scuota S. (e), Staffolani M. (f), Bilei S. (g), Di Giannatale E. (h), Carullo M.R. (i), Goffredo E. (l), Piraino C. (m), Vidili A. (n)

(a) Centro Nazionale di Referenza per le Salmonellosi, Legnaro, (b) Centro Regionale di Epidemiologia Veterinaria, IZS delle Venezie, Legnaro, (c) IZS del Piemonte, Liguria, Valle d'Aosta, Torino, (d) IZS Lombardia e Emilia Romagna, Brescia, (e) IZS Umbria e Marche, Perugia, (f) IZS Umbria e Marche, Macerata, (g) IZS Lazio e Toscana, Roma, (h) IZS Abruzzo e Molise, Teramo, (i) IZS del Mezzogiorno, Portici, (l) IZS Puglia e Basilicata, Foggia, (m) IZS della Sicilia, Palermo, (n) IZS della Sardegna, Sassari

Il sistema Enter-vet, che riguarda la raccolta di dati a livello nazionale sugli isolamenti di *Salmonella* spp. da campioni di origine veterinaria, è attivo dall'inizio del 2002, ed è costituito dagli Istituti Zooprofilattici Sperimentali, con il coordinamento del Centro Nazionale di Referenza per le Salmonellosi. Gli Istituti inviano al Centro di Referenza i dati relativi alla tipizzazione dei ceppi di *Salmonella* attraverso un sistema informatizzato, assieme ad alcuni stipti (in particolare i ceppi appartenenti ai sierotipi Enteritidis e Typhimurium) per la tipizzazione fagica. Tutti i dati vengono inviati dal Centro di Referenza all'Istituto Superiore di Sanità, che coordina a livello nazionale la rete Enter-net, attiva a livello europeo per gli isolamenti da campioni di origine umana ed alimentare.

Durante l'anno 2002 sono stati inviati i dati relativi a 4550 ceppi tipizzati presso gli Istituti Zooprofilattici Sperimentali. Fra questi il sierotipo più rappresentato è S. Typhimurium (22,68%), seguito da Derby (7,14%), Hadar (6,64%), Blockley (5,63%) e Heidelberg (4,77%). S. Enteritidis rappresenta il 3,34% dei sierotipi isolati. È interessante notare come si tratti degli stessi sierotipi isolati con maggior frequenza nell'uomo, secondo i dati Enter-net 2002 (Typhimurium 46%, Enteritidis 28,6%, Infantis 3,1%, Derby 1,6%, Heidelberg 1,6%, Blockley 1,5% e Hadar 1,5%), ad eccezione di Enteritidis e Infantis che vengono isolate più raramente sia da campioni di origine animale che alimentare, ma rappresentano un problema in particolare per gli allevamenti di galline ovaiole, e quindi possono essere veicolate attraverso le uova e subire un'amplificazione legata ad errate pratiche di preparazione o conservazione degli alimenti. Per quanto riguarda S. Enteritidis, inoltre, i fagotipi prevalenti da campioni di origine animale sono PT 4 (29,66%) e PT 14b (19,5%); quest'ultimo fagotipo è stato recentemente implicato in episodi di tossinfezione alimentare in Gran Bretagna, in cui la fonte di infezione è stata identificata in uova provenienti dalla Spagna. Più complessa è invece l'epidemiologia di S. Typhimurium, che viene isolata frequentemente in diverse specie animali, con prevalenza del fagotipo DT 104 (16,8%). In campioni di origine suina e bovina, però, S. Typhimurium viene isolata con particolare frequenza (rispettivamente 34,6 e 36,6%), e quindi risulta indispensabile un approfondimento del ruolo epidemiologico di questi animali come fonte di infezione per l'uomo, attraverso la caratterizzazione degli isolati, lo studio dei casi epidemici e la definizione della prevalenza nelle popolazioni animali.

SISTEMA DI SORVEGLIANZA ENTER-NET: ISOLAMENTI DI SALMONELLA DA FONTI AMBIENTALI

Cirillo G. (a), Bacchi M. (b), Camellini L. (b), Caroli D. (c), Mercati G. (d), Molina M. (e), Moroder L. (f), Bottinelli G. (g), Mannuppella A. (h), Galetta P. (i)

(a) ARPA Forlì, (b) ARPA Emilia Romagna, Reggio Emilia, (c) ARPA Piemonte, Torino, (d) ARPA Lazio, Roma, (e) ARPA Liguria, Genova, (f) APPA Bolzano, (g) ARPA Brindisi, (h) ARPA Molise, Isernia, (i) Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Salmonella spp. è un microorganismo ubiquitario con un ciclo biologico che prevede anche cosiddetti 'ospiti ambientali' che fungono da anello fra nicchie ecologiche silvestri e filiere agroalimentari. Le fonti ambientali si dividono in: naturali (acque di scarico, acque superficiali, laghi, mare, liquami) e artificiali (superfici, strumenti, utensili, ecc.). Dall'ambiente acquoso viene isolata una vasta gamma di sierotipi in cui non si verifica la solita predominanza delle specie endemiche associate ad infezione nell'uomo e negli animali. Si evince che proprio in quest'ambiente vive e si riproduce un pool di specie di cui solo alcune poi cambiano ospite passando agli animali e poi eventualmente all'uomo.

Nell'ambito del progetto Enter-net, la ricerca di salmonelle nell'ambiente è generalmente effettuata dalle ARPA, ma non tutte le Regioni svolgono questo tipo di attività anche a causa di variazioni nelle competenze. Nel biennio 2001-2002, sono stati isolati e tipizzati 5700 ceppi da fonti ambientali: di cui 3561 da acqua superficiale (fiumi, laghi, ecc.), acqua di mare, acque reflue, mentre la fonte non era specificata per oltre 1500 ceppi. La maggior parte degli isolamenti proveniva da acque bianche superficiali (2874/3561, 80.7%), da acque di depurazione (597/3561, 16.7%) e da acqua di mare (90/356, 12.5%). Il sierotipo più frequentemente isolato da fonti ambientali è stato S. Infantis (18.4%), seguito da S. Typhimurium (17%), S. Derby (8.5%) e S. Veneziana (6.5%). A parte S. Veneziana, che non trova riscontro negli isolamenti umani (0,1% negli ultimi 20 anni) e animali (pollo, suino rettili), gli altri tre sierotipi fanno parte dei cinque sierotipi isolati più frequentemente nello stesso periodo da infezioni umane. S. Enteritidis, isolata dal 20% delle infezioni umane, rappresentava solo il 2.5% degli isolamenti ambientali. A differenza degli isolati umani, dove i cinque sierotipi più frequenti rappresentavano circa il 90% degli isolati totali, i cinque sierotipi più frequenti tra gli isolati ambientali rappresentavano solo il 45% del totale. La elevata dispersione di sierotipi tra gli isolati ambientali può essere dovuta all'esistenza di differenti e numerosi serbatoi naturali, dagli animali da allevamento alle specie selvatiche. La costituzione di una rete dedicata di sorveglianza ambientale potrebbe garantire una miglior copertura del territorio e la disponibilità di dati più accurati consentendo di valutare meglio il ruolo che l'ambiente gioca nella trasmissione dei patogeni enterici all'uomo.

CLUSTER DI INFEZIONI DA *SALMONELLA ENTERICA* SIEROTIPO NAPOLI IN LOMBARDIA

Galetta P. (a), Ulissi M.A. (b), Mammina C. (c), Ricci A. (d), Battisti A. (e), Dionisi A.M. (f), Filetici E. (f), Luzzi I. (f)

(a) *Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *ASL Varese, Dipartimento di Prevenzione, Varese*

(c) *CEPIM Università di Palermo*

(d) *IZS delle Venezie, Legnaro*

(e) *IZS Lazio e Toscana, Roma*

(f) *Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

S. Napoli è un sierotipo di isolamento non frequente in letteratura, l'unico riferimento riguarda un'epidemia in Inghilterra e Galles nel 1982 che ha avuto come alimento implicato una partita di cioccolato prodotto in Italia (*Lancet* 1983;1(8324):574-7).

Nel corso degli ultimi due anni si è registrato un aumento di casi di infezione da S. Napoli nella regione Lombardia rispetto a quanto atteso in base agli anni precedenti. È stata quindi effettuata un'analisi retrospettiva del database Enter-net, da cui sono emersi i seguenti dati: i) circa la metà delle S. Napoli isolate in Italia (n.=148) proviene dalla Lombardia, in particolare dalla provincia di Varese (n.=34) dove nel 2001-02 è stato effettuato il 25% (34/105) di tutti gli isolamenti italiani.

Nel 2000 i casi segnalati nella Provincia di Varese erano distribuiti tra i mesi da maggio ad ottobre, mentre nel 2001 è stato osservato un picco in luglio-agosto, che si è ripetuto anche nel 2002. Questo andamento è inoltre diverso da quello osservato per i casi di S. Napoli verificatisi nelle altre province italiane.

Altri casi sono stati segnalati in Svizzera, in una zona al confine con la Lombardia bagnata dal lago Maggiore. La distribuzione per età dei soggetti coinvolti non presentava differenze significative rispetto a quella dei soggetti con infezione da ceppi di altri sierotipi, e questo non consente di formulare ipotesi legate ad esposizioni che coinvolgono fasce di popolazione legate a particolari attività (scuole, asili).

L'analisi del database Enter-net per gli anni 2000-01-02 mostra che gli isolamenti di S. Napoli da fonti non umane sono stati 48 nella quasi totalità (>90%) da ambiente, in particolare da acque superficiali (bianche). La maggior parte degli isolamenti (>70%) è stata effettuata in Lombardia e questo suggerisce una presenza costante di questo sierotipo nel sistema idrico che ruota intorno al Lago Maggiore.

L'analisi molecolare mediante elettroforesi pulsata dei ceppi isolati in Italia negli ultimi anni ha mostrato che i ceppi isolati dai casi umani in provincia di Varese e dalle acque del Lago Maggiore presentano profili elettroforetici molto simili, diversi da quelli di ceppi isolati in altre regioni italiane.

Il fatto che la quasi totalità dei casi umani si sia verificata durante mesi estivi in cui è massima l'attività di balneazione nel lago Maggiore suggerisce che l'esposizione ad acque superficiali contaminate possa aver rappresentato un fattore di rischio per questa infezione. Resta da valutare l'esistenza di eventuali *reservoir* silvestri di questo sierotipo responsabili della sua diffusione nell'ambiente acquatico e della sua trasmissione all'uomo.

LA TIPIZZAZIONE MOLECOLARE COME RAFFORZAMENTO DELLA SORVEGLIANZA DELLE INFEZIONI DA SALMONELLA

Luzzi I., Filetici E., Scalfaro C., Arena S., Owczarek S., Dionisi A.M.

Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Salmonella rappresenta uno dei principali agenti zoonotici trasmesso all'uomo attraverso la catena alimentare. Il commercio internazionale di animali e prodotti di origine animale consente un'ampia diffusione di questo patogeno all'interno della Comunità Europea con la comparsa di frequenti episodi epidemici che coinvolgono contemporaneamente diversi Paesi. Il controllo e la prevenzione di questi episodi epidemici si basa prevalentemente sul loro rapido riconoscimento attraverso idonei sistemi di sorveglianza basati sulla tipizzazione dei ceppi isolati.

La sierotipizzazione e la fagotipizzazione delle salmonelle sono metodi di tipizzazione universalmente riconosciuti validi ma, dal momento che alcuni sierotipi e fagotipi sono predominanti in molti Paesi, il riconoscimento temporale e geografico di cluster di casi può risultare difficile se questo è associato a un sierotipo e a un fagotipo molto comune. È quindi necessario in questi casi applicare metodi di tipizzazione più discriminanti, che anche all'interno del sistema di sorveglianza routinario consentano di monitorare la diffusione o l'emergenza di particolari cloni all'interno di un sierotipo e di un fagotipo.

Tra i metodi basati sul DNA l'elettroforesi in campo pulsato rappresenta oggi il "gold standard" per la tipizzazione molecolare delle salmonelle.

Negli Stati Uniti la rete di tipizzazione molecolare delle infezioni a trasmissione alimentare (PulseNetUS) iniziata nel 1996 si è dimostrata un efficace strumento di sorveglianza. In Europa un analogo progetto di ricerca (Salmgene) è stato disegnato per stabilire il valore aggiunto della subtipizzazione molecolare mediante PFGE, nella sorveglianza delle infezioni da Salmonella (Enter-net). Al progetto collaborano gli Istituti di riferimento di 10 Paesi che partecipano alla rete Enter-net, che eseguono un protocollo standardizzato sui ceppi di Salmonella di recente isolamento e periodicamente un controllo di qualità del metodo utilizzando un pannello di 16 diversi sierotipi di salmonella.

Attraverso un software dedicato (BIONUMERICS) ogni profilo elettroforetico sottoposto al progetto viene elaborato, normalizzato e assegnato ad un numero. Ad ogni ceppo viene quindi assegnato un codice indicante il sierotipo, l'enzima di restrizione utilizzato e il numero di profilo elettroforetico.

Tutti i profili elettroforetici vengono quindi inseriti in un archivio elettronico consultabile online. Attualmente l'archivio è costituito da oltre 6000 ceppi di Salmonella appartenenti ai sierotipi più frequentemente isolati da fonte umana (prevalentemente S. Enteritidis, S. Typhimurium e S. Infantis).

I risultati preliminari mostrano che all'interno di uno stesso siero-fagotipo sono riconoscibili diversi profili elettroforetici confermando l'efficacia di questa tecnica di tipizzazione quale strumento di sorveglianza e di riconoscimento di episodi epidemici.

SISTEMA DI SORVEGLIANZA ENTER-NET: SENSIBILITÀ AGLI ANTIBIOTICI DEI CEPPI DI SALMONELLA ISOLATI NEL 2002-2003

Graziani C. (a), Busani L. (a), Battisti A. (b), Franco A. (b), Vio D. (c), Mancin M. (c),
Di Giannatale E. (d), D'Incau M. (e), Owczarek S. (f), Luzzi I. (f)
(a) *Laboratorio di Medicina Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma*
(b) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma*
(c) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro*
(d) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise, Teramo*
(e) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia Romagna, Brescia*
(f) *Laboratorio di BATTERIOLOGIA e MICOLOGIA Medica, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Nel corso del 2002-2003 ai sistemi di sorveglianza Enter-net ed Enter-vet sono pervenuti 4591 ceppi di differenti sierotipi di *Salmonella enterica* spp. isolati in Italia da diverse origini. Di questi 4591 ceppi, 406 erano di origine umana, 2331 da alimenti e 1854 da animali. Il sierotipo di più frequente isolamento è risultato S. Typhimurium. Altri sierotipi isolati frequentemente erano la S. Derby, S. Hadar, S. Blockley, S. Enteritidis e altri. 2887 ceppi sono stati saggiati nei confronti del pannello di antibiotici adottato dai sistemi di sorveglianza.

Tutti gli isolati umani erano sensibili a cefotaxime e ciprofloxacina, mentre in isolati di altra origine la resistenza al cefotaxime era riscontrata in sette ceppi di S. Hadar, in due ceppi di S. Typhimurium, in uno di S. Derby e in uno di S. Infantis e la resistenza alla ciprofloxacina è stata riscontrata in tre ceppi di S. Typhimurium. Alti livelli di resistenza sono stati invece osservati nei confronti di numerosi altri antibiotici, soprattutto in S. Typhimurium.

Le percentuali di resistenza erano generalmente più alte tra gli isolati da animali e da alimenti rispetto agli isolati umani; mentre non vi era differenza significativa tra gli isolati di origine alimentare e animale. La resistenza al trimetoprim-sulfametossazolo in S. Typhimurium è stata riscontrata principalmente in isolati da suino e da casi umani mentre era rara in isolati da altre specie. La multiresistenza (resistenza a 4 o più antibiotici) è stata riscontrata in diversi sierotipi di *Salmonella* isolati da alimenti ed animali (S. Typhimurium, S. Hadar, S. Blockley e altri) mentre nell'uomo solo la S. Typhimurium ha mostrato questa caratteristica. Questo studio conferma il ruolo degli animali d'allevamento quali *reservoir* di *Salmonella* spp. resistenti agli antibiotici e sottolinea la necessità di una sorveglianza integrata dell'antibiotico-resistenza che tenga in considerazione gli isolati sia umani sia provenienti dal *reservoir* animale e dagli alimenti, veicoli d'infezione.

INFEZIONI DA *E. COLI* O157 E ALTRI *E. COLI* PRODUTTORI DI VEROCITOTOSSINA (VTEC) IN EUROPA

Caprioli A.

Laboratorio di Medicina Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Dal 1994 è attivo in Europa Enter-net un sistema di sorveglianza di laboratorio delle infezioni da patogeni enterici. Inizialmente limitato alle infezioni da Salmonella, il sistema è stato poi esteso alle infezioni da *E. coli* O157 e da altri VTEC. Il relativo database è stato creato nel 2000, dopo un periodo in cui i metodi di laboratorio per la caratterizzazione dei ceppi sono stati confrontati e in parte armonizzati e sono stati condotti controlli di qualità sulla tipizzazione sierologica e l'identificazione dei principali fattori di virulenza. I dati raccolti includono sia dettagli clinici ed epidemiologici sui pazienti che la caratterizzazione microbiologica degli isolati: sierotipizzazione, fagotipizzazione dei VTEC O157, analisi PCR dei geni di virulenza (*vt1*, *vt2*, attaching-effacing *eae*), sensibilità agli antimicrobici.

I dati raccolti nel 2000-2001 riguardano oltre 4.000 casi di infezione nell'uomo in 15 Paesi. Circa la metà dei casi si è verificata tra luglio e settembre, e il 37% di essi era nella fascia d'età 0-5 anni. Sul totale dei casi il rapporto tra i sessi era simile, ma nella fascia d'età 15-64 anni le femmine predominavano. Il 66% dei casi aveva diarrea, il 26% diarrea emorragica, il 5% sindrome emolitico-uremica e il 3% risultava asintomatico.

I Paesi partecipanti utilizzano spesso sistemi di sorveglianza diversi e anche diversi protocolli di laboratorio: in particolare, alcuni Paesi limitano la ricerca a *E. coli* O157, altri la estendono a tutti i VTEC. Malgrado queste differenze, i dati raccolti hanno messo in evidenza profonde differenze nell'epidemiologia delle infezioni da VTEC in Europa. Il sierogruppo O157 rappresenta in totale oltre il 68% dei casi segnalati, e in sei Paesi (Inghilterra e Galles, Irlanda, Olanda, Repubblica Ceca, Scozia, Spagna) oltre il 90% dei casi. Se si considerano gli altri 9 Paesi, però, VTEC O157 rappresenta solo il 25% del totale ed emerge chiaramente l'importanza di altri sierogruppi altamente patogeni. I sierogruppi più comunemente identificati sono stati O26 (15%), O103 (11%) e O91 (7%). Elevata anche la percentuale dei ceppi non tipizzabili o non tipizzati, che rappresentavano il 7% dell'intero database. Importanti differenze sono state osservate anche nella distribuzione dei fagotipi di *E. coli* O157: i ceppi PT21/28 erano predominanti in Gran Bretagna, mentre in Europa continentale predominavano ceppi PT8 e PT2. I motivi di queste differenze non sono ancora chiari e solo un rafforzamento della sorveglianza e la sua estensione ai settori alimentare e veterinario potranno chiarire questi aspetti.

LE INFEZIONI DA SHIGELLA: UN PROBLEMA RIEMERGENTE IN ITALIA?

Pontello M. (a), Mammina C. (b)

(a) CEPIS, Università degli Studi, Milano

(b) CEPIM, Università degli Studi, Palermo

Shigella sonnei è la specie di *Shigella* prevalente nei Paesi industrializzati, nei quali epidemie o, meno frequentemente, endemie prolungate da contagio interumano colpiscono collettività chiuse “ad alto rischio”, in cui il sovraffollamento, la precarietà delle infrastrutture e dei servizi e gli standard igienici insoddisfacenti costituiscono il background favorente comune. Vengono, inoltre, riportati sporadici casi di importazione da Paesi in via di sviluppo. Pur trattandosi di microrganismi a spettro d’ospite limitato all’uomo, la maggiore versatilità di *S. sonnei* rispetto alle modalità di trasmissione, insieme con la bassa dose infettante, ne rendono anche possibile il coinvolgimento in circuiti di contagio a lungo raggio, mediati da acqua contaminata (pozzi, piscine, fontane, acque superficiali) e alimenti, come ortaggi e prezzemolo, inseriti nel contesto più ampio della fecalizzazione dei corpi idrici destinati all’uso irriguo. Non mancano, infine, in letteratura episodi epidemici da alimenti contaminati da eliminatori pauci-sintomatici.

Tra il 2001 e il 2003 in Lombardia e in Sicilia si sono verificati alcuni scoppi epidemici da *S. sonnei*. Il primo cluster di infezioni nel periodo agosto-settembre 2001 ha riguardato un campo profughi provenienti dal Kosovo nella provincia di Bergamo. Nella stessa provincia altri due focolai pressoché contemporanei sono stati identificati in un asilo-nido e in un gruppo di 3 nuclei familiari. Nell’ottobre 2001 nel Comune di Melegnano un altro scoppio epidemico ha coinvolto un asilo-nido. L’epidemia siciliana, che dalla seconda decade di maggio alla fine di agosto 2003 ha provocato 23 casi confermati, per la maggior parte tra adolescenti e giovani adulti, è rimasta quasi esclusivamente limitata alla città di Palermo.

Le indagini fenotipiche e molecolari e, in particolare, la PFGE documentano l’appartenenza a due cluster distinti degli stipiti isolati: il cluster A comprende soltanto i ceppi del campo profughi, mentre il cluster B include tutti gli altri, nonché alcuni casi sporadici importati da Paesi dell’Africa del Nord. Sono in corso ulteriori indagini molecolari, in particolare la ricerca di integroni di classe II, per confermare l’ipotesi che il cluster B identificato in Italia si inquadri in una più vasta circolazione di un clone epidemico di *Shigella sonnei*, già identificato in altri Paesi (Irlanda, Australia) con caratteristiche simili a quelle dei ceppi italiani. La resistenza di *S. sonnei* a streptomina e trimetoprim, introdotti negli anni ’50 come alternativa terapeutica per le infezioni causate da stipiti sulfonamide-resistenti, e la simultanea presenza di integroni di classe II, renderebbe ragione della rapida evoluzione e diffusione di questo clone.

LE INFEZIONI DA *CAMPYLOBACTER*

Pezzotti G. (a), Ricci A. (b), De Cesare A. (c), Mioni R. (b), Crotti D. (d), Ripabelli G. (e), Dionisi A.M. (f), Serafin A. (b), Luzzi I. (f)

(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche, Perugia, (b) Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, (c) Università degli Studi di Bologna, (d) Ospedale Silvestrini, Perugia, (e) Cattedra di Igiene, Università degli Studi del Molise, Campobasso, (f) Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica, Istituto Superiore di Sanità, Roma

In vari Paesi europei *Campylobacter* risulta essere il più comune agente eziologico di enterite, con una prevalenza particolarmente elevata nella popolazione in età pediatrica. In Italia non esiste un sistema di sorveglianza per le infezioni da *Campylobacter*; tuttavia nell'ambito di Enter-net e con la collaborazione dell'AMCLI è stato recentemente avviato uno studio pilota sulle infezioni umane (CAMPYG) ed uno studio di prevalenza di infezione negli animali da reddito e nei prodotti carnei (Triveneto). La sorveglianza delle infezioni umane, iniziata nel 2000, è una sorveglianza, passiva, volontaria, specifica e confidenziale, cui hanno preso parte 18 laboratori di microbiologia clinica. I ceppi isolati sono stati tipizzati e esaminati per la sensibilità agli antibiotici.

Sono stati segnalati 433 casi, oltre il 60% dei quali in età pediatrica. La maggior parte degli isolamenti è avvenuto nella stagione calda (maggio – ottobre); il 73.7% dei ceppi era rappresentato da *C. jejuni*, il 13.6% da *C. coli* mentre il 12.7% apparteneva a specie diverse (*C. lari* 1.2%, *C. fetus* 0.5%) o non è stato identificato nella specie di appartenenza.

In ambito veterinario, nel territorio di competenza dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie è stato effettuato un programma di sorveglianza per la verifica della presenza di *Campylobacter* nelle specie animali di maggior rilevanza zootecnica (bovini, suini, polli da carne) e nelle carni fresche derivate. Le più alte percentuali di isolamento sono state ottenute dai polli da carne, così come dai campioni di carne fresca di pollo, con una prevalenza esclusiva di *C. jejuni* e *C. coli*. Alle positività dei tamponi rettali ottenuti dai bovini è corrisposto un bassissimo tasso di isolamento di *Campylobacter* da carne bovina. Nei bovini inoltre il 53% dei campioni positivi era rappresentato da specie di *Campylobacter* diverse da *C. jejuni* e da *C. coli*. Nei suini è risultato predominante *C. coli* ma è stata riscontrata anche un'elevata percentuale di altre specie di *Campylobacter*.

Un'elevata percentuale di ceppi resistenti ai chinoloni è stata riscontrata tra gli isolati clinici, animali e da carni fresche. Studi di tipizzazione molecolare sono stati infine applicati ai ceppi di provenienza umana ed animale al fine di confrontarne le caratteristiche e verificare le possibili correlazioni epidemiologiche tra infezione nelle popolazioni animali, contaminazione dei prodotti ed infezione nell'uomo.

LE INFEZIONI DA ROTAVIRUS IN ITALIA

Arista S., De Grazia S., Giammanco G.

*Dipartimento di Igiene e Microbiologia, Facoltà di Medicina e Chirurgia,
Università degli Studi di Palermo*

Il ruolo dei rotavirus, quali ubiquitari e diffusi agenti di enterite in età pediatrica, è ormai ben definito. È stata, altresì, accertata l'evenienza di diarree da rotavirus in numerose specie di mammiferi ed uccelli. La presenza nei rotavirus di un genoma ad RNA segmentato sicuramente concorre alla spiccata variabilità esibita dalle due proteine virali di superficie, VP7 e VP4, che indipendentemente evocano la comparsa di anticorpi neutralizzanti, con attività per lo più omotipica. In base alle differenti specificità antigeniche in VP7 e VP4, attualmente i rotavirus sono stati classificati in 15 tipi G, VP7 correlati, ed in 22 tipi P, VP4 correlati. Evenienze di mutazioni puntiformi, riassortimento genico e ricombinazioni intrageniche, oltre a quelle di una trasmissione interspecie, si ritengono responsabili della eterogeneità dei ceppi circolanti in una data regione geografica e causa della spiccata morbosità delle infezioni da rotavirus.

Studi epidemiologici, da noi effettuati su 3042 bambini ospedalizzati a Palermo dal 1985 al 2002 per enterite acuta, hanno rivelato una prevalenza annuale di infezioni da rotavirus oscillante tra il 25,5% ed il 45,3% dei casi. La sierotipizzazione di 1232 ceppi virali, con anticorpi monoclonali nei confronti dei sierotipi G1-G4 dei rotavirus, ha confermato nell'84,57% la circolazione di ceppi di tali sierotipi, prevalenti in tutto il mondo, ed una loro differente distribuzione nell'ambito dei vari anni. I ceppi con specificità G2 erano causa di una maggiore disidratazione nei bambini infetti rispetto agli altri sierotipi. La genotipizzazione di ceppi non sierotipizzabili, effettuata in campioni fecali ottenuti da agosto 1999 a ottobre 2002, ha consentito di evidenziare anche nella nostra area geografica la presenza di ceppi con specificità G9, dal 1995 sempre più frequentemente segnalati in varie aree geografiche. Il sequenziamento del gene codificante VP7 e l'ulteriore genotipizzazione dei ceppi di rotavirus VP4 correlata hanno consentito una migliore caratterizzazione di tali ceppi virali e la formulazione di ipotesi sulla loro origine geografica.

I nostri risultati, visti nel contesto nazionale, sono ben rappresentativi di quanto riscontrato in altre città, relativamente alla diffusa circolazione di ceppi con sierotipi G1-G4, ed al riscontro (2001-2003) di ceppi G9 a Bari.

Il recente avvio di studi epidemiologici italiani sui rotavirus animali (porcini, canini e bovini) sicuramente fornisce ulteriori contributi alle conoscenze sulla circolazione dei rotavirus in Italia.

Ulteriori studi epidemiologici sono, tuttavia, certamente auspicabili, per la corretta formulazione di un vaccino protettivo per la nostra popolazione infantile.

LE INFEZIONI DA CORONAVIRUS NEGLI ANIMALI

Pratelli A.M.

Medicina Veterinaria, Università degli Studi, Bari

Nella famiglia delle *Coronaviridae* sono inclusi virus patogeni dei mammiferi e degli uccelli. In base all'analisi filogenetica e alla cross reattività antigenica i coronavirus vengono suddivisi in tre distinti *cluster*. Il gruppo antigenico I include il coronavirus del cane (CCoV), il virus della gastroenterite trasmissibile del suino (TGEV), il virus della diarrea epidemica del suino (PEDV), il coronavirus respiratorio del suino (PRCoV), i coronavirus felini (FCoVs tipo I e tipo II) e il coronavirus dell'uomo 229E (HCoV-229E). Sono virus provvisti di envelope con un RNA a polarità positiva non segmentato di 27-32 kb.

Tra i coronavirus degli animali, quello che negli ultimi tempi è stato più studiato è il coronavirus del cane, responsabile nei cuccioli di vomito, diarrea, anoressia, disidratazione e talvolta morte.

La messa a punto di un test PCR ha permesso di verificare che CCoV è molto diffuso nella popolazione canina. L'analisi completa del gene M e di porzioni del gene della replicasi, *pol1a* e *pol1b* di ceppi CCoV identificati nelle feci dei cuccioli ha evidenziato l'esistenza di due cluster separati di CCoV. Il primo cluster include virus con caratteristiche analoghe ai ceppi CCoV di referenza, l'altro racchiude virus che segregano insieme a FCoV. Questi dati preliminari sono stati confermati dall'analisi del gene S che ha dimostrato inequivocabilmente la presenza nel cane di un nuovo genotipo di CCoV che presenta una elevata identità nucleotidica (77%) e aminoacidica (81.7) con FCoV tipo I. Sulla base di questa stretta identità con FCoV tipo I, il nuovo genotipo è stato indicato come CCoV tipo I, mentre quello "classico" come CCoV tipo II.

IL RUOLO DELL'AMBIENTE NELLA TRASMISSIONE DELLE INFEZIONI ENTERICHE

Nastasi A.

Dipartimento di Igiene e Microbiologia, Università degli Studi, Firenze

Molti dei microrganismi ad ecologia enterica trovano nelle vie di trasmissione a lungo raggio la modalità preferenziale di diffusione, in particolare attraverso alimenti ed acqua. Nei Paesi sviluppati al declino inarrestabile delle malattie causate da agenti ad esclusivo parassitismo umano, sia sostenute da batteri (Typhi) che da virus (HAV), grazie ad un controllo sempre più efficace della fecalizzazione ambientale e alla bonifica dell'acqua potabile, si contrappone in anni recenti l'affermazione sempre più diffusa di infezioni sostenute da microrganismi a ecologia zoonotica. La progressiva confluenza su scala globale dei mercati, con la trasformazione intensiva dei sistemi di produzione, sia in ambito zootecnico che in agricoltura, ha favorito la diffusione di microrganismi emergenti ad ecologia enterica. Questi batteri, virus o protozoi sono in generale molto resistenti nell'ambiente, e in particolare nel corpo idrico, e frequentemente dotati di basse dosi minime infettanti. Infatti, insieme ad agenti microbici classici come *Salmonella*, *V. cholerae* O1 o *Giardia*, sono emersi nel mondo della globalizzazione agenti come *E. coli* O157:H7, *C. jejuni*, *V. cholerae* O139, *V. vulnificus*, Norovirus e agenti protozoari come *Cryptosporidium parvum* e *Cyclospora cayetanensis*. *E. coli* O157:H7 si è così, per esempio, reso responsabile di scoppi epidemici non più soltanto associati al consumo del tradizionale hamburger, espressione di contaminazione delle masse muscolari bovine, ma a veicoli alimentari più inconsueti, come ortaggi o sidro di mela, coinvolti nel ciclo dell'infezione dalla fecalizzazione ambientale. Numerosi sono anche gli esempi di epidemie insorte a seguito della frequentazione di luoghi ricreativi, come piscine, laghi e fiumi, parchi acquatici, in cui la contaminazione dell'acqua ha assunto il ruolo principale. I Norovirus, che ormai sono su scala mondiale la più frequente causa delle epidemie idriche, sono stati identificati come agenti causali estremamente frequenti di scoppi epidemici in collettività e, in particolare, su navi da crociera la cui bonifica, data la resistenza di questi virus ai disinfettanti, è stata effettuata con grandi difficoltà, comportando il fermo non previsto delle navi. La reintroduzione in USA di *C. cayetanensis* è ancora un esempio paradigmatico degli effetti della globalizzazione dei mercati mondiali con il conseguente rimescolamento della presenza e dei ruoli degli agenti etiologici. Infatti, l'uso di acqua contaminata dal protozoo per il trattamento anticrittogamico dei lamponi coltivati in Guatemala ne ha reso possibile l'importazione negli USA, dopo un'assenza di più di 50 anni, trasformandolo in breve nella quarta causa di enterite nel Nord America.

LE INFEZIONI ENTERICHE TRASMESSE DA MOLLUSCHI

Croci L.

Laboratorio Alimenti, Istituto Superiore di Sanità, Roma

I prodotti ittici costituiscono da sempre un'importante fonte per l'alimentazione umana. L'aumento del loro consumo e i dati epidemiologici che confermano il ruolo dei prodotti della pesca, specialmente molluschi, come vettori di tossinfezione alimentare hanno determinato tuttavia l'esigenza di un maggiore controllo delle loro caratteristiche microbiologiche. Vengono presi in considerazione i principali microrganismi patogeni associati con tali prodotti, con particolare attenzione verso i patogeni emergenti non considerati nella normativa (patogeni ambientali, ad es. vibriani, e virus enterici) esaminando le modalità della loro presenza e sopravvivenza nell'ambiente marino, i meccanismi mediante cui essi contaminano i prodotti ittici e la loro resistenza ai trattamenti subiti dall'alimento prima della commercializzazione ed al momento del consumo.

COMUNICAZIONI ORALI E POSTER

Sessione 1
Le infezioni da batteri enteropatogeni
Moderatori
Antonino Nastasi, Guido Petracca

P1. RUOLO DEI GENI *sodC* NELLA VIRULENZA DI *SALMONELLA* SPP.

Ammendola S. (a), Pacello F. (a), Bilei S. (b), Salinetti A.P. (b), Di Giampietro G. (b), Pasquali P. (c), Valenti P. (d), Rotilio G. (a), Battistoni A. (a)

(a) Dipartimento di Biologia, Università di Tor Vergata, Roma, (b) Centro di Riferimento Regionale per gli Enterobatteri Patogeni, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma, (c) Laboratorio di Medicina Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma, (d) Istituto di Microbiologia, II Università di Napoli

Tra i più importanti meccanismi alla base dell'evoluzione di molti batteri patogeni vi sono quelli basati sul trasferimento genico orizzontale mediato da batteriofagi temperati. Studi recenti hanno dimostrato che differenti ceppi di *Salmonella enterica* possono contenere un corredo variabile di profagi lambdoidi potenzialmente capaci di favorire il trasferimento di fattori di virulenza da un ceppo all'altro. Tali studi hanno anche suggerito che una differente distribuzione di questi elementi mobili può essere tra i fattori che determinano sia la differente patogenicità che la differente specificità d'ospite dei diversi sierotipi di *Salmonella*.

Tra i fattori di virulenza associati a batteriofagi integrati nei genomi di batteri patogeni vi è il gene *sodC* che codifica per la superossido dismutasi a rame e zinco (Cu,ZnSOD). Le superossido dismutasi sono metalloenzimi capaci di intercettare rapidamente l'anione superossido e convertirlo in perossido di idrogeno e ossigeno molecolare, prevenendo così la formazione di radicali dell'ossigeno maggiormente reattivi. Oltre ad un gene *sodC* (*sodC2*) comune a tutti i batteri del genere *Salmonella*, alcuni ceppi altamente virulenti appartenenti a diversi sierotipi possiedono un secondo gene *sodC* (*sodC1*) che è localizzato su di un profago di tipo lambda, noto come Gifsy-2. Un altro gene *sodC* (*sodC3*), localizzato sul profago Fels-1 è stato identificato nel ceppo LT2 di *S. Typhimurium* LT2. Tali geni non sono strettamente necessari per la crescita batterica in condizioni di laboratorio e non hanno alcun ruolo nel proteggere i batteri dal radicale superossido generato all'interno della cellula. Tuttavia studi condotti nel nostro e in altri laboratori hanno dimostrato che i geni *sodC* possono favorire la sopravvivenza di *Salmonella* spp. sia in fagociti professionisti che in cellule epiteliali e che la loro inattivazione selettiva può diminuire in modo significativo la patogenicità batterica. I nostri studi suggeriscono anche che i geni *sodC1* e *sodC2* possono contribuire in modo disuguale alla patogenicità di *Salmonella*, sebbene differenze significative possono essere osservate in ceppi appartenenti a diversi sierotipi. Abbiamo inoltre eseguito un'analisi della distribuzione dei geni *sodC* su isolati di *Salmonella* Enteritidis al fine di stabilire una correlazione tra presenza del gene *sodC1* e virulenza batterica. Risultati preliminari indicano che i ceppi appartenenti a questa collezione mostrano una significativa variabilità nella distribuzione delle diverse isoforme di Cu,ZnSOD.

P2. WEATHER AND HEMOLYTIC UREMIC SYNDROME

Ardissino G. (a), Paglialonga F. (b), Daccò V. (b), Testa S. (b), Loi S. (a), Edefonti A. (a), Cusi D. (a), Sereni F. (a)

(a)Unit of Pediatric Nephrology, University Milano, (b) Dept. of Pediatrics, Univ. Milano

Diarrhea-associated hemolytic-uremic syndrome (D+HUS) is a major cause of acute renal failure in otherwise healthy children, and is endemo-epidemic in temperate areas. The vast majority of cases are sporadic and frequently follow an episode of enterocolitis due to verocytotoxin-producing *E. coli*, but the route of infection often remains unclear. Although the consumption of undercooked animal-derived food is a sound explanation for disease transmission in focal epidemics, it cannot explain some of the bizarre aspects of the epidemiology of sporadic cases, such as their tendency to occur in small clusters in suburban and rural areas, and the relationship between disease incidence and cattle density. These observations prompted us to investigate whether the spread of D+HUS may be influenced by specific climatic conditions by considering the 20 pediatric D+HUS cases occurring in Lombardy (total population: 8.6 million) in 1998-1999. The completeness of the available data was crosschecked through the National HUS Registry. The meteorological service provided the average daily temperature, rainfall and relative humidity for two regional sites located 150 kilometers apart. During the study period there were three clusters without any evidence of focal epidemics as there was no geographical or etiological relationship between them. We identified ten D+HUS periods covering a total of 204 days and eight HUS-free periods covering a total of 224 days. According to Wilcoxon's signed-rank test, the D+HUS-free periods were significantly less rainy (0.99 ± 2.7 vs. 2.17 ± 6.2 mm/cm²/day; $p < 0.001$), less humid ($48.4 \pm 14.4\%$ vs. $52.8 \pm 15.4\%$; $p < 0.001$), and warmer (24.7 ± 7.2 vs. $23.4 \pm 5.3^\circ\text{C}$; $p < 0.01$). Although there is no doubt that D+HUS focal epidemics are caused by pre-market food contamination, our data suggest that environmental contamination by D+HUS-related bacteria may be more critical in sporadic cases. The gastrointestinal tract of cattle is a major reservoir of enteropathic *E. coli*, which are therefore widespread in cowpats and manure in a manner that is proportional to local cattle density. Rainfall and humidity may favour the longer persistence of the bacteria in the environment. The subsequent transmission of infection may occur directly or by means of a vector (i.e. flies, whose lives are also conditioned by climatic factors) and/or vehicles. In this theoretical context, the probability of bacteria/child contact is greater in rural and suburban (or sub-rural) areas with greater cattle densities, and during rainy periods. In conclusion, our data suggest that environmental contamination by D+HUS-related agents plays an important role in the spread of the disease. This in turn suggests that preventive strategies should be primarily founded on the precise application of simple hygienic measures limiting contacts between children and the infective agents because the origin of the latter is more likely to be the environment in which the child lives than primary food chain contamination. These simple and inexpensive measures, which should also be widely publicized with regard to D+HUS, include careful child/cattle contact, hand washing, fly control, and the appropriate washing and handling of foodstuffs (including vegetables).

LE SALMONELLE NELL'AMBIENTE VENETO

Bessegato A.

*U.O. Microbiologia – Ospedale di Treviso,
Centro Enterobatteri Patogeni della Regione Veneto*

Il continuo aumento di episodi epidemici provocati da salmonelle verso la fine degli anni '70 indussero nel 1981 la Regione Veneto ad istituire un Centro Regionale per gli Enterobatteri Patogeni (CEPVE) che ha sede presso l'Unità Operativa di Microbiologia dell'Ospedale Cà Foncello di Treviso, attualmente diretto dal dott. A. Mottola.

Il compito prevalente del CEPVE è la tipizzazione sierologica di tutti gli stipiti ricevuti e l'informazione più celere possibile ai laboratori invianti. Gli utenti che si rivolgono a questa struttura sono circa 80, rappresentati dalle Aziende Sanitarie (Ospedali pubblici e privati), dall'ARPAV (ex Presidi Multizonali di Prevenzione), dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale e dai Laboratori privati.

In oltre 20 anni di attività sono state tipizzate e/o catalogate oltre 95.000 salmonelle, con punte massime riferite agli anni 1992 (8235 ceppi) e 1993 (8087 ceppi).

Il centro provvede inoltre ad alimentare un database (secondo un programma Enter-net, valido per tutta l'Italia) comprensivo di tipizzazione, provenienza (umana e non umana) del ceppo isolato, laboratorio inviante, anagrafe del paziente, anamnesi e clinica dell'episodio infettivo, saggi di sensibilità agli antibiotici e codice numerico della salmonella.

Utilizzando questi dati, viene prodotto un report trimestrale che viene inviato a tutti i laboratori utenti, al CEPIS (Centro Enterobatteri Patogeni per l'Italia Settentrionale con sede a Milano) e all'Istituto Superiore di Sanità a Roma.

I dati vengono accompagnati da una lettera esplicativa in cui si mettono in evidenza il numero di ceppi umani e non isolati nel trimestre in questione, il/i sierotipo/i prevalente/i, eventuali episodi epidemici verificatisi, tipizzazioni rare di cui si riportano la nomenclatura e la formula antigenica, isolamenti diversi da Salmonella (*Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella*, ecc.).

Annualmente poi viene elaborata a cura di una Commissione Regionale una epidemiologia articolata nei vari campi (umano ed ambientale) che viene inviata agli utenti ed alle Autorità Sanitarie regionali.

Tale flusso di lavoro consente al CEPVE di monitorare in tempo pressoché reale l'andamento delle salmonelle sul territorio (osservatorio epidemiologico) permettendo interventi adeguati.

Dai primi anni '90 si è assistito ad un aumento del numero di salmonelle isolate nel mondo animale e ad una contemporanea riduzione degli isolamenti in campo umano. La causa è probabilmente da attribuirsi ad un maggior controllo durante la lavorazione nella catena alimentare.

Per *S. enteritidis*, sierotipo più frequentemente isolato, il risultato ottenuto ha consentito di evidenziare il progressivo aumento percentuale fino al 1992 (passando dal 2% del 1981 fino al 52% del 1992), per poi avere una diminuzione drastica negli anni successivi con andamento fluttuante. Tra le principali salmonelle isolate, si segnala nell'ultimo decennio

un andamento pressoché costante di *S. Typhimurium* (circa 1000 anno) e di *S. Infantis* (circa 200, con picco però di oltre 900 nel 2000).

Nel decennio 1992-2002 sono stati ricostruiti 778 episodi epidemici (la maggior parte dei quali sostenuti da *S. Enteritidis*) che hanno coinvolto oltre 4000 persone.

Attualmente è in corso lo studio di un nuovo assetto organizzativo che permetterà di integrare in modo più efficiente i vari centri che si dedicano a questo settore. Tra questi l'Istituto Zooprofilattico delle Tre Venezie avrà parte fondamentale per la tipizzazione sierologica dei ceppi. Il CEPVE avrà il compito di monitorare in maniera sempre più allargata le gastroenteriti infettive nel territorio. A tale proposito si opererà verosimilmente utilizzando la formula dei “progetti-obiettivi” che consentano periodicamente di fare il punto della situazione sulla circolazione dei patogeni intestinali nella nostra Regione.

LA DIAGNOSI DI LABORATORIO DI SPIROCHETOSI INTESTINALE UMANA

Calderaro A. (a), Piccolo G. (a), Bommezzadri S. (a), Incaprera M. (a), Razia L.E. (a), Villanacci V. (b), Arcangeletti M.C. (a), Medici M.C. (a), Dettori G. (a), Chezzi C. (a)

(a) Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio, Sezione di Microbiologia, Università degli Studi di Parma

(b) Anatomia Patologica, Spedali Civili, Università di Brescia

La spirochetosi intestinale umana (SIU) è una condizione patologica caratterizzata dalla massiva presenza di spirochete nel colon, adese a microvilli diradati e distrutti, associata a sintomi a carico del tratto gastro-intestinale. Agente eziologico di spirochetosi intestinale nell'uomo e negli animali (cani, polli, maiali) è *Brachyspira pilosicoli*, una spirocheta anaerobia debolmente beta-emolitica considerata potenziale agente di zoonosi. Nel corso di numerosi anni nel nostro laboratorio sono stati descritti diversi casi di SIU da *B. pilosicoli* in pazienti italiani e stranieri con diarrea mucosa, dolori addominali, costipazione e rettorragia. Un'altra spirocheta anaerobia debolmente beta-emolitica, *B. aalborgi*, recentemente considerata potenziale agente eziologico di SIU, è stata isolata fino ad oggi in soli due casi da biopsie intestinali, nel 1982 e nel 2000. A partire dal 2001 nel nostro laboratorio è stato descritto, per la prima volta in assoluto, l'isolamento di *B. aalborgi* da feci di pazienti con SIU. Più recentemente abbiamo osservato un caso di SIU provocato dall'infezione mista *B. pilosicoli* e *B. aalborgi* associata ad amebiasi intestinale da *Entamoeba histolytica* in un paziente italiano con sospetto morbo di Chron.

Presso il nostro laboratorio la diagnosi di SIU viene formulata attraverso la caratterizzazione fenotipica e genetica delle spirochete isolate. L'isolamento delle spirochete viene effettuato utilizzando il terreno Blood Agar Modificato addizionato di Spectinomomicina e Rifampicina (BAM-SR), da noi messo a punto, a partire da biopsie intestinali e campioni di feci. L'identificazione delle spirochete viene eseguita anche con un metodo molecolare rapido e avanzato utilizzando il DNA estratto dai campioni biologici per essere sottoposto a due differenti reazioni polimerasiche a catena specifiche per il gene 16S (PCR 16S) e il gene *nox* (PCR *nox*), rispettivamente, del genere *Brachyspira*. I prodotti di amplificazione vengono poi sottoposti a digestione enzimatica e a successiva analisi dei frammenti di restrizione (RFLP-PCR). In particolare, nei casi di SIU da *B. aalborgi*, il metodo RFLP-PCR si è rivelato di estrema utilità diagnostica come nel caso del paziente con infezione mista da *B. pilosicoli* e *B. aalborgi*. Infatti, in questo caso non è stato possibile differenziare le due specie di spirochete mediante il metodo colturale. Nei campioni di questo stesso paziente l'utilizzo di una PCR specifica per *E. histolytica* ha consentito di dimostrare rapidamente il DNA dell'ameba che è stata successivamente rivelata anche mediante isolamento. In conclusione, l'utilizzo di metodi molecolari avanzati consente una rapida diagnosi di infezione da agenti enteropatogeni anche inusuali come nei casi da noi riportati.

P3. INFEZIONI UMANE DA CAMPYLOBACTER E SALMONELLA IN PROVINCIA DI TRENTO NELL'ANNO 2002

Dell'Eva I., Frenguelli M., Helfer F.
Laboratorio di Igiene Epidemiologia e Sanità Pubblica, Trento

In provincia di Trento il LIESP (Laboratorio di Igiene Epidemiologia e Sanità Pubblica) è il Laboratorio di riferimento e raccolta dati per quanto riguarda la sorveglianza delle infezioni enteriche nell'uomo.

Nell'anno 2002 ci sono pervenute 119 schede di isolamento e tipizzazione di *Campylobacter*, dai vari Laboratori clinici distribuiti sul territorio, e 252 ceppi di Salmonella da tipizzare di cui uno di origine non umana. Circa il 50% dei ceppi di *Campylobacter* isolati sono stati tipizzati come *C. jejuni*, basandosi sulla positività al test dell'idrolisi dell'Ippurato; tutti gli altri ceppi sono stati raggruppati come *Campylobacter* species. In accordo con le ormai numerose segnalazioni di resistenza antibatterica, anche da noi sono stati evidenziati dei ceppi di *C. jejuni* resistenti all'Acido nalidixico: su 60 ceppi, 18 (30%) sono risultati sensibili, 12 (20%) sono risultati resistenti mentre sui 30 campioni rimanenti non è stato eseguito l'antibiogramma o non ne è pervenuto il risultato.

Oltre all'Acido nalidixico, gli antibiotici maggiormente testati su *C. jejuni*, tra quelli proposti dal Gruppo di Sorveglianza per i batteri Enteropatogeni dell'Istituto Superiore di Sanità, sono stati: Ampicillina, Ciprofloxacina, Cloramfenicolo, Gentamicina e Tetraciclina e hanno dato i seguenti risultati: Ampicillina (S=30,3% I=3,5% R=37,5% Non det.=28,7%); Ciprofloxacina (S=50,0% I=1,8% R=34,0% Non det.= 14,2%); Cloramfenicolo (S=82,1% I=0,0% R=0,0% Non det.=17,9%); Gentamicina (S=81,8% I=0,0% R=3,6% Non det.=14,6%); Tetraciclina (S=47,3% I=1,8% R=36,3% Non det.=14,6%).

Per quanto riguarda i dati epidemiologici dei pazienti dalle cui feci sono stati isolati i *Campylobacter*, 80 di essi sono maschi (67,3%) e 39 (32,7%) femmine, con una netta prevalenza di isolamento nella fascia di età da zero a cinque anni. Solo il 22% dei pazienti ha avuto bisogno del ricovero ospedaliero. Nel periodo primaverile-estivo, da maggio a settembre, si è concentrato il maggior numero di isolamenti, soprattutto nei laboratori dei due ospedali principali di Trento e Rovereto.

I dati epidemiologici per Salmonella indicano una prevalenza di isolamento di Typhimurium (53,6%) rispetto a Enteritidis (29,4%) confermando i dati nazionali. I mesi di maggior isolamento sono quelli estivo-autunnali, mentre le Salmonelle riscontrate sporadicamente e con bassa frequenza d'isolamento sono distribuite lungo tutto l'arco dell'anno, in modo abbastanza uniforme. Le infezioni hanno colpito maschi e femmine in parti uguali, sono state prevalentemente di tipo sporadico e hanno portato al ricovero ospedaliero nel 32% dei casi. La fascia d'età più colpita, anche in questo caso, è quella tra zero e cinque anni.

Gli antibiotici più saggiati, tra quelli proposti, sono Ampicillina, Ciprofloxacina e Trimetoprim/Sulfametazolo che, nei confronti di S. Typhimurium, hanno dato i seguenti risultati: Ampicillina (S=6,0% I= 0,0% R=55,0% Non det.=39,0%); Ciprofloxacina (S=65,6% I=0,0% R=0,0% Non det.=34,4%); Tri/Sul (S=44,0% I=0,0% R=20,2% Non det.=35,8%).

EPIDEMIOLOGIA DEL BOTULISMO INFETTIVO INTESTINALE IN ITALIA

Fenicia L.

Laboratorio di Alimenti, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Il botulismo è una sindrome neuroparalitica che si può presentare nell'uomo in cinque differenti forme, tutte conseguenti l'azione delle neurotossine botuliniche che agiscono bloccando il rilascio dell'acetilcolina a livello delle giunzioni neuromuscolari. Tali tossine esistono in 7 sierotipi antigenicamente diversi dei quali quelli che interessano la patologia umana sono il tipo A, B, E e molto raramente F.

Oltre le forme tossiche dovute alla neurotossina preformata negli alimenti (botulismo alimentare) e la più recente conseguente il non corretto uso terapeutico della tossina (botulismo iatrogeno), esistono differenti forme infettive di botulismo dovute all'azione della tossina prodotta "in vivo" dal microrganismo neurotossigeno che può svilupparsi in una ferita infetta (botulismo da ferita) o colonizzare il tratto intestinale di neonati (botulismo infantile), ragazzi o adulti (botulismo intestinale dell'adulto). Queste ultime due forme sono denominate "intestinal toxemia botulism".

Classicamente l'agente etiologico del botulismo è il *Clostridium botulinum*, ma in rari casi sono state isolate ed identificate specie di clostridi diversi, portatori del gene che codifica per la sintesi di alcuni sierotipi di tossina. Tali specie sono in particolare il *C. barati* produttore di tossina botulinica tipo F isolato negli USA ed il *C. butyricum* produttore di tossina tipo E, isolato in 6 casi botulismo infettivo intestinale in Italia.

L'epidemiologia dei casi di botulismo intestinale nel mondo riporta più di 1000 casi di botulismo infantile dei quali quasi la totalità negli USA (incidenza 2/100000 nati vivi) dove è al primo posto tra le forme di botulismo. In tutto il mondo è molto rara la forma intestinale dell'adulto.

Benché il botulismo intestinale sia una sindrome molto rara anche nel nostro Paese (per il botulismo infantile l'incidenza è 0,18/ 100000 nati vivi), l'Italia è al secondo posto dopo gli USA per numero di casi e dal 1979 sono stati studiati presso il Centro Nazionale di Riferimento per il Botulismo, 19 casi di botulismo infantile e 3 dell'adulto.

Questa relazione illustra le caratteristiche peculiari dell'epidemiologia del botulismo infettivo intestinale sia nella forma infantile che dell'adulto.

È da sottolineare in particolare l'isolamento in sei casi – 4 infantili e 2 dell'adulto- (27,3%) di un ceppo di *C. butyricum* produttore di tossina botulinica tipo E. Inoltre è stata evidenziata in 5 di questi casi una concomitante e severa sintomatologia gastroenterica. Nel più recente di questi casi, è stato possibile isolare dalle feci, spore e tossine di *C. difficile*.

Per quanto riguarda infine l'individuazione del veicolo delle spore botuliniche, da indagini effettuate su campioni alimentari e ambientali in occasione di diversi casi di botulismo infantile, è stato possibile isolare in un solo caso spore di *C. botulinum* dello stesso sierotipo sia dalle feci del bambino che da un campione di miele ingerito nei giorni precedenti l'inizio della sintomatologia neurologica.

P4. TIPIZZAZIONE DI *C. JEJUNI*: FATTIBILITÀ DI UN SISTEMA BASATO SULLE MUTAZIONI DEL GENE *gyrA*

Minelli F. (a), Dionisi A.M. (b), Carattoli A. (b), Luzzi I. (b)
(a) *Laboratorio di Medicina Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma*
(b) *Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Campylobacter possiede diversi antigeni capsulari termolabili, antigeni flagellari e antigeni somatici termostabili, che permettono una sua differenziazione in svariati sierotipi. La sierotipizzazione costituisce uno strumento epidemiologico importante dal momento che solo alcuni sierotipi sembrano correlati a diarree invasive gravi con complicanze neurologiche, ma sfortunatamente gli antisieri non sono ancora disponibili in commercio.

La tipizzazione molecolare rappresenta un ulteriore metodo di indagine utile, anche se non applicabile a livello dei laboratori di microbiologia clinica, per approfondire tutti quegli aspetti epidemiologici relativi al riconoscimento delle fonti di infezione, alle vie di trasmissione e al riconoscimento di specifici fattori di rischio di infezione da *Campylobacter*.

In un lavoro precedente abbiamo osservato che le diverse combinazioni di mutazioni in un tratto del gene *gyrA* (coinvolto nella resistenza ai fluorochinoloni) permettevano di raggruppare ceppi *C. jejuni* di diversa origine. Lo scopo di questo studio è stato quello di verificare la fattibilità di uno schema di tipizzazione basato sulle mutazioni del gene *gyrA*. Dieci ceppi rappresentativi di cinque raggruppamenti sono stati utilizzati per ottenere sieri iperimmuni in topo. I sieri sono stati saggiati mediante Western Blot verso l'LPS dei ceppi omologhi, ceppi appartenenti allo stesso ed altri raggruppamenti.

I nostri risultati preliminari hanno dimostrato che tutti i sieri specifici hanno un'alta reattività verso l'LPS del ceppo omologo e verso quelli appartenenti allo stesso raggruppamento, mentre non si osservano cross-reazioni verso altri raggruppamenti. Questo studio potrebbe rappresentare un valido approccio per lo sviluppo di una metodica di tipizzazione (Western Blot, Elisa) facilmente eseguibile in laboratorio di primo livello.

P5. FREQUENZA DI ISOLAMENTO DI SALMONELLE NELLA REGIONE PIEMONTE NEL PERIODO GIUGNO 2001-GIUGNO 2003

Molinari G.L., Andreoni S., Zignani M., Fortina G.
Laboratorio di Microbiologia e Virologia A. O. "Maggiore della Carità" Novara

Nel periodo giugno 2001-giugno 2003 sono state inviate al Centro di Riferimento di Novara 496 ceppi di Salmonella, isolati da materiali di provenienza umana, per essere sottoposti a identificazione di specie.

Le salmonelle identificate con maggior frequenza sono risultate essere la *Salmonella enterica* serovar. Typhimurium (51,61%) e la *Salmonella enterica* serovar. Enteritidis (25,80%); non è inoltre mancato il ritrovamento di salmonelle inusuali quali *Salmonella enterica* serovar. Plackendael, Albany, Loanda, Warnemuenda, isolamenti che hanno però riguardato 1 o al massimo 2 campioni per specie.

La S. Typhimurium risulta essere la più isolata in tutti i mesi presi in considerazione, anche se non mancano le dovute eccezioni: infatti nel periodo settembre/ottobre 2002 e nel periodo maggio/giugno 2003, la S. Enteritidis è stata isolata in Piemonte in misura superiore rispetto a S. Typhimurium.

In accordo con i dati di precedenti pubblicazioni, è stata confermata la stagionalità delle salmonelle che hanno avuto in entrambe le annate un picco di isolamento nei mesi di ottobre-novembre.

Per quanto riguarda la sensibilità agli antibiotici, si è constatato che salmonelle diverse da Typhimurium ed Enteritidis continuano a mantenere una sensibilità pressoché totale nei confronti dei vari antibiotici e che soltanto sporadicamente possono comparire resistenze che possono riguardare al massimo un solo antibiotico.

Per quanto riguarda S. Enteritidis, sono state evidenziate nella nostra casistica n. 8 ceppi resistenti ad Ac. Nalidixico.

Di contro, dei 256 casi di S. Typhimurium, soltanto 39 sono risultati sensibili a tutti gli antibiotici saggiati, mentre ben 217 (82,8%) sono risultati resistenti ad almeno 1 degli antibiotici presi in considerazione.

In particolare il 37,2% dei ceppi resistenti ha presentato una resistenza nei confronti di Ampicillina-Tetraciclina, mentre il 29,77% è risultato resistente costantemente a 3 antibiotici (Ampicillina, Tetraciclina, Cloramfenicolo nel 25,57% dei casi, Ampicillina, Tetraciclina e Trimetoprim/sulfametoxazolo nel 4,20% dei casi).

Il 3,5% è risultato resistente a 5 antibiotici, mentre in un solo caso si è registrata una multiresistenza nei confronti di ben 6 antibiotici (Ampicillina, Ac.nalidixico, Tetraciclina, Cloramfenicolo, Amoxicillina/Ac. Clavulanico, Trimetoprim/sulfametoxazolo).

P6. ASPETTI EPIDEMIOLOGICI DI INFEZIONI GASTROENTERICHE IN PAESI IN VIA DI SVILUPPO

Muresu E. (a), Rubino S. (b), Piana A. (a), Are B.M. (a), El-Kammsh S. (c), Kazmi S. (d), Maida I. (a), Azara A. (a)

(a) Istituto di Igiene e Medicina Preventiva, Sassari

(b) Dipartimento di Scienze Biomediche, Sezione di Microbiologia e Virologia, Università degli Studi, Sassari

(c) University Hospital, Faculty of Medicine, Suez Canal University, Ismailia, Egypt

(d) Infectious Disease Research Laboratory University of Karachi, Pakistan

In collaborazione con ricercatori egiziani e pakistani, è stato condotto uno studio sulla diffusione delle infezioni enteriche in tali Paesi al fine di identificare il modello epidemiologico di infezione prevalente di *Salmonella* ed *Aeromonas*, base conoscitiva per adottare specifici interventi di profilassi e bonifica ambientale.

Sono stati analizzati, per la ricerca di Salmonelle ed *Aeromonas*, rispettivamente, campioni di carni e di mitili provenienti da diverse località egiziane, mentre, presso l'ospedale di Karachi, sono stati isolati, da pazienti coinvolti in un *cluster* epidemico verificatosi nel periodo giugno-settembre 2001, stipiti di *S.typhi*. Successivamente, presso l'Università di Sassari, i suddetti microrganismi sono stati sottoposti a tipizzazione biochimica, sierologica, molecolare, alla valutazione del profilo di antibiotico-resistenza ed alla determinazione dei fattori di virulenza.

La tipizzazione sierologica sui ceppi di *Salmonella* isolati in Egitto ha evidenziato 41,2% di *S. Enteritidis*, 17,5% di *S. Cerro*, 11,8% di *S. Typhimurium* e *S. Montevideo*, 5,9% di *S. Virchow*, *S. Infantis* e *S. Muenster*. La caratterizzazione molecolare IS200, ha mostrato per la *S. Enteritidis* una sola banda di circa 4500 bp mentre, per *S. Typhimurium*, un numero di copie di IS200 compreso tra 4 e 10; nell'86% delle *S. Enteritidis* è stato riscontrato il gene *spv* del plasmide di virulenza. Relativamente alla ricerca di *Aeromonas* spp. i risultati ottenuti hanno evidenziato valori medi di carica microbica compresi tra 1×10^5 e 1×10^6 CFU/g. I sierotipi di più frequente isolamento sono stati: *A.hydrophila*, *A.sobria*, *A.caviae*, *A.veronii*, *A.trota*. Tutti gli isolati di *A.hydrophila* hanno prodotto emolisina e proteasi mentre, solo il 73%, ha prodotto lipasi. I marker biochimici di virulenza, autoagglutinazione e resistenza al siero sono stati espressi dall'80% degli stipiti isolati. Nel complesso, gli stipiti di *A. hydrophila* e *A. sobria* sono risultati più virulenti rispetto a quelli di *A. caviae*. Nell'ambito del cluster epidemico da *Salmonella* verificatosi in Pakistan, sono state isolate nel 94,1% *S. Typhi*, nel 5,9% *S. Paratyphi A*; le *S. Typhi* hanno evidenziato due pattern simili che differiscono per una banda di 5 Kb, mentre, le *S. Paratyphi*, un identico profilo di restrizione con 4 bande tra i 5 ed i 15 Kb.

Pertanto, i risultati ottenuti evidenziano: a) la maggior frequenza di isolamento di *S. Enteritidis* in prodotti di origine animale egiziani; b) in relazione all'elevata virulenza riscontrata negli *Aeromonas* isolati da mitili, un consistente rischio di infezione; c) l'importanza dell'applicazione delle metodiche molecolari sia per implementare le conoscenze epidemiologiche sugli stipiti circolanti in un territorio, sia per risalire alle linee clonali responsabili di episodi epidemici.

P7. DETERMINANTI GENETICI DI ANTIBIOTICO-RESISTENZA IN CEPPI DI SALMONELLA ENTERICA DI ORIGINE ANIMALE

Pezzella C. (a), Villa L. (a), Ricci A. (b), Di Giannatale E. (c), Luzzi I. (a), Carattoli A. (a)
(a) *Laboratorio di Bacteriologia e Micologia Medica, Istituto Superiore di Sanità, Roma*
(b) *Istituto Zooprofilattico delle Venezie, Legnaro*
(c) *Istituto Zooprofilattico dell'Abruzzo e del Molise, Teramo*

Nel settore zootecnico gli antibiotici sono largamente usati per la terapia e profilassi delle infezioni e come fattori di crescita. L'antibiotico-resistenza in patogeni isolati da animali è in continua crescita, specialmente in *Salmonella* spp.

In questo lavoro sono state analizzate le basi molecolari delle resistenze più frequenti osservate in 63 ceppi multiresistenti di *Salmonella enterica* isolati da animali d'allevamento e da alimenti d'origine animale, allo scopo di individuare determinanti genetici di resistenza ricorrenti e di studiarne l'eventuale localizzazione su elementi mobili. I ceppi analizzati appartengono a 19 sierotipi diversi e sono stati isolati dagli IZS delle Venezie e dell'Abruzzo e Molise. Tutti i ceppi selezionati mostrano resistenza ad almeno tre classi di antibiotici tra i quali la tetraciclina (98.4%) e la streptomina (95.2%). Su tutti i ceppi della collezione sono stati ricercati i geni di resistenza a tetraciclina e streptomina e ne è stata determinata la localizzazione su elementi trasponibili; inoltre, sono stati caratterizzati i plasmidi portatori delle resistenze.

I geni *tetA* (56%) e *strA-strB* (82%) sono stati individuati nella maggioranza dei ceppi resistenti alla tetraciclina e alla streptomina. Il 35% dei ceppi della collezione presenta integroni che codificano per resistenze multiple. I geni *tetA*, *strA-strB* e gli integroni mostrano localizzazione plasmidica nella maggior parte dei ceppi analizzati. Dall'analisi dei profili plasmidici si è osservata la presenza di due tipi di plasmidi ricorrenti, appartenenti ai gruppi IncI ed IncN, prevalenti in specifici sierotipi. In particolare, è stato caratterizzato un plasmide IncN che conferisce la resistenza a tetraciclina e streptomina ampiamente diffuso in ceppi di *S. Blockley* di origine aviaria. Un elemento trasponibile ritrovato prevalentemente nel sierotipo Hadar era stato precedente descritto solo in batteri patogeni delle piante.

I risultati di questo studio dimostrano l'importanza del trasferimento orizzontale tra batteri di origine diversa nell'acquisizione della resistenza agli antibiotici.

P8. EPISODIO DI TOSSINFEZIONE ALIMENTARE SOSTENUTO DA SALMONELLA ENTERITIDIS VERIFICATOSI NELLA CITTÀ DI BARI

Rizzo C. (a), Moncada G. (b), Rizzi D. (c), Morelli N. (b), De Vito D. (d), Rizzo G. (c)

(a) *Dipartimento Farmaco-Biologico, Università di Bari*

(b) *Servizio di Igiene degli Alimenti e della Nutrizione, AUSL Ba/4, Bari*

(c) *DIMIMP, Sezione Igiene, Università di Bari*

(d) *Dipartimento di Odontostomatologia e Chirurgia Università di Bari*

Si descrive un episodio di tossinfezione alimentare verificatosi nel novembre 2002. L'episodio ha coinvolto in totale 10 casi, 6 ospedalizzati a Bari, due a Roma due curati a domicilio. Tutte le coproculture pervenute al Laboratorio dell'UO di Igiene, Epidemiologia e Sanità Pubblica II, dell'AO Policlinico Bari, sono risultate positive per *Salmonella enterica* sierotipo Enteritidis. L'indagine epidemiologica, condotta dal Servizio di Igiene degli Alimenti (SIAN) della AUSL Ba/4, ha permesso di individuare la fonte dell'infezione presso un esercizio situato nella città di Bari, che aveva preparato, artigianalmente, arancini di riso fritti. Tutte le coproculture pervenute in laboratorio sono state eseguite mediante semina diretta e dopo arricchimento in brodo selenito su Agar SS ed Agar di WB.

Sui ceppi isolati sono state eseguite oltre alla sierotipizzazione anche la fagotipizzazione (attraverso agglutinazione con fagotipi specifici) e la genotipizzazione utilizzando la Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) che ha permesso di valutare se le salmonelle isolate nei soggetti coinvolti avessero lo stesso profilo genomico.

L'età media dei soggetti colpiti è stata di 37,8 anni (range 9-57). Il 40% era di sesso maschile ed il 60% di sesso femminile. I pazienti sono stati tutti ricoverati tra l'1 ed il 3 novembre 2002 con una sintomatologia gastroenterica acuta caratterizzata da febbre, oltre i 38°C, nausea, vomito, diarrea profusa.

Solo l'associazione temporale (tutti i casi si sono ammalati a distanza di poche ore o giorni), e di luogo (i soggetti avevano tutti consumato alimenti preparati nello stesso esercizio alimentare) ha permesso di identificare il focolaio epidemico e evidenziare la probabile esposizione comune.

L'alimento incriminato è risultato essere un arancino di riso (alimento preparato con riso bollito, piselli, uova crude e successivamente fritto in olio bollente) individuato sulla base della indagine epidemiologica.

La identificazione fenotipica, attraverso l'identificazione del fagotipo, e quella genotipica, attraverso la PFGE, ha permesso di confermare la natura epidemica dell'episodio. Sette degli otto ceppi disponibili sono stati saggiati dal punto di vista molecolare: tutti appartenevano al fagotipo 4 e presentavano un genotipo perfettamente sovrapponibile.

P9. RICERCA DI PORTATORI SANI DI *E. COLI* O157 TRA SOGGETTI PROFESSIONALMENTE ESPOSTI AL CONTATTO CON BOVINI

Silvestro L. (a), Caputo M. (a), Blancato S. (a), Decastelli L. (b), Morabito S. (c), Tozzoli R. (c), Fioravanti A. (c), Caprioli A. (c)

(a) *SIAN ASL 17 Regione Piemonte, Fossano (CN)*

(b) *IZS Piemonte Liguria e Valle D'Aosta, Torino*

(c) *Laboratorio di Medicina Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Il serbatoio naturale di *E. coli* O157 è rappresentato dai ruminanti, in particolare i bovini. Nell'ospite bovino l'infezione è asintomatica e l'eliminazione fecale del germe ne alimenta la circolazione all'interno delle aziende zootecniche. L'esposizione all'ambiente rurale rappresenta quindi un fattore di rischio per l'infezione umana da *E. coli* O157, acquisita attraverso cibo contaminato, ma anche per forme di contatto diretto o indiretto con deiezioni di ruminanti. Nella provincia di Cuneo, area dall'economia a forte impronta agro zootecnica, sono stati notificati sette casi di sindrome emolitico-uremica (SEU) tra il 1988 e il 2000 ma non esistono informazioni sulla circolazione di *E. coli* O157 nella popolazione. Grazie ad un finanziamento della Regione Piemonte, è stato quindi condotto uno studio sulla prevalenza di portatori sani di *E. coli* O157 nel territorio dell'ASL 17. L'indagine è stata effettuata su soggetti professionalmente esposti al contatto con i bovini: allevatori e macellatori.

Sono stati analizzati campioni fecali provenienti da 350 allevatori e 50 macellatori. La ricerca di *E. coli* O157 è stata effettuata con un metodo immunoenzimatico (VIDAS *E. coli* O157 ECO Kit) seguito da immuno-concentrazione (VIDAS *E. coli* O157 ICE kit). I ceppi isolati sono stati sottoposti a saggio di citotossicità su cellule Vero e analisi PCR per i geni *eae*, VT1 e VT2.

Quattro allevatori (1,1%) operanti in aziende diverse sono risultati portatori di *E. coli* O157 produttore di verocitotossina (VTEC). La ricerca è stata estesa ai loro familiari e su dodici persone una è risultata positiva. Nell'ambito delle famiglie dei soggetti positivi nessuno presentava sintomi enterici o una anamnesi di diarrea emorragica o SEU.

I dati emersi dallo studio confermano come l'esposizione a un ambiente rurale, in particolare all'interno di un allevamento bovino, rappresenti un fattore di rischio per l'infezione da *E. coli* O157. La presenza di ceppi di *E. coli* O157 in possesso dei principali geni di virulenza in soggetti asintomatici sembra confermare l'ipotesi che le persone che vivono a contatto con i bovini (allevatori e loro familiari) possano sviluppare immunità alle infezioni da *E. coli* O157, probabilmente attraverso l'esposizione a ceppi VTEC appartenenti ad altri sierogruppi, più frequenti e meno virulenti rispetto a *E. coli* O157.

P10. CONFRONTO TRA RESISTOTIPI E PULSOTIPI (PFGE) DI ISOLATI DI S. BLOCKLEY MULTIRESENTI ISOLATI DA UN FOCOLAIO UMANO

Staffolani M. (a), Fisichella S. (a), Scuota S. (b), Zicavo A. (b), Zavagnin P. (c), Ceglie L. (c), Vio D. (c)

(a) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche, Macerata*

(b) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche, Perugia*

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

Tra i sierotipi del genere *Salmonella*, il sierotipo Blockley ha assunto recentemente un ruolo importante in Europa e negli Stati Uniti. Infatti dal 1998 si è registrato un lieve ma costante aumento e il sierotipo si è dimostrato tra i più resistenti agli antibiotici.

Nella regione Marche, intorno alla metà del mese di settembre 2002, si è verificata in due asili nido di Pesaro un'epidemia sostenuta da *S. Blockley* che ha coinvolto 12 bambini di 2 anni e 4 educatrici tra i 39 e i 54 anni.

Tale epidemia si è distinta per la notevole percentuale di casi di portatori sani poiché su 16 soggetti positivi solo 3 bambini hanno riportato i sintomi dell'infezione acuta. Inoltre il profilo di antibiotico-resistenza di tutti i ceppi è risultato identico (acido nalidixico, kanamicina, streptomina, tetraciclina e neomicina).

Nel lavoro i 16 ceppi relativi all'evento epidemico, sono stati confrontati con altri ceppi di *S. Blockley* isolati nelle regioni Marche ed Umbria tra il 1997 e il 2002.

Tutti i ceppi sono stati analizzati relativamente alla sensibilità ai seguenti antibiotici: acido nalidixico, ampicillina, cefotaxime, ciprofloxacina, cloramfenicolo, gentamicina, kanamicina, streptomina, tetraciclina, trimetoprim/sulfametossazolo, amoxicillina-acido clavulanico, colistina, neomicina, cefalotina, trisulfamidico ed enrofloxacin.

Gli stipti sono stati inoltre confrontati relativamente ai loro profili di DNA genomico ottenuti in elettroforesi in campo pulsato (PFGE) dopo digestione con XbaI.

I due profili, elettroforetici e di antibiotico-resistenza, sono stati quindi confrontati tra di loro, per mettere in evidenza eventuali associazioni: in ultima analisi è emersa una notevole omogeneità genomica in contrasto con una discreta variabilità nel profilo di antibiotico-resistenza.

P11. SORVEGLIANZA DELLE INFEZIONI DA *E. COLI* O157 E ALTRI *E. COLI* PRODUTTORI DI VEROCITOTOSSINA (VTEC) IN ITALIA

Tozzi A.E. (a), Caprioli A. (b), Morabito S. (b), Minelli F. (b), Marziano M.L. (b), Fioravanti A. (b), Tozzoli R. (b), Galetta P. (a), Rizzoni G. (c), Gianviti A. (c), De Petris L. (c)

(a) Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Laboratorio di Medicina Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(c) Divisione di Nefrologia e Dialisi, Ospedale Bambino Gesù, Roma

La sorveglianza delle infezioni da VTEC è parte del sistema Enter-net Italia ed è coordinata dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS). Poiché nel nostro Paese non esiste notifica obbligatoria dei casi di infezione da VTEC O157 e/o dei casi di sindrome emolitico uremica (SEU), la manifestazione clinica più caratteristica e grave dell'infezione da VTEC, la sorveglianza è principalmente basata su iniziative volontarie quali il sistema di sorveglianza nazionale della SEU in età pediatrica, attivo dal 1988, a cui aderiscono la maggior parte dei centri di nefrologia pediatrica italiani che notificano i casi osservati e inviano campioni di feci e siero all'ISS per la diagnosi di laboratorio. L'ISS riceve inoltre stipiti isolati dai laboratori del SSN e identificati come sospetti VTEC per la conferma dell'identificazione e la registrazione dell'isolamento. La diagnosi di laboratorio di infezione da VTEC è basata su: i) isolamento del ceppo VTEC infettante; ii) identificazione della VT libera nelle feci del paziente; iii) identificazione di anticorpi contro il lipopolisaccaride dei sierogruppi VTEC O157, O26, O103, O111, e O145.

Tra il 1988 e il 2002 sono stati identificati 298 casi, la maggior parte dei quali notificata dal sistema di sorveglianza della SEU. Il sierogruppo identificato più frequentemente è stato O157 (37% dei casi), con prevalenza dei fagotipi PT2, PT8 e PT14. Frequenti i casi associati a VTEC O26 (18%), O111 (8%), O145 (7%) e O103 (4%). I risultati della sorveglianza indicano che: i) l'incidenza delle infezioni da VTEC in Italia è relativamente bassa, se confrontata con quella riportata per altri Paesi europei; ii) una considerevole proporzione di casi è dovuta a "VTEC non-O157"; iii) esiste una netta sproporzione tra il numero dei casi di SEU (78% del totale), registrati con una sorveglianza di tipo "attivo", e il numero di infezioni non complicate (18%), identificate con un sistema sostanzialmente "passivo". Poiché si stima che la SEU si sviluppi solo nel 5-10% dei bambini e in una percentuale molto minore degli adulti con infezione da VTEC, appare evidente che la maggior parte dei casi di infezione non complicata (diarrea emorragica e non) che si verificano nel nostro Paese sfugge alla diagnosi di laboratorio.

P12. INDAGINI SULLA PRESENZA DI *CAMPYLOBACTER* SPP. NELLE FECI DI CANE E GATTO: DATI PRELIMINARI

Zanoni R.G., Giacomucci D., Rossi M., Sanguinetti V.
Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università degli Studi di Bologna

Scopo della presente indagine è stato quello di definire i dati di prevalenza delle diverse specie di *Campylobacter* in cani e gatti di proprietà e l'eventuale correlazione tra l'isolamento di questi microrganismi e la presenza di manifestazioni cliniche gastrointestinali. Nel corso del 2002, nella regione Emilia Romagna sono stati raccolti 190 campioni di feci da cani e 84 da gatti, con e senza sintomi gastrointestinali. Per l'isolamento dei *Campylobacter* sono stati impiegati tre diversi terreni selettivi: CCDA, terreno di Skirrow e terreno di Blaser-Wang. L'identificazione di specie degli isolati è stata condotta mediante un approccio polifasico che ha previsto uno studio fenotipico, basato su 18 diverse prove eseguite secondo la metodica indicata da On e coll. nel 1996, ed uno studio genotipico mediante una serie di PCR in grado di amplificare tratti specifici del 16S-rRNA delle diverse specie. Sono risultati positivi per *Campylobacter* spp. 80 campioni (29,2%) di cui 24 *C. jejuni*, 39 *C. upsaliensis*, 16 *C. helveticus* e 1 *C. lari*. In nessun campione esaminato è stata isolata più di una specie di *Campylobacter*. Nello specifico sono risultati positivi 53 cani (27,9%) e 27 gatti (32,1%). Dai cani sono stati isolati 17 *C. jejuni*, 33 *C.upsaliensis*, 2 *C.helveticus* e 1 *C.lari*, dai gatti 7 *C. jejuni*, 6 *C.upsaliensis* e 14 *C.helveticus*. All'analisi statistica mediante il test del chi-quadro, anche scomponendo il campione per fasce di età e per specie batterica, non è stata rilevata nessuna correlazione tra isolamento di *Campylobacter* spp. e presenza di sintomatologia in nessuna delle due specie animali esaminate. Di particolare interesse appare l'isolamento di 16 ceppi di *C. helveticus*, specie non ancora segnalata nel cane e nel gatto in Italia. Di rilievo risulta essere, inoltre, l'isolamento di 39 ceppi di *C.upsaliensis*, responsabile nell'uomo di forme di diarrea acuta autolimitante e, più raramente, di forme d'infezione extra intestinali. Il ruolo zoonosico di questa specie non è del tutto chiarito e merita ulteriori approfondimenti. I ceppi di *C. upsaliensis* isolati in questa indagine verranno confrontati in futuro con isolati di origine umana.

Sessione 2

Le gastroenteriti virali

Moderatori

Canio Buonavoglia, Franco Maria Ruggeri

P13. NOROVIRUS GI E GII IN CORSO DI EPIDEMIA DI GASTROENTERITE ACUTA ASSOCIATA AL CONSUMO DI MOLLUSCHI BIVALVI IN PUGLIA

Chironna M., Prato R., Lopalco P., Germinario C., Sallustio A., Barbuti S., Quarto M.
Dipartimento di Medicina Interna e Medicina Pubblica, Sezione di Igiene, Università di Bari, Policlinico, Bari

I Norovirus (NV) sono i più comuni agenti virali responsabili di epidemie di gastroenterite e di casi sporadici di vomito e diarrea. Molto spesso il ruolo di questi virus in corso di epidemie viene solo sospettato in assenza di un riscontro laboratoristico. Le tecniche molecolari consentono attualmente di identificare i Norovirus sia in campioni biologici sia in matrici alimentari. In occasione delle festività pasquali del 2002, tra il 31 Marzo e il 7 Aprile, si è verificata a Corato, in provincia di Bari, una vasta epidemia di gastroenterite acuta che ha coinvolto 103 persone appartenenti a 30 gruppi familiari. Tutti i casi hanno presentato una sintomatologia acuta caratterizzata da diarrea, nausea, vomito, febbre e cefalea. Il 15.5% (16/103) dei casi erano secondari. L'inchiesta epidemiologica, svolta attraverso la somministrazione di un questionario, ha evidenziato una significativa associazione con il consumo crudo di mitili (RR: 1.63; IC 95%: 1.23-2.15; $p < 0.001$) nelle 72 ore precedenti l'insorgenza dei sintomi. La tempestività delle indagini ha permesso di collezionare 24 campioni di feci, risultati negativi alle comuni indagini microbiologiche, e 11 campioni di mitili probabilmente associati con l'episodio epidemico e prelevati dai banchi di vendita della zona. Le indagini molecolari sono state condotte mediante nested RT-PCR, utilizzando *primer* nella regione codificante per la RNA polimerasi di NV (JV12, SM31, GI e GII), e sequenziamento dei ceppi isolati. I campioni di mitili sono stati omogeneizzati, il virus eluito mediante tampone glicina 0.05 M (pH 9.2) e concentrato mediante doppia precipitazione con polietilenglicole. Tutti i 24 campioni di feci sono risultati positivi per NV. In particolare, 21 casi risultavano positivi per NV di genogruppo II e 2 per NV di genogruppo I, come evidenziato dall'uso di *primer* genogruppo-specifici. Inoltre, 3 campioni di mitili sono risultati anch'essi positivi per NV genogruppo II confermando l'associazione emersa nel corso dell'indagine epidemiologica. L'analisi delle sequenze dei ceppi isolati nel corso dell'epidemia ha permesso di verificare che 18 ceppi di NV di genogruppo II erano identici tra loro nella regione amplificata e identici ai ceppi dei 3 campioni di mitili. Un isolato presentava una identità del 99% con i precedenti ceppi. Altri due casi del genogruppo II presentavano un'identità del 99% tra loro ma formavano un cluster distinto dal precedente nell'ambito del genogruppo II. Inoltre, i 2 ceppi del genogruppo I risultavano identici tra loro. Un ceppo virale presentava una identità del 65% con gli isolati del genogruppo I e del 69% con quelli di genogruppo II. Ulteriori studi sono in corso per meglio caratterizzare tale isolato. L'analisi filogenetica ha permesso di verificare la presenza di un'ampia eterogeneità di ceppi di NV nel corso del focolaio epidemico probabilmente legata ad una contaminazione fecale dei mitili da parte di differenti ceppi virali. L'impiego delle tecniche molecolari si è rivelato uno strumento importante ai fini dell'indagine epidemiologica. Inoltre, il riscontro di NV in matrici alimentari quali i molluschi bivalvi, conferma ancora una volta il ruolo svolto da questi alimenti quale importante veicolo di infezione.

IDENTIFICAZIONE DI CORONAVIRUS DEL TACCHINO E DI ALTRI AGENTI VIRALI IN CORSO DI ENTERITI DEL TACCHINO MEDIANTE TECNICHE MICROSCOPIA ELETTRONICA IN COLORAZIONE NEGATIVA

Lavazza A. (a), Cerioli M. (a), Moreno Martin A (a), Vinco L. (b), Tosi G. (a)

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

(b) *Veterinario Dipendente Azienda Integrata*

La microscopia elettronica in colorazione negativa (CN-ME) è largamente usata nel nostro istituto per individuare infezioni virali in tutte le specie animali, in quanto permette di emettere diagnosi anche quando: a) l'infezione è causata da virus non coltivabili; b) non sono disponibili altri metodi diagnostici, come avviene spesso per molte specie "minori" o selvatiche; c) sono presenti due o più virus in associazione (infezioni multiple); d) i virioni sono già complessati (fase cronica con reazione anticorpale spontanea).

Presso l'IZSLER ogni anno vengono esaminati con metodi CN-ME circa 3000 campioni sia di specie domestiche che commerciali e selvatiche; circa il 25-30% proviene da specie aviarie. I metodi utilizzati prevedono l'ultracentrifugazione con Airfuge Beckman, eventualmente preceduta da incubazione con sieri specifici o convalescenti (immuno-elettromicroscopia-IEM). Tali metodi hanno un'elevata sensibilità (limite di rilevazione: 10^4 particelle/ml), paragonabile al test ELISA, e risultano pertanto particolarmente utile per evidenziare virus coinvolti in malattie enteriche (feci e contenuto intestinale) e agenti virali nuovi o sconosciuti.

In questo lavoro vengono riportati i dati di prevalenza, nel periodo 1994-2003, dei diversi virus, identificati mediante CN-ME, nelle feci e contenuti intestinali di tacchini di età compresa fra 1 e 5 settimane con problemi enterici. Abbiamo osservato la presenza di particelle virali in 51,2% dei campioni esaminati; rotavirus era presente nel 26,3% dei casi, astrovirus nel 23,1%, enterovirus-like nel 10,0%. Sporadicamente erano osservabili parvovirus-like, adenovirus e particelle virali di forma bastoncellare (RSVLP). Era inoltre molto frequente l'associazione fra due o più virus e tra queste quella fra rotavirus ed astrovirus era in assoluto la prevalente, a supporto del loro ruolo patogeno, dell'importanza come agenti primari causa di enterite e dell'effetto combinato in senso di gravità di lesione derivante da infezioni associate. Un secondo scopo del lavoro è quello di riportare tre casi di coronavirus del tacchino, il primo dei quali risalente al gennaio 2000, forse i primi di cui si è avuta identificazione eziologia certa in Italia. Per molti anni il coronavirus del tacchino è stato isolato solo in Nord America, e solo recentemente vi è stata la prima segnalazione in Europa (Gran Bretagna). L'esame condotto con CN-ME su campioni di intestino raccolti da tacchinotti con enterite ha inizialmente rivelato la presenza di particelle virali con una morfologia riferibile a coronavirus. Tale identificazione è stata poi confermata dalla prova di IEM, eseguita con un siero policlonale di referenza che ha rivelato la presenza di numerosi aggregati di particelle virali.

In conclusione sono riassunti sia i vantaggi e gli svantaggi della CN-ME e discusse le cause dei risultati falsi negativi, per la diagnosi di malattie virali enteriche nel tacchino.

CIRCOLAZIONE DI NOROVIRUS IN UN'AREA GEOGRAFICA DEL NORD ITALIA

Medici M.C., Martinelli M., Abelli L.A., Arcangeletti M.C., De Conto F., Pinardi F., Calderaro A., Chezzi C., Dettori G.

Sezione di Microbiologia, Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio, Università degli Studi di Parma

I norovirus sono stati riconosciuti come una delle principali cause di episodi epidemici e sporadici di gastroenterite acuta non-batterica sia nei bambini che negli adulti. In Italia le conoscenze sulla circolazione e sul ruolo di questi virus nella gastroenterite acuta sporadica sono del tutto assenti.

In questo studio sono state valutate la prevalenza e le caratteristiche epidemiologiche dell'infezione da norovirus in soggetti ricoverati od osservati ambulatorialmente presso l'Ospedale Maggiore di Parma nel corso dell'anno 2002 e sottoposti ad indagini virologiche su campioni di feci mediante sia microscopia elettronica sia esame colturale convenzionale. La ricerca specifica di norovirus nelle feci è stata condotta mediante una RT-nested PCR messa a punto dagli autori.

Su 623 pazienti esaminati (614 con età mediana 2 anni e 9 mesi, compresa tra 3 giorni e 92 anni, e 9 di età non nota) la prevalenza di infezione sostenuta solo da norovirus è stata dell'8% (50 pazienti: 47 ricoverati e 3 ambulatoriali). Inoltre norovirus è risultato associato in 9 casi a rotavirus, in 7 ad adenovirus ed in 4 a picornavirus, per una prevalenza complessiva di infezione dell'11,2% (91,4% ricoverati e 8,6% ambulatoriali). Il 75,7% dei pazienti con infezione da norovirus aveva un'età compresa tra 0 e 4 anni, il 20% tra 5 e 12 anni, il 2,9% tra 13 e 19 anni e il 1,4% maggiore di 65 anni. L'infezione da norovirus, riscontrata in ogni mese dell'anno eccetto Giugno, ha rivelato una maggiore incidenza nel periodo autunno-inverno (84,3%) con due picchi in Settembre e in Novembre. Il 100% dei pazienti con infezione da norovirus, di cui erano disponibili i dati clinici (63 pazienti) erano affetti da gastroenterite. In 46 dei 50 casi con infezione solo da norovirus erano presenti vomito nell'84,8%, diarrea nell'80,4%, febbre nel 56,5%, dolori addominali nel 13% e muco o sangue nelle feci nel 10,9%. Il sequenziamento dei prodotti di amplificazione ha rivelato trattarsi di norovirus di genogruppo II in 69 casi e di genogruppo I in 1 caso.

Gli autori concludono che l'infezione da norovirus in Italia sembra essere relativamente frequente e associata a gastroenterite tale da richiedere il ricovero in età pediatrica con un'incidenza maggiore nella prima infanzia. I risultati ottenuti dimostrano che il significato clinico di questo tipo di infezione nei pazienti pediatrici è stato per molti anni sottovalutato; inoltre la caratterizzazione molecolare dei ceppi di *Norovirus* si rende indispensabile per approfondire l'epidemiologia di questo genere di virus.

LA DIAGNOSTICA MOLECOLARE NELLO STUDIO DELLE EPIDEMIE DI GASTROENTERITE DA NOROVIRUS

Ruggeri F.M., Bosco S., Crudeli S., Monini M.
Laboratorio di Ultrastrutture, Istituto Superiore di Sanità, Roma

I Norovirus sono riconosciuti tra gli agenti di enterite sporadica infantile ed epidemica più diffusi sia nei Paesi industrializzati che in quelli in via di sviluppo. L'infezione viene efficientemente trasmessa per contatto diretto persona-persona ma anche attraverso veicoli alimentari (molluschi, verdure) o ambientali (acque, *item* contaminati). Nel corso dei focolai epidemici, prevalenti in comunità o ambienti affollati (ospedali, case di riposo, scuole, hotel, ristoranti, ecc.), i tassi di attacco possono essere elevatissimi, di norma oltre il 50-70%. L'inesistenza di metodi colturali per questi virus e la crescente eterogeneità genetica dei ceppi diffusi rende difficoltosa sia la diagnosi dell'infezione che la caratterizzazione degli stipiti di Norovirus identificati. Al contrario, la crescente diffusione transnazionale dei ceppi e il ruolo del commercio globale degli alimenti rendono indispensabile il puntuale riconoscimento dei singoli Norovirus ai fini dell'individuazione e dell'interruzione delle catene di trasmissione del patogeno. In questo studio, riportiamo i risultati relativi alla diagnosi e caratterizzazione molecolare dei ceppi di Norovirus identificati in alcune epidemie di gastroenterite occorse recentemente in Italia, con particolare riferimento all'impiego di tecniche e database concordati in associazione con partner europei. Gli studi di laboratorio effettuati sono stati di ausilio nell'identificazione della via di trasmissione. Lo sviluppo di metodi di laboratorio universalmente diffusi e l'esistenza di banche dati centralizzate può consentire la messa in atto di sistemi di sorveglianza sul territorio con diversi livelli di indagine ai fini della razionalizzazione delle risorse.

RILEVAZIONE DI INFEZIONI DA CALICIVIRUS ENTERICI (NOROVIRUS E SAPOVIRUS) IN AZIENDE BOVINE E SUINE DELLA LOMBARDIA

Santoni R. (a), Magnino S. (a), Moretti M. (a), Ferrari M. (b), Ruggeri F.M. (c)

(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "Bruno Ubertini", Sezione Diagnostica di Pavia

(b) Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "Bruno Ubertini" Centro Substrati Cellulari, Sede di Brescia

(c) Laboratorio di Ultrastrutture, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Norovirus e Sapovirus (secondo l'attuale denominazione dei 2 generi della famiglia *Caliciviridae* precedentemente noti come *Norwalk like-virus* [NLV] e *Sapporo like-virus* [SLV]) sono virus enterici a RNA riconosciuti tra i principali agenti di infezioni gastroenteriche virali nell'uomo. Il loro genoma virale consiste di una singola molecola lineare di RNA organizzata in 2 (*Sapovirus*) o 3 (*Norovirus*) moduli di lettura aperti (ORFs, *open reading frames*). Negli ultimi anni sono stati descritti numerosi isolati di origine animale che, a motivo della loro correlazione genetica con isolati umani, suggeriscono l'esistenza di serbatoi animali di calicivirus potenzialmente patogeni per l'uomo.

Nell'ambito di questo studio è stata utilizzata e ottimizzata la metodica molecolare di amplificazione nota come *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) per rilevare la presenza di calicivirus enterici in campioni di origine animale, in particolare di suini e bovini, specie nelle quali appare più consistente la circolazione di questi virus secondo le segnalazioni pubblicate da alcuni ricercatori. Come target dell'amplificazione genere-specifica (RT-PCR ONE STEP) è stata scelta la regione genomica della RNA-polimerasi nell'ambito dell'ORF1, a motivo del suo alto tasso di conservazione nei diversi genogruppi noti di calicivirus. Per i campioni di origine bovina e ovina sono stati utilizzati *primer* degenerati disegnati per lo screening dell'intero genere *Norovirus*, mentre per quelli di origine suina sono stati scelti *primer* specifici per il gruppo PEC (*Porcine Enteric Calicivirus*) filogeneticamente correlato ai calicivirus enterici umani (HuCV) appartenenti al genere *Sapovirus*. Le indagini condotte su campioni di feci prelevate in aziende della Lombardia e su campioni di contenuto e tessuto intestinali prelevati in corso di autopsia da suini, bovini e ovini hanno permesso di riscontrare la positività di alcuni campioni bovini e suini e di confermarne l'appartenenza rispettivamente al genere *Norovirus* (gruppo *Bovine Enteric Calici-like virus*, attribuibili al genogruppo III, recentemente descritto e geneticamente correlato al genogruppo I dei NLV umani) o *Sapovirus* (gruppo *Porcine Enteric Calicivirus*) tramite sequenziamento nucleotidico e confronto con sequenze depositate in banca dati attraverso BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Ulteriori elementi utili alla classificazione dei ceppi sono stati acquisiti mediante metodiche di ibridazione *Southern Blot* e RLBH (*Reverse Line Blot Hybridization*), messe a punto utilizzando isolati virali di riferimento. La ricerca proseguirà secondo la linea operativa sopra descritta con l'analisi di ulteriori campioni di specie animali di interesse zootecnico, con l'obiettivo di verificare la prevalenza dei virus nelle popolazioni e la correlazione genetica tra isolati animali e umani, premessa per la valutazione della loro infettività interspecifica.

Sessione 3
I patogeni enterici negli alimenti e nell'ambiente
Moderatori
Agostino Macrì, Renzo Brizioli

P14. SALMONELLAE DA UOMO, ALIMENTI, ANIMALI: FREQUENZE DI ISOLATI TIPIZZATI PRESSO L'ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLE REGIONI LAZIO E TOSCANA, 1997- 2002

Battisti A., Franco A., Salinetti A.P., Fontanelli G., Di Giampietro G., Buccella C.,
Onorati C., Bilei S.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Sede Centrale di Roma

Si riportano le proporzioni dei sierotipi di Salmonella più frequenti isolati da campioni umani, con le rispettive proporzioni da alimenti ed animali, tipizzati presso il Centro di Riferimento Regionale per gli Enterobatteri Patogeni dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana dal 1997 al 2002. Il totale degli isolati tipizzati in questo periodo varia a seconda della matrice e degli anni (uomo: media 771, SD 317; alimenti: media 166, SD 71; animali: media 116, SD 11). Non disponendo di dati completi sui tassi di isolamento, si è scelto di rappresentare le frequenze percentuali dei sierotipi dal 1997 al 2002, descrivendone le tendenze nel tempo.

I sierotipi più importanti negli ultimi sei anni, sono, in accordo con i dati nazionali, S. Typhimurium, (STM) e S. Enteritidis (SE).

Nell'uomo, STM risulta sempre più rappresentata negli anni a seguire (da 27% nel 1998 a 45% nel 2002). Dal 1999 la tendenza all'aumento risulta di tipo lineare e statisticamente significativa (Chi square for linear trend 58.652; p-value <0.001). SE raggiunge un picco nel 1998 (47%) per poi mantenere frequenze simili nel 1999. A partire dal 2000, per SE si osserva un netto decremento, probabilmente perché l'implementazione dei sistemi di prevenzione primaria (linea ovoprodotti) ne ha ridotto l'impatto in Sanità Animale e Pubblica (da 41% nel 2000 a 21% nel 2002). Tale tendenza appare di tipo lineare e statisticamente significativa (Chi square for linear trend 129.276; p-value <0.001). Dal 2001, il sierotipo più frequentemente nell'uomo risulta STM. Riguardo agli isolati da alimenti analoga tendenza all'aumento di rappresentatività, a partire dal 1999, si osserva per STM (Chi square for linear trend 59.479; p-value <0.001). Circa SE, la tendenza alla diminuzione di rappresentatività sul totale isolati, a partire dal 1999, è interrotta da un nuovo aumento nel 2001, per poi decrescere ed annullarsi nel 2002. Negli isolati da animali non si riscontra alcuna delle situazioni descritte. Circa gli altri sierotipi più frequenti, da alimenti ed animali prevale S. Derby, seguita da S. Haardt S. Anatum, S. Livingstone, S. Blockley, S. Bredeney, S. Panama, con oscillazioni nel corso degli anni (dati non mostrati). S. Derby risulta il terzo sierotipo in ordine di frequenza in alimenti di O.A., ed è il terzo sierotipo più frequente anche da campioni umani. S. Infantis, quarto sierotipo per frequenze nell'uomo, è scarsamente rappresentato da alimenti ed animali. Questo dato sembra suggerire che circuiti alternativi potrebbero essere fonti prevalenti di infezione per l'uomo.

P15. CONTAMINAZIONE MICROBICA DELLE CARCASSE E DELL'IMPIANTO IN UN MACELLO SUINO

Chizzolini R., Conter M.

Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti, Facoltà di Medicina Veterinaria, Parma

Le malattie di origine alimentare rimangono, a tutt'oggi, tra i problemi sanitari più diffusi al mondo. Diventa, quindi, di importanza vitale mettere in atto un sistema di sorveglianza delle patologie alimentari. Da questo punto di vista il macello costituisce un 'punto chiave' per un monitoraggio su larga scala, considerato che vengono routinariamente raccolti campioni, anche in base alla Decisione della Commissione 2001/471/CE. I risultati possono essere poi utilizzati per identificare e per stimare la prevalenza, le fonti di infezione e i ceppi patogeni coinvolti e quindi applicare appropriate misure di controllo.

In un macello industriale è stato eseguito un campionamento su 108 carcasse suine e sull'ambiente di lavorazione. I campioni sono stati utilizzati per la ricerca di *Salmonella* spp. e di *Listeria monocytogenes* e per eseguire la conta degli Aerobi Totali, dei Coliformi e di *Escherichia coli*. Relativamente alle carcasse, *Salmonella* spp. è stata isolata nel 46,3%, mentre *L. monocytogenes* nel 18,9%. La conta degli aerobi è risultata essere 5,89 log₁₀ CFU/cm², mentre per i coliformi e per *E. coli* il dato è risultato pari a 2,86 e 2,31 log₁₀ CFU/cm² rispettivamente. Per i campioni ambientali raccolti durante la lavorazione il 47% sono risultati positivi per *Salmonella* spp. e il 16,4% per *L. monocytogenes*. Le percentuali di positività sono state ridotte al 12,5% e al 3,8% rispettivamente, dopo le operazioni di sanificazione.

Il suino e la carne suina sono considerati tra le fonti principali di salmonellosi. Nonostante alcune fasi durante la lavorazione del suino riducano la prevalenza di *Salmonella* spp., altre la possono aumentare. L'elevato riscontro di patogeni nei campioni ottenuti dalle carcasse indica che le procedure correnti di allevamento, trasporto e macellazione degli animali non sono in grado di impedire la diffusione dei patogeni nella catena alimentare. La produzione intensiva, in alcuni casi, ha peggiorato le condizioni microbiologiche dei prodotti grezzi, quindi è necessario che il controllo della presenza dei patogeni avvenga a partire dall'allevamento. Per quanto riguarda la presenza dei patogeni nell'ambiente, i dati ottenuti in seguito alle analisi indicano che le operazioni di pulizia e disinfezione non sono state sufficienti ad eliminarli completamente. Anche nel caso dei microrganismi indicatori di igiene spesso le procedure di sanificazione riducono solamente in parte la carica microbica sull'ambiente e sugli utensili, come dimostrato anche dai nostri dati. Per questi motivi l'UE dovrebbe permettere di introdurre delle fasi di decontaminazione durante la macellazione, sempre nel rispetto dei principi delle *Good Manufacturing Practices*.

P16. ESCHERICHIA COLI O157 IN CARNI MACINATE E PRODOTTI LATTIERO-CASEARI IN ITALIA: RISULTATI DI UN' INDAGINE MULTICENTRICA

Conedera G. (a), Dalvit P. (b), Martini M. (c), Galiero G. (d), Gramaglia M. (e), Goffredo E. (f), Loffredo G. (g), Morabito S. (h), Ottaviani D. (i), Paterlini F. (l), Pezzotti G. (b), Pisanu M. (m), Semprini P. (n), Caprioli A. (h)

a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale (IZS) Venezie, Pordenone, b) IZS Venezie, Legnaro (PD), c) Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Padova, d) IZS Mezzogiorno, Salerno, (e) IZS Piemonte, Liguria, Valle d'Aosta, Torino, (f) IZS Puglia e Basilicata, Foggia, (g) IZS Lazio e Toscana, Roma, (h) Laboratorio di Medicina Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma, (i) IZS Umbria e Marche, Ancona, (l) IZS Lombardia-Emilia Romagna, Brescia, m) IZS Sardegna, Sassari, n) IZS Abruzzo e Molise, Teramo

Scopo di questa indagine è stato quello di acquisire dati sulla presenza di *Escherichia coli* O157 in ambito nazionale sulle matrici considerate a maggior rischio ai fini della trasmissione alimentare dell'infezione: carni macinate bovine e prodotti lattiero-caseari (PLC) con stagionatura ≤ 60 giorni. La ricerca, finanziata dal Ministero della Salute, è stata effettuata da nove Istituti Zooprofilattici nei territori di loro competenza per un periodo di 17 mesi, da maggio 2000 a settembre 2001. Per ogni matrice considerata (carni macinate bovine, PLC bovini da latte pastorizzato, PLC bovini da latte non pastorizzato, PLC ovini da latte pastorizzato, PLC ovini da latte non pastorizzato, mozzarelle di bufala) è stata prevista una numerosità campionaria di 600 campioni, tale da escludere in caso di totale negatività una prevalenza di contaminazione $\geq 0.5\%$ (IC 95%). Per rappresentare tutte le possibili situazioni di rischio, le carni macinate sono state prelevate in fase di commercializzazione e negli stabilimenti di lavorazione, i PLC a livello di commercializzazione, stabilimenti di trasformazione (caseifici) e trasformazione diretta. Particolare attenzione è stata posta nell'includere formaggi tipici regionali, tra cui quelli di malga, prodotti in strutture in cui può essere difficile l'applicazione di corrette pratiche igieniche di lavorazione.

Tutti i campioni sono stati saggiati con una metodica molto sensibile che include l'immunoseparazione magnetica, basata sulla ISO/DIS 16654:1999 (successivamente ISO 16654:2001). Prima dell'avvio del campionamento è stata effettuata una prova interlaboratorio per verificare la capacità dei laboratori partecipanti ad individuare *E. coli* O157 in campioni artificialmente contaminati.

La prevalenza di *E. coli* O157 nelle carni macinate è risultata piuttosto bassa: stipiti di *E. coli* O157 produttori di Verocitotossine (VT), tutti risultati VT2⁺ eae⁺, sono stati isolati da 4 (0.43%) di 931 campioni prelevati in 4 diverse regioni e in mesi differenti. I 2948 PLC esaminati sono risultati negativi.

Quest'indagine multicentrica, oltre a fornire dati su base nazionale sulla presenza di *E. coli* O157 nelle matrici considerate, ha contribuito ad aggiornamento di conoscenze e armonizzazione di metodiche nell'ambito della rete dei Laboratori IZS, deputati al controllo ufficiale degli alimenti di origine animale.

P17. DINAMICA DELLA SOPRAVVIVENZA DI S. ENTERITIDIS E S. TYPHIMURIUM NELLA TECNOLOGIA DI PRODUZIONE DEL SALAME TIPO “PIZZA” ARTIFICIALMENTE CONTAMINATO

Daminelli P., Bertasi B., Pavoni E., Agnelli E., Bonometti E., Bornati L., Monastero P.,
Cosciani E., Boni P.

Istituto Zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia

Il 1° gennaio 1995 è entrato in vigore l'accordo per le misure sanitarie e fitosanitarie (SPS Agreement) che detta le regole per il commercio internazionale degli animali, delle piante e dei prodotti e che stabilisce come un Paese possa applicare restrizioni al commercio di animali e loro prodotti al fine di proteggere la salute dei propri abitanti o delle proprie popolazioni animali; tali restrizioni devono essere supportate da motivazioni rigorosamente scientifiche. Lo strumento attraverso il quale vengono motivate le limitazioni al commercio internazionale è rappresentato dall'analisi del rischio che deve essere basata su dati fattuali, raccolti mediante adeguati sistemi di sorveglianza. Il Libro Bianco sulla Sicurezza Alimentare, pubblicato dall'Unione Europea nel 2000, riprende tali concetti e ne introduce di nuovi in materia di sicurezza alimentare, quali lo sviluppo di un sistema informativo sanitario, la valutazione e la gestione del rischio sanitario, la comunicazione e l'informazione del rischio sanitario al consumatore. Presupposti per l'analisi del rischio sono senza dubbio la conoscenza dei processi produttivi e, di conseguenza, degli standard di prodotto e di processo. Scopo del presente lavoro è stato quello di monitorare la dinamica di sopravvivenza di *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium durante il processo di produzione del salame tipo “Pizza” prodotto in un salumificio industriale del nord Italia e destinato all'esportazione sul mercato anglosassone, contaminando l'impasto con una concentrazione di 1×10^9 ufc/g di tali patogeni e seguendone poi l'evoluzione sino al termine del periodo di stagionatura monitorando in contemporanea l'andamento delle popolazioni microbiche caratterizzanti il prodotto. Le operazioni di contaminazione ed amalgama dell'impasto, di insaccatura e di stagionatura sono state eseguite in laboratorio seguendo le indicazioni del produttore per quanto concerne ingredienti, tempi e temperature di asciugatura e stagionatura. Il campionamento è stato eseguito, oltre che sull'impasto prima e dopo contaminazione, sul prodotto a fine asciugatura e quindi settimanalmente sino alla sesta settimana di stagionatura. Le analisi microbiologiche (comprendenti un pannello di determinazioni microbiologiche e merceologiche) hanno evidenziato, mediante la ricerca e numerazione di *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium, che già dopo tre settimane di stagionatura si è verificato un abbattimento nella concentrazione di tali patogeni superiore a tre logaritmi dimostrando che il rispetto delle procedure di stagionatura (tempi, temperature, umidità) costituiscono, unitamente all'attività di proteolisi ed acidificazione della flora lattica presente, un elemento di fondamentale importanza per mantenere sotto controllo la sopravvivenza e lo sviluppo di agenti patogeni responsabili di episodi di infezione alimentare nell'uomo.

P18. CASEIFICAZIONI SPERIMENTALI: RESISTENZA DI CEPPI ENTEROPATOGENI

Decastelli L. (a), Martorana M. (a), Bottero M.T. (b), Dalmaso A. (b), Desiato R. (a), Civera T. (b)

(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino

(b) Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Torino

Scopo. La ricerca si è proposta di valutare l'effetto di differenti tecnologie di caseificazione sulla persistenza di due ceppi di *E. coli* patogeni, rappresentati da un ceppo EPEC (ISS EF1) e un ceppo di *E. coli* O157:H7 (CA5016). Le tipologie produttive, realizzate a partire da latte crudo, erano riconducibili a: A. formaggio fresco a maturazione lattica; B. formaggio a pasta semidura, a latte intero, semicotto e pressato; C. formaggio a pasta semidura pressato, a latte parzialmente scremato (si tratta di una tecnologia che prevede la scrematura dopo una fase di maturazione del latte, e successiva aggiunta di latte intero).

Materiali e metodi. Su latte crudo certificato "alta qualità" si è proceduto ad innestare un inoculo ad alta concentrazione (10^5 ufc/ml) dei due ceppi summenzionati. Per il ceppo VTEC si sono altresì realizzate tre caseificazioni con inoculo a bassa concentrazione (10^3 ufc/ml). In totale sono state effettuate 9 distinte caseificazioni. Maturazione e stagionatura dei prodotti sono avvenute nel rispetto delle tecnologie tradizionali. I formaggi sono stati analizzati dopo 5 e 20 giorni di maturazione (gruppo A) e dopo 30 e 60 giorni (gruppi B e C). La tecnica utilizzata per determinare la presenza di *E. coli* O157 si è basata sul metodo AFNOR BIO 12/8 - 07/00 e su una multiplex-PCR per evidenziare i geni *EaeA*, *vt₁*, *vt₂*, *hlyA*, *uidA*.

Risultati. Nel formaggio fresco, a 5 e 20 giorni, si osservano contaminazioni sovrapponibili all'inoculo iniziale. Per quanto riguarda i prodotti stagionati, nel caso di formaggi di tipologia B, si osserva la riduzione di 1 unità logaritmica ad ogni mese di stagionatura con il ceppo VTEC, ottenendo quindi a 60 giorni la riduzione di due unità logaritmiche. I formaggi di tipologia C, pur avendo un andamento simile, mostrano, nelle fasi iniziali di caseificazione, un incremento di un'unità logaritmica, risultato che si rifletterà nel conteggio finale costantemente superiore di un'unità rispetto ai prodotti della caseificazione B. Per quanto riguarda i formaggi stagionati, inoculati con il ceppo EPEC, si osserva una riduzione per la tipologia B, mentre nella tipologia C la presenza degli EPEC rimane elevata (10^5 ufc/g) anche dopo 60 giorni di stagionatura.

I risultati evidenziano che, pur ottenendosi con la stagionatura una riduzione del contenuto di *E. coli*, non si ottiene una completa eliminazione dei ceppi inoculati; inoltre nel caso di prodotti ad acidificazione più lenta (tipologia C), il contenuto dei microrganismi patogeni rimane costantemente più elevato rispetto agli altri due gruppi.

P19. CARATTERISTICHE IGIENICO-SANITARIE DI FORMAGGI PRODOTTI SUL TERRITORIO PIEMONTESE

Decastelli L. (a), Martorana M. (a), Desiato R. (a), Grassi M.A. (b), Dalmaso A. (b), Civera T. (b)

(a) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino*

(b) *Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Torino*

Scopo. Il lavoro si è proposto di monitorare le caratteristiche igienico-sanitarie di formaggi provenienti da 115 stabilimenti situati sul territorio piemontese.

Materiali e metodi. Nel periodo compreso fra settembre 2002-maggio 2003 sono stati esaminati 203 campioni di formaggio, rappresentativi di 50 differenti tipologie. Sessanta formaggi erano a latte pastorizzato, 143 a latte crudo. Il latte d'origine era bovino (84%), caprino (6%) o misto.

Il 32% dei campioni era costituito da formaggi con maturazione <30 giorni, 37% tra 30 e 60 giorni, 23% tra 60 e 90 giorni, 8% oltre 90 giorni. Sono state effettuate le determinazioni microbiologiche previste dal DPR 54/1997. Ogni superamento dei limiti previsti ha comportato la ricerca di ceppi di *S.aureus* enterotossigeni nonché di eventuali tossine. Su tutti i formaggi è stata eseguita la ricerca di *E. coli* O157:H7 (metodo ISO 16654/2001) ed è stato effettuato uno screening su brodo di arricchimento con una multiplex PCR per la ricerca di ceppi EPEC, VTEC, ETEC mediante la ricerca dei geni *EaeA*, *vt₁*, *vt₂*, *hlyA*, *ST*, *LT*.

Risultati. Nessun formaggio è risultato positivo per *L.monocytogenes*, *Salmonella* spp. e *E. coli* O157:H7. Il 2% e 7% dei formaggi a latte pastorizzato risultano non conformi rispettivamente per il contenuto di coliformi totali ed *E. coli*. Nessun campione è risultato superiore al valore limite per la ricerca della tossina di *S.aureus*.

Il 6 e il 3% dei formaggi a latte crudo ha superato il valore "M" indicato dal D.P.R. 54/97 per *E. coli* e *S.aureus*; la ricerca di ceppi produttori di enterotossine stafilococciche è risultata positiva in un caso.

Per quanto riguarda lo screening per la ricerca di *E. coli* patogeni, in 13 campioni sono stati evidenziati geni riconducibili a ceppi EPEC, in 6 campioni ETEC, in 51 campioni VTEC, con una prevalenza di 6,4% per EPEC, 2,9% ETEC, 25,1% VTEC. Solo in 10 campioni è stato possibile l'isolamento di colonie riconducibili in 4 casi a ceppi EPEC, in 6 casi a VTEC.

Conclusioni. A fronte di un quadro igienico-sanitario soddisfacente, si segnala tuttavia un'elevata prevalenza di ceppi di *E. coli* potenzialmente patogeni tanto nei prodotti a latte pastorizzato (VTEC 22%, EPEC 5%) quanto in quelli a latte crudo (VTEC 27,9%, EPEC 6,9%). Su 51 campioni positivi per ceppi VTEC, 15 avevano una contaminazione di *E. coli* inferiore a 10³ ufc/g, e pertanto esentati, secondo il D.P.R.54/97, dalla ricerca di ceppi enteropatogeni.

P20. ASSENZA D'ISOLAMENTO DI *ESCHERICHIA COLI* O157 DA MAIALI ALIMENTATI CON SIERO DI LATTE BOVINO

Decastelli L. (a), Ru G. (a), Brizio G. (b), Gentile D. (b), Gallina S. (a), Caprioli A. (c)
(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino
(b) Servizio di prevenzione, ASR 17, Fossano (CN)
(c) Laboratorio di Medicina Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Escherichia coli O157 produttore di verocitotossina (VTEC) è l'agente eziologico di gravi malattie in campo umano, ed è naturalmente albergato nel tratto gastroenterico dei ruminanti. Studi condotti in Paesi extraeuropei hanno dimostrato prevalenze piuttosto elevate (8-10%) di VTEC O157 anche in campioni fecali prelevati da suini al macello. In Europa la prevalenza del VTEC O157 nei suini è risultata più modesta (0,16-1,4%), così come in Giappone e negli Stati Uniti d'America (2%). In Italia, VTEC O157 è stato isolato dalle feci di uno di 150 suini alimentati con siero di latte bovino (Bonardi *et al. Int J Food Microbiol* 2003;85:101). Poiché questa pratica è molto utilizzata in Italia e potrebbe costituire un fattore di rischio per la diffusione di VTEC O157 dai bovini ai suini, è stata programmata un'indagine per verificare tale ipotesi.

Nel periodo maggio-ottobre 2002 sono stati prelevati, presso il macello, 504 campioni di feci suine. Tutti gli animali, provenienti da sei allevamenti diversi (produzione 500-7.000 suini/anno), erano stati alimentati con siero bovino. Per la determinazione di *E. coli* O157 è stato utilizzato il metodo immunoenzimatico (ELFA) VIDAS *E. coli* O 157 ECO, prodotto dalla ditta Biomerieux; in caso di risultato positivo, è stata eseguita un'immuno-contenzione con il kit VIDAS *E. coli* O157 ICE (Biomerieux). Successivamente i campioni sono stati seminati su terreni selettivi (Sorbitol MacConkey Agar e cefixime-tellurite-SMAC). Le colonie sorbitolo negative sono state successivamente saggiate con il test d'agglutinazione al lattice (Oxoid), e, se positive, confermate come *E. coli* con prove biochimiche. La produzione di verocitotossina è stata verificata con il saggio delle cellule Vero e la presenza di geni *vt1*, *vt2* e *eae* con analisi PCR.

Quarantacinque campioni sono risultati positivi all'ELFA e sono stati testati con il VIDAS ICE. Da un solo campione è stato isolato *E. coli* sorbitolo negativo e latex O157 positivo. Questo ceppo è risultato però negativo per produzione di verocitotossina e presenza dei geni *vt1*, *vt2* e *eae*.

I risultati di questo studio non sono in contrasto con le basse prevalenze precedentemente riscontrate in Italia ed in Europa e suggeriscono che la presenza sporadica di VTEC O157 nei suini non sia attribuibile all'alimentazione, bensì alla gestione non sempre ottimale dell'allevamento: contaminazioni ambientali o alimentari, dovute alla contemporanea presenza di bovini in allevamento, sembrano essere la fonte più probabile.

Questo lavoro è stato in parte finanziato dalla Regione Piemonte (Ricerca Sanitaria Finalizzata n. 13313, 9 agosto 2001).

P21. ISOLAMENTI DI AGENTI ZONOSICI DAL GUSCIO DI UOVA DA CONSUMO DEPOSTE DA OVAIOLE CON INFEZIONI ENTERICHE SILENTI

Di Modugno D., Laporta L., Di Modugno G.

Dipartimento di Sanità e Benessere animale, Sezione Patologia Aviare, Valenzano Bari

Tra gli agenti batterici inquinanti i prodotti avicoli (carni ed uova), spesso indicati come causa di rischio sanitario per l'uomo, sono compresi i generi *Salmonella* e *Campylobacter*, in particolare *C. jejuni*. Essi determinano nelle ovaiole infezioni enteriche frequentemente a decorso clinico silente e pertanto sfuggono facilmente alla vigilanza dell'allevatore e dei tecnici sanitari. Le uova deposte possono inquinarsi attraverso varie vie; in particolare i gusci al passaggio attraverso la cloaca al momento della deposizione. Nelle nostre ricerche, le infezioni enteriche silenti da *Salmonella* e da *C. jejuni* sono state riscontrate rispettivamente in n. 4/37 (10,08%) e in n. 9/14 (85%) flock di n. 13 aziende di ovaiole clinicamente sane della Puglia. Gli esami batteriologici per *Salmonella* (in media 4,5 ripetizioni nell'arco di 12 mesi) effettuati sulle feci con n. 164 campionamenti (pool di n. 6 prelievi in ciascun ricovero), sono risultati positivi nel 2,4% (stipiti isolati: *S. Tiphimurium*; *S. Corvallis*; *S. Infantis*; *S. n.t.*) e su n. 486 campioni di uova (3 pool di n. 10 da ciascun gruppo), risultati positivi nello 0,8% (stipiti isolati: *S. Tiphimurium*; *S. Corvallis*; *S. Infantis*; *S. Newport*). Soltanto in n. 2 gruppi sono state isolati contemporaneamente dalle feci e dai gusci delle uova stipiti di *Salmonella* (*S. Corvallis* e *S. Infantis*); il mancato isolamento di *Salmonella* dalle uova deposte da altri 2 gruppi con infezione enterica, era ascrivita al numero relativamente scarso di uova deposte inquinate. In ulteriori 2 flocks i gusci delle uova inquinati (*S. Tiphimurium* e *S. Newport*) lasciavano ipotizzare l'infezione delle stesse attraverso altre vie (es. via ambientale). Le ricerche per *C. jejuni* sono state eseguite su complessivi 389 tamponi cloacali (n. 27 in media da ogni gruppo), positivi in ragione del 41,9%, e su n. 340 uova (n. 26 in media da ciascun gruppo), positive in ragione del 11,76%. L'isolamento di *C. jejuni* dal guscio risultava variabile dal 2,5% al 22,2% in relazione al diverso grado di imbrattamento, ma era negativo se gli animali non presentavano l'infezione enterica. Tentativi di isolamento dal contenuto (albume e tuorlo) hanno sempre dato esito negativo. In conclusione dai risultati ottenuti si evidenzia negli animali la presenza contemporanea dell'infezione enterica silente di *Salmonella* e *C. jejuni*, ma si annota una positività non preoccupante di salmonelle e in particolare la scomparsa di *S. Enteritidis* riscontrata in precedenti ricerche. Gli isolamenti di *C. jejuni* confermano la possibilità di tossinfezioni attraverso la manipolazione dei gusci infetti, ma tale rischio appare temperato dalla scarsa resistenza del microrganismo nell'ambiente di corretta conservazione delle uova.

IL CONTRIBUTO DEL LABORATORIO NELLE INDAGINI SUI FOCOLAI EPIDEMICI DI ORIGINE ALIMENTARE SEGNALATI ALL'ASL CITTÀ DI MILANO (1996-2002)

Fontana G. (a), Oggioni C. (a), Valerio E. (b), Ferraroni M. (a), Pontello M. (a)

(a) *Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi, Milano*

(b) *ASL Città di Milano*

Il riconoscimento dell'agente etiologico e del veicolo responsabile dell'insorgenza di eventi epidemici di origine alimentare rappresenta senza dubbio uno degli obiettivi prioritari per i servizi sanitari cui, a partire dalla segnalazione dell'insorgenza dei casi, compete la conduzione delle indagini. Le ipotesi, che attraverso le inchieste epidemiologiche vengono formulate in merito alle cause, alle sorgenti ed ai veicoli implicati, possono essere confermate attraverso analisi microbiologiche. Lo studio che presentiamo ha lo scopo di descrivere e valutare in che misura il ricorso al laboratorio abbia effettivamente contribuito alla definizione delle modalità di insorgenza e trasmissione degli agenti patogeni responsabili dei focolai epidemici segnalati all'ASL Città di Milano nel periodo 1996-2002. I dati, ottenuti consultando l'archivio cartaceo conservato presso i Servizi di Igiene Pubblica e di Igiene degli Alimenti e della Nutrizione, sono stati raccolti su una scheda ad hoc predisposta e memorizzati su un data base costruito utilizzando i programmi EpiInfo 2002 e STATA. Nell'analisi sono stati considerati, per ogni focolaio epidemico studiato, i seguenti elementi: tipo di laboratorio utilizzato; qualità della richiesta di analisi (tipologia dei campioni sottoposti ad analisi, informazioni fornite al laboratorio); agenti identificati; contributo del laboratorio alla definizione dell'agente responsabile dell'evento e del veicolo alimentare.

In sintesi i risultati, relativi a 164 eventi epidemici, hanno evidenziato che solo nel 69,5% dei casi è stato richiesto l'intervento del laboratorio (il più frequentemente coinvolto è il Laboratorio di Sanità Pubblica, precedentemente denominato PMIP) e che solo nel 17,7% la richiesta di analisi è stata formulata in modo completo e mirato. L'agente etiologico è stato isolato (da soggetti infetti e/o da alimenti) nella metà circa dei casi (81 su 164); sono stati identificati 62 stipiti di *Salmonella* appartenenti a sierotipi non tifoidei; altri agenti individuati con frequenza molto inferiore sono stati *S.aureus*, *B.cereus*, *C.perfringens* e *Shigella* spp.

Complessivamente, durante lo svolgimento delle indagini sui focolai di presunta origine alimentare, il ricorso alle indagini di laboratorio non appare sempre adeguato e dall'analisi dei dati emergono alcune indicazioni operative:

da parte dei servizi, responsabili dell'indagine, la necessità di migliorare la qualità della richiesta di analisi, soprattutto in termini di congruenza e completezza delle informazioni trasmesse al laboratorio;

da parte del laboratorio la necessità di condurre analisi non solo più mirate, ma anche più approfondite (metodi di tipizzazione).

ESPERIENZE DI VIGILANZA SANITARIA PER SALMONELLA IN VENDITE ALIMENTARI AL DETTAGLIO

Giaccone V. (a), Bragagna P. (b), Benedetti G.B. (b), Vercellotti L. (c), Defabiani I. (c), Saracco M. (c)

(a) *Dipartimento Sanità Pubblica, Patologia Comparata e Igiene Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria, Padova*

(b) *Servizio veterinaria ALSS Belluno*

(c) *Servizio veterinario ASL 11 Vercelli*

La presenza nelle differenti preparazioni alimentari RTE (*ready-to-eat*) di materie prime sensibili a inquinamenti microbici (carni fresche, prodotti della pesca, uova e ovoprodotti, latte e prodotti derivati), le modalità di approntamento e di manipolazione da parte dell'uomo fanno sì che prodotti del genere possano essere in qualche caso contaminati da batteri patogeni. L'obbligo di effettuare un controllo igienico interno alle singole strutture di vendita secondo il sistema HACCP, contribuisce a migliorare la qualità microbiologica intrinseca dei prodotti e a elevare i livelli di sicurezza per gli acquirenti, ma è indubbio che le autorità sanitarie competenti devono mantenere sotto stretto controllo le condizioni sanitarie di vendita degli alimenti. Il nostro contributo puntualizza i risultati dei controlli nel settore alimentare al dettaglio per la ricerca di *Salmonella*, in due distinte ASL (Belluno e Vercelli), strutturalmente differenziate. Abbiamo analizzato i risultati di indagini effettuate nel triennio 2000/2002 e nei primi 6 mesi del 2003. Sono stati effettuati 637 controlli, cui hanno corrisposto altrettanti prelievi di campioni per analisi, di cui 68 di pastin (preparazione di carne bovina o mista bovino/suino tipica del Bellunese), 185 di insaccati (freschi e stagionati) e 84 di hamburger/macinato. Su un totale di 400 campioni di alimenti controllati nell'ASL di Belluno, 30 sono risultati positivi per *Salmonella* con incidenza del 7,5% (15 Infantis, 4 Derby, 2 Typhimurium, 2 Bredeney, 2 Livingstone, 1 Stanley, 1 Saintpaul, 1 Hadar, 1 Newport, 1 Blockley). Di questi campioni ben 17 erano costituiti da "pastin", 10 di salsiccia cruda, 1 di carne trita e 1 di wurstel. Per quanto riguarda l'ASL di Vercelli, sono stati effettuati 237 controlli, con 1 sola positività per *Salmonella* in carni suine (*Salmonella* ser. Livingstone) con un'incidenza dello 0,5%. In una parte dei campioni è stato possibile associare alla presenza di *Salmonella* la carica di coliformi totali ed *E. coli*. Dal confronto dei dati si conferma il fatto che alla presenza di salmonella corrispondono sovente (ma non sempre) cariche molto elevate di coliformi totali ed *E. coli*. Questi dati, oltre a un loro intrinseco valore sul piano epidemiologico, evidenziano la necessità di migliorare e soprattutto di razionalizzare sempre meglio le attività di controllo e vigilanza sanitaria sulle rivendite alimentari. Un altro dato sul quale sembra opportuno richiamare l'attenzione dei ricercatori è il ruolo assegnato a coliformi totali ed *E. coli* come possibili "indicatori" di scarsa igiene nella manipolazione degli alimenti.

P22. CONTAMINAZIONE DA SALMONELLA SPP. E LISTERIA MONOCYTOGENES NEGLI ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE IN ITALIA: RISULTATI DELL'ATTIVITÀ DI CONTROLLO DEGLI ISTITUTI ZOOPROFILATTICI SPERIMENTALI NEL 2001–2002

Gruppo di Lavoro per l'Epidemiologia Veterinaria: Cigliano A. (a), Taioli E. (a), Caprioli A. (b), Busani L. (b), Toti L. (b), Tamba M. (c), Chiavacci L. (d), Rolesu S. (e), Battisti A. (f), Saccare S. (f), Ricci A. (g), Marangon S. (g), Di Bella C. (h), Caligiuri V. (i), Casalnuovo F. (i), Migliorati G. (l), Weiss C. (l), Duranti A. (m), Cenci T. (m), Nardella M.C. (n)
(a) Ministero della Salute, Roma, (b) Laboratorio di Medicina Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma, (c) IZS della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Bologna, (d) IZS del Piemonte, Liguria, Valle d'Aosta e IZS della Sardegna Sassari, (f) IZS del Lazio e della Toscana, Roma, (g) IZS delle Venezie, Legnaro, (h) IZS della Sicilia, Palermo (i) IZS del Mezzogiorno, Portici, (l) IZS dell'Abruzzo e del Molise, Teramo (m) IZS dell'Umbria e delle Marche, Perugia e Macerata, (n) IZS della Puglia e Basilicata, Foggia

Nell'ambito del Servizio Sanitario Nazionale le attività di laboratorio relative ai controlli sugli alimenti di origine animale sono svolte dagli Istituti Zooprofilattici Sperimentali e dall'Istituto Superiore di Sanità. Presso il Ministero della Salute è stato costituito di recente un Gruppo di Lavoro per l'Epidemiologia Veterinaria (GLEV) con lo scopo di raccogliere dati epidemiologici inerenti a problematiche di sicurezza alimentare. Una delle prime attività del GLEV è stata quella di raccogliere, armonizzare ed analizzare i risultati delle indagini di laboratorio effettuate presso gli IZS negli anni 2001 e 2002 per valutare la presenza di agenti patogeni quali *Salmonella* spp e *L. monocytogenes* negli alimenti di origine animale. Le analisi sono state effettuate su campioni di matrici alimentari raccolti da ASL e NAS nell'ambito di programmi di sorveglianza sulla sicurezza degli alimenti ed attività ispettive mirate, utilizzando metodi analitici standardizzati.

Per la ricerca di salmonella sono stati esaminati 76.000 campioni, il 2,3% dei quali è risultato positivo. La prevalenza era 4,8% per i prodotti carnei, 2,7% per uova ed ovoprodotti, 0,5% per pesci, crostacei e molluschi e 0,2% per i prodotti lattiero-caseari. Nell'ambito dei prodotti carnei la prevalenza più elevata è stata riscontrata nel pollame (8,8%) e nelle carni suine (4,9%). I sierotipi isolati più di frequente erano *S. Typhimurium* (19%), *S. Derby* (12%), *S. Enteritidis* (8%), *S. Infantis* (5%) e *S. Blockley* (5%). Questi cinque sierotipi corrispondevano ai cinque sierotipi isolati più frequentemente da casi umani nello stesso periodo.

Per la ricerca di *L. monocytogenes* sono stati esaminati 50.000 campioni, il 2,3% dei quali è risultato non regolare. La prevalenza di campioni positivi era 6,0% per pesci, crostacei e molluschi, 4,3% per i prodotti carnei, 0,9% per i prodotti lattiero-caseari. Non è mai stata riscontrata contaminazione in uova ed ovoprodotti.

La prevalenza di salmonella e listeria riscontrata non si discosta dai dati proposti da altri Paesi dell'Unione Europea. I dati ottenuti, nonostante non siano ancora sufficienti per definire i livelli di esposizione ed i rischi di infezione per i cittadini, consentono di rilevare la prevalenza di due importanti agenti patogeni nei prodotti alimentari.

P23. GABBIANI E CORMORANI DELLA LAGUNA DI VENEZIA COME VETTORI DI BATTERI PATOGENI PER CONSUMO DI BIVALVI

Lafisca A., Sigovini G., Giaccone V.

Scuola di Specializzazione "Allevamento, Igiene, Patologia delle specie acquatiche e Controllo dei prodotti derivati", Università di Padova

Si esaminano i dati provenienti da un'analisi effettuata nel 2002 e 2003 sulla flora batterica potenzialmente patogena veicolata da gabbiani reali e cormorani abbattuti nelle valli da pesca della laguna di Venezia, secondo quanto consentito dalla DGR Veneto 2072 del 3/8/2001. Il presente lavoro, primo in assoluto sulla flora batterica del cormorano, e primo sul gabbiano reale nella laguna di Venezia, è stato svolto analizzando fegato, contenuto di cistifellea e intestino tenue e tamponi rettali delle due specie, ricercando, in ognuna di queste sedi, i batteri più frequentemente causa di malattia alimentare connessa al consumo di molluschi. Durante i 2 anni di indagine sono stati analizzati 28 cormorani e 15 gabbiani: i primi, concentrati durante i mesi invernali, i secondi durante quelli primaverili-estivi. Sono stati cercati sia batteri appartenenti alla famiglia Enterobacteriaceae, indicati anche dal DL.vo 530/92 (principalmente *Salmonella enterica*) che batteri della famiglia Vibrionaceae, non contemplati dal DL.vo 530/92, ma altrettanto importanti come causa di malattia alimentare connessa al consumo di bivalvi. Sono state isolate, nei soggetti analizzati, 12 specie batteriche potenzialmente patogene per l'uomo, tra cui anche *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio cholerae*, *V. alginolyticus* e *V. vulnificus*. Le due specie aviarie hanno dimostrato una diversa "biodiversità" batterica. Nei gabbiani sono state trovate, rispetto ai cormorani, più specie batteriche diverse, con prevalenza d'infezione maggiore e maggiormente distribuite nei diversi organi. Nei cormorani (migratori), è stato isolato un ceppo di *Salmonella* (*S. ser. Isangi*) segnalato come agente di malattia alimentare solo nel Nord Europa, da dove questi uccelli provengono.

Gabbiani e cormorani possono essere sia vettori e concentratori di batteri presenti nell'acqua marina o nei rifiuti di cui questi uccelli si nutrono, che portatori di batteri provenienti da zone molto lontane attraverso le migrazioni. Dai risultati ottenuti si può affermare che gli uccelli ittiofagi sono un elemento ambientale importante da analizzare per definire le fonti inquinanti di un'area di allevamento di bivalvi. A differenza delle fonti inquinanti fisse (scarichi fognari, fiumi, vie di transito di navi, ecc.), la loro presenza è a volte solo stagionale, (come nel caso dei cormorani) e la loro localizzazione non è prevedibile. Tra le misure da applicare per gestire l'inquinamento batterico da essi provocato, sono da includere la limitazione dell'accesso dei gabbiani a cassonetti e discariche e il monitoraggio continuo degli stabilimenti di depurazione dei molluschi per poter gestire i tempi di trattamento sulla base delle cariche microbiche riscontrate in ogni partita.

P24. AEROMONAS HYDROPHILA ISOLATA DA ALIMENTI E FORMAZIONE DI BIOFILM

Laganà P., Cannavò G., Delia Santi A.

Dipartimento di Igiene, Medicina Preventiva e Sanità Pubblica "R. De Blasi", Università di Messina

Il biofilm è una comunità microbica sessile caratterizzata da cellule batteriche stabilmente adese ad un substrato ed immerse in una matrice di sostanze polimeriche che le stesse cellule batteriche hanno prodotto. In tale condizione le cellule microbiche esibiscono un fenotipo alterato riguardo sia al tasso di crescita che alla trascrizione genica in confronto alle corrispettive forme libere o planctoniche. Tra le nuove caratteristiche acquisite vi è la maggiore capacità di resistere all'azione degli antimicrobici, sostenuta anche dalla struttura intrinseca del biofilm.

Con lo svilupparsi di nuove metodiche di osservazione diretta come la microscopia a scansione elettronica, quella a scansione laser confocale e l'affinamento di metodiche diverse, si è pervenuti alla possibilità di individuare il biofilm, oltre che nei substrati già noti, anche in siti ove prima non se ne ipotizzava la presenza.

Inizialmente considerato come un problema rilevante solo in campo industriale, negli ultimi anni il suo ruolo è diventato importante anche nel settore alimentare, rientrando quindi tra i problemi di Sanità Pubblica, oltre che per la sua diretta presenza sulla superficie degli alimenti, anche perché esso riesce a formarsi e ad aderire fortemente alle attrezzature, da dove poi ne risulta ardua l'eradicazione. È naturale pensare come queste attrezzature possano, in seguito, divenire potenziali sorgenti di contaminazione.

Uno dei microrganismi emergenti maggiormente studiato nell'ultimo decennio quale causa di infezioni gastroenteriche è *Aeromonas hydrophila*, un patogeno opportunisto Gram negativo che, senza difficoltà, come dimostrato da altri Autori, aderisce anche all'acciaio inossidabile formando un sottile biofilm in 3D che ricopre la superficie disponibile per il 30-40% con larghe microcolonie.

Per la nostra ricerca sono stati studiati 30 ceppi di *A. hydrophila* isolati da alimenti (10 da cozze, 8 da gamberi, 6 da insalate, 4 da mozzarelle, 1 da ostriche, 1 da pollo). La loro capacità di formare biofilm è stata testata con metodiche colturali classiche e in piastra da microtitolo integrate con tecniche di microscopia a fluorescenza e di microscopia confocale.

Tra i ceppi presi in considerazione, quelli che si sono dimostrati in grado di formare biofilm in maniera più significativa rispetto agli altri sono stati gli *Aeromonas* isolati dai gamberi.

P25. DINAMICA DELLA SOPRAVVIVENZA DI SALMONELLA SPP., E. COLI O157:H7 ED ENTEROVIRUS NELLA TECNOLOGIA DI LAVORAZIONE DEL GRANA PADANO

Losio M.N., Pavoni E., Bonometti E., Monastero P., Panteghini C., Daminelli P., Boni P.
Istituto Zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia

I formaggi a pasta dura caratterizzati da un lungo periodo di stagionatura, quali Grana Padano, Parmigiano Reggiano e Pecorino Romano, sono prodotti tipicamente italiani legati all'agricoltura ed alla tradizione del nostro Paese. Per tali prodotti viene messa in discussione, a livello internazionale, la sicurezza igienica, in quanto, in base ai rispettivi disciplinari produttivi, sono prodotti esclusivamente da latte crudo o, nel caso del Pecorino Romano, con latte termizzato.

Ciò è visto con sospetto negli USA ed in altri Paesi ma anche nell'Unione Europea in quanto recenti episodi di intossicazione alimentare pongono dubbi sulla scomparsa di Salmonella, Listeria, *E. coli* O157:H7 nel formaggio, anche dopo prolungata stagionatura.

Recentemente si è inoltre assistito ad una crescente evidenziazione dell'implicazione di agenti virali nel determinismo di intossicazioni alimentari; il ruolo di tali patogeni, altamente sottostimato a causa della carenza di tecniche diagnostiche adeguate, necessita quindi di maggiori approfondimenti al fine di evidenziarne il reale potenziale di rischio. Su queste basi, scopo del presente lavoro è stato dimostrare la dinamica di sopravvivenza di patogeni batterici e virali (*Salmonella* spp, *E. coli* O157:H7 ed Enterovirus) durante il processo tecnologico di produzione del Grana Padano.

A tal fine sono state artificialmente contaminate tre caldaie da 8 quintali di latte destinate alla lavorazione a Grana Padano in modo da ottenere una concentrazione finale nella cagliata di 10^6 /g di *Salmonella* derby, *E. coli* O157:H7 e 10^6 /ml TCID₅₀ di Enterovirus.

I campionamenti sono stati eseguiti sul latte, cagliata, formaggio a 24h, 48h, fuori sale e ad un mese di stagionatura.

Per le analisi batteriologiche sono stati eseguiti i metodi di prove in uso presso l'IZS mentre la ricerca di enterovirus è stata condotta mediante nested-PCR e confermata mediante inocula in coltura cellulare sensibile.

I risultati hanno dimostrato la completa inattivazione di *Salmonella* ed *E. coli* già nei prelievi effettuati sul formaggio a 48 ore; la presenza di enterovirus è stata invece dimostrata anche al 40° giorno di stagionatura.

I risultati ottenuti, mentre dimostrano l'innocuità del prodotto nei confronti delle contaminazioni batteriche tradizionalmente considerate nel settore dei prodotti lattiero – caseari, evidenziano tuttavia l'elevata resistenza dei virus enterici suggerendo pertanto la necessità di adottare nuovi parametri di valutazione della salubrità degli alimenti affiancando ai tradizionali esami batteriologici tecniche in grado di svelare la presenza di agenti virali che, seppure presenti nelle matrici alimentari in basse concentrazioni, sono tuttavia dotati di una elevata infettività e possono pertanto rappresentare un reale problema di sanità pubblica.

P26. ISOLAMENTI DI *SALMONELLA* SPP. DALL'AMBIENTE NELLA REGIONE MOLISE: ANNI 2001 E 2002

Manuppella A. (a), Di Pardo L. (a), Melloni A. (a), Iamele A. (a), De Luca A. (b),
Morrone A. (b), Mancini G. (b), Mollichelli A. (b)

(a) Dipartimento Provinciale di Isernia

(b) Dipartimento Provinciale di Campobasso

Nel Molise è attivo dal 1980 un sistema di sorveglianza delle infezioni da *Salmonella* spp. integrato nella rete Enter-net Italia, gestito dal Dipartimento Provinciale ARPA di Isernia; la sorveglianza include anche l'ambiente (acque di scarico e superficiali); per queste ultime, viene effettuato un monitoraggio mensile su una rete di 52 stazioni ricadenti nei principali bacini idrografici molisani: Biferno, Trigno, Volturno, Sangro, Fortore.

Nel biennio 2001-2002 sono stati isolati dall'ambiente 132 stipiti di *Salmonella* spp. (rispettivamente 73 e 59), di cui 114 isolati da acque di fiume; la frequenza di isolamento in base al bacino idrografico d'appartenenza è di seguito riportata: Volturno 74.5%, Trigno 12.2%, Sangro 8.5%, Biferno 1.7% (anno 2001); Biferno 49%, Volturno 27%, Trigno 20%, Sangro 3.6% (anno 2002). In entrambi gli anni il sierotipo Typhimurium è stato riscontrato con maggiore frequenza (17% in media), come peraltro anche nel campo umano (42% in media), seguito dai sierotipi Infantis (10%), Derby (7%), Brandenburg (5%) nel 2001 e da sott. II O:42 H:z enxz15 (9%), Panama, Infantis ed Heidelberg (7%) nel 2002. *S. Enteritidis*, riscontrata come secondo sierotipo più frequente nei casi umani (21% in media), non è stata invece mai isolata dal comparto ambientale.

La sensibilità agli antibiotici è stata saggiata nei confronti di ac. nalidixico, ampicillina, cefotaxime, ciprofloxacina, cloramfenicolo, gentamicina, kanamicina, streptomina, sulfisoxazolo, tetraciclina e trimetoprim col metodo Kirby Bauer. Il fenomeno della resistenza ha riguardato il 40% degli stipiti nel 2001 ed il 45% nel 2002. In particolare *S. Typhimurium* ha manifestato elevate percentuali di resistenza soprattutto nei confronti di streptomina e tetraciclina (52%), sulfisoxazolo (48%) e ampicillina (43%). Anche la multiresistenza ha riguardato principalmente questo sierotipo, con resistenze multiple fino a 6 antibiotici; l'associazione prevalente è stata: ampicillina-streptomina-sulfisoxazolo-tetraciclina (31%), seguita da ampicillina-gentamicina-kanamicina-streptomina-sulfisoxazolo-tetraciclina e da ampicillina-cloramfenicolo-streptomina-sulfisoxazolo-tetraciclina (15%); tali associazioni sono identiche a quelle riscontrate dai ceppi isolati dai casi umani.

Da un confronto fra la distribuzione territoriale dei casi umani e la localizzazione degli isolamenti dall'ambiente nel biennio considerato, emerge una discreta correlazione che sottolinea, oltre alla notevole resistenza agli stress ambientali di tali microrganismi, anche l'esistenza di complesse relazioni fra mondo microbico, uomo, animali ed ambiente. Si evince quindi la necessità di avviare programmi di sorveglianza ambientale che includano la ricerca di *Salmonella* spp. nelle acque superficiali e reflue, anche in rapporto al possibile riutilizzo di queste ultime a scopo irriguo ed al recupero dei fanghi di risulta per le pratiche agricole.

P27. E. COLI OX186:H-, UN NUOVO SIEROGRUPPO DI E. COLI PRODUTTORE DI VEROCITOTOSSINA (VTEC) ASSOCIATO CON LA SINDROME EMOLITICO UREMICA E CON UNA GRAVE FORMA DI ENTERITE BOVINA

Minelli F. (a), Morabito S. (a), Tozzoli R. (a), Fioravanti A. (a), Farina C. (b), Fabbi M. (c), Caprioli A. (a)

(a) *Laboratorio di Medicina Veterinaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Ospedali Riuniti di Bergamo*

(c) *Istituto Zooprofilattico sperimentale Lombardia Emilia, Pavia*

Gli stipiti di *Escherichia coli* produttori di verocitotossina (VTEC) appartengono ad un grande numero di sierotipi, ma i ceppi associati ad episodi di malattia grave nell'uomo come la SEU o la colite emorragica appartengono ad un numero limitato di essi (O157, O26, O111, O103, O145). Questi, generalmente posseggono il locus LEE e sono descritti come *E. coli* enteroemorragici.

In questo lavoro è descritto un nuovo antigene O di *E. coli*, temporaneamente nominato OX186, identificato in due ceppi VTEC isolati in Italia da un caso fatale di SEU e da un episodio di enterite grave in un vitello. Il primo stipite fu isolato nel 2000 da un bambino di 4 anni deceduto a causa di lesioni cerebrali conseguenti alla SEU. Dallo stesso paziente furono isolati due ceppi VTEC, uno dalle feci di sierogruppo O55 ed un VTEC appartenente ad un sierogruppo non identificabile isolato da un frammento di mucosa del colon prelevato post mortem. Il siero del paziente, reagiva con il lipopolisaccaride preparato dal ceppo O? ma non con quello preparato dal ceppo di sierogruppo O55 o con gli altri LPS di *E. coli* enteroemorragici comunemente testati.

Il secondo stipite di VTEC O? fu isolato nel 2001 dagli organi interni di un vitello morto in seguito ad un episodio di grave enterite emorragica. Anche l'LPS preparato da questo bovino reagiva con il siero del paziente con SEU.

Dal punto di vista genotipico, entrambi i ceppi ospitavano il gene codificante la verocitotossina di tipo 2c (*vtx2C*) e una copia del gene *eae* che non apparteneva a nessuno dei principali tipi α , β , γ e ϵ .

Entrambi i ceppi furono inviati presso lo Statens Serum Institut (Copenaghen, Denmark) per la sierotipizzazione e ad essi fu assegnato il sierotipo provvisorio OX186. Entrambi i ceppi erano non-motili. In conclusione, *E. coli* OX186 costituisce un nuovo sierogruppo VTEC che sembra essere altamente virulento sia per l'uomo sia per i vitelli. Ulteriori studi sono necessari per valutare la sua diffusione ed il suo ruolo nella malattia umana e degli animali.

P28. VALUTAZIONE EPIDEMIOLOGICA DELL'INFEZIONE DA *C. JEJUNI* E *C. COLI* NEGLI ALLEVAMENTI AVICOLI IN PUGLIA MEDIANTE AMPLIFIED FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM E PCR-RFLP DEL GENE FLAGELLINA

Parisi A. (a), Capuano F. (b), Lanzilotta S.G. (a), Stea G. (c), Addante N. (a),
Di Modugno G. (d), Chiocco D. (a)

(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale Puglia e Basilicata, Putignano

(b) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Portici

(c) CNR. Istituto Scienze delle Produzioni Alimentari, Bari

(d) Medicina Veterinaria – Dip. Igiene e Benessere animale, Università degli Studi, Bari

Le infezioni sostenute da *Campylobacter* spp., in particolare *C. jejuni* e *C. coli*, sono in continuo aumento, ed in alcuni Paesi europei e negli Stati Uniti superano le infezioni da *Salmonella*. Il pollame è ritenuto una delle fonti principali di infezione. Per la prevenzione della malattia nell'uomo si ritiene indispensabile la comprensione della epidemiologia dell'infezione negli allevamenti animali attraverso sistemi in grado di identificare numerosi sottotipi all'interno delle due specie microbiche. Per la tipizzazione di *Campylobacter* spp., sono stati utilizzati diversi metodi, sia sierologici che di biotipizzazione e molecolari. In questo studio è stato realizzato l'isolamento di 70 ceppi di *Campylobacter*, 34 *C. coli* e 36 *C. jejuni*, da 9 allevamenti di pollame dell'Italia Meridionale e uno studio epidemiologico comparativo utilizzando due differenti metodi di tipizzazione molecolare: PCR-RFLP del gene Flagellina (Flatyping) e AFLP.

In tutti gli allevamenti oggetto di studio era possibile isolare *Campylobacter* termofili. In 7 allevamenti è stata riscontrata la presenza contemporanea di *C. jejuni* e *C. coli*. Nei rimanenti due allevamenti era possibile isolare una sola delle due specie. La tipizzazione mediante Flatyping dei ceppi di *C. coli* ha permesso di distinguere 5 e 10 profili di restrizione distinti di *HinfI* e *DdeI* rispettivamente. La tipizzazione eseguita sui ceppi di *C. jejuni* invece ha permesso di distinguere 3 differenti profili di restrizione *HinfI* e 15 profili di restrizione *DdeI*. La tipizzazione mediante AFLP ha generato dei pattern complessi costituiti da un numero di picchi compreso tra 46 e 61 nei ceppi di *C. jejuni* e tra 60 e 81 nei ceppi di *C. coli*. Questo approccio ha permesso di realizzare in modo semplice e affidabile una identificazione di specie e di correlare i ceppi analizzati fornendo importanti informazioni circa l'epidemiologia dell'infezione.

I dati ottenuti da questo lavoro evidenziano la estesa diffusione dei *Campylobacter* termofili negli allevamenti di pollame situati nella regione studiata e confermano la possibilità che genotipi differenti di *C. coli* e *C. jejuni* coesistano nella stessa azienda.

La caratterizzazione molecolare mediante il metodo Flatyping ha un'esecuzione relativamente semplice e potrebbe essere utile per una valutazione epidemiologica a breve termine. La caratterizzazione mediante AFLP invece, sebbene richieda una più elevata specializzazione del laboratorio, permette una analisi epidemiologica più completa e affidabile.

Lavoro eseguito con i Fondi Ricerca Corrente del Ministero della Salute.

VALUTAZIONE DELLA CORRELAZIONE TRA CONTAMINAZIONI BATTERICHE E VIRALI NEI MOLLUSCHI BIVALVI

Pavoni E. (a), Daminelli P. (a), Losio M.N. (a), Costa A (b), Di Noto A.M. (b), Boni P. (a)
(a) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo*
(b) *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia*

La commercializzazione dei molluschi, implicati nella trasmissione di malattie batteriche e virali, è regolamentata da direttive nazionali ed europee (DM 530 del 30.12.1992) basate su parametri batteriologici. La correlazione tra contaminazione batterica e virale è ancor oggi oggetto di dibattito, anche se si ritiene che i limiti proposti abbiano scarso valore predittivo rendendo ragione della necessità di disporre di adeguati strumenti diagnostici per lo *screening* dei campioni destinati al consumo umano.

Obiettivo del presente lavoro è stato pertanto la valutazione della correlazione tra contaminazione batterica e virale valutata su 842 campioni prelevati in fase di commercializzazione nel periodo gennaio 2000-luglio 2003, sia di provenienza nazionale che estera. L'esame batteriologico è stato condotto in accordo al DM 31 luglio 1995. L'esame virologico, volto alla valutazione della presenza di Virus dell'Epatite A (HAV), Enterovirus e Norovirus è stato condotto mediante tecniche di biologia molecolare. In particolare 75 grammi di parte edibile sono stati sottoposti ad omogeneizzazione, precipitazione ed estrazione dell'acido nucleico seguita da retrotrascrizione in cDNA. Si è proceduto quindi alla amplificazione impiegando coppie di *primer* specifici (virus dell'Epatite A: AV1:5'-ggaaatgtctcaggtactttcttg-3' AV2:5'-gttttctcctctttatcatgctatg-3' AV3:5'-tcctcaattgttgatagc-3'; Enterovirus EN1:5'attgtcaccataagcagcca-3' EN2:5'-cggtaccttgtacgcctgt-3' EN5:5'-tcggccccctgaatcgggcta-3' EN65'-gaaacacggacaccaagta -3' Norovirus jv12y:5'-ataccactatgatgcagayta-3' jv12I5'-tcatcatcaccatagaaigag-3'). Limitatamente al Virus dell'Epatite A ed Enterovirus si è proceduto, sui campioni positivi, alla verifica dell'infettività mediante inoculo in colture cellulari sensibili.

I risultati ottenuti hanno permesso di evidenziare la negatività all'esame batteriologico dei campioni esaminati. Al contrario la seminested-PCR volta alla ricerca del HAV ha permesso di evidenziare la positività di 43 degli 842 campioni esaminati (5.1% del totale) dei quali 8 infettanti (18.6% dei positivi). La nested-PCR per la ricerca di Enterovirus ha permesso di evidenziare la positività di 14 campioni (1.7%) dei quali 9 infettanti (64.3%). Relativamente alla ricerca di Norovirus l'applicazione della singola reazione di PCR non ha permesso di riscontrare nessuna positività, mentre la recente introduzione della tecnica booster-PCR ha consentito di rilevare la presenza di 4 positivi sui 65 esaminati nel corso dell'anno 2003. Tale dato sarà sottoposto ad ulteriore conferma mediante sequenziamento. I dati ottenuti, nel loro complesso, permettono di evidenziare l'assenza di idoneità dei criteri stabiliti nell'ambito della legislazione attuale per il controllo delle contaminazioni virali ed evidenzia l'assenza di correlazione tra contaminazione batterica e virale. Permettono inoltre di osservare come le tecniche di biologia molecolare proposte possano essere candidate come strumento per la messa a punto di nuove strategie in grado di garantire con maggior sicurezza la qualità dei molluschi nella fase di commercializzazione.

P29. IL PIANO SICUREZZA ALIMENTARE DELLA REGIONE VENETO

Ricci A. (a), Angeletti R. (b), Consalter A. (c), Cora O. (d), Dalvit P. (b), Gallo G. (e), Marangon S. (f), Mioni R. (b), Ravarotto L. (b), Zuanon G. (g), Vio P. (e)

(a) Centro Nazionale di Referenza per le Salmonellosi, Legnaro

(b) IZS delle Venezie, Legnaro

(c) ARPAV, Padova

(d) SIAN Az. ULSS n. 1 del Veneto, Belluno

(e) Direzione Regionale per la Prevenzione, Regione del Veneto, Venezia

(f) Centro Regionale di Epidemiologia Veterinaria, Legnaro

(g) Dipartimento di Prevenzione, Az. ULSS n. 17 del Veneto, Este

La tematica della sicurezza alimentare ha assunto per l'Unione Europea importanza crescente, dimostrata dalle numerose normative e linee di indirizzo specifiche emanate nel settore, configurandosi attualmente come obiettivo primario e strategico.

Le disposizioni quadro in materia (Libro Bianco sulla Sicurezza Alimentare, Regolamento (CE) n. 178/2002) sottolineano come le politiche in questo ambito debbano basarsi su un approccio completo ed integrato, che riguardi cioè l'intera filiera alimentare, prevedendo il ravvicinamento di concetti, principi e misure che costituiscano una base comune per la legislazione alimentare nella Comunità.

Al fine di dare applicazione territoriale ai criteri generali stabiliti dalla normativa comunitaria e nazionale, la Giunta Regionale del Veneto ha approvato con propria DGR del 09/08/2002, n. 2224, il "Piano Triennale per la Sicurezza Alimentare".

La strategia di tale programma prevede un approccio interdisciplinare alle diverse problematiche inerenti la sicurezza degli alimenti, potendosi avvalere delle diverse professionalità presenti in tutte le strutture regionali che, a vari livelli, operano in questo ambito.

Lo sviluppo del piano è previsto nell'arco temporale 2002-2004 con la direzione di un Comitato Guida, a cui è stato demandato il compito di definire le linee guida tecnico-scientifiche, e di darne applicazione attraverso la costituzione di Gruppi di Lavoro (GdL) specifici per i diversi settori afferenti al "sistema sicurezza alimentare". Nei GdL attivati sono rappresentate le strutture pubbliche e private operanti sul territorio regionale, con competenze scientifiche, sanitarie, di programmazione e di controllo, fra cui la Direzione Regionale per la Prevenzione, il Centro Regionale di Epidemiologia Veterinaria, l'Istituto Zooprofilattico, l'Agenzia Regionale per l'Ambiente, i Servizi Igiene Alimenti e Nutrizione e i Servizi Veterinari delle AULSS, l'Università, Veneto Agricoltura, il Centro di Riferimento del Sistema Epidemiologico Regionale, le Associazioni dei Consumatori.

Fra le molteplici attività previste dal Piano, particolare attenzione è rivolta alla messa a punto di sistemi di sorveglianza delle tossinfezioni alimentari, all'esecuzione di piani di monitoraggio dei patogeni alimentari e dei contaminanti chimici nelle popolazioni animali e negli alimenti, alla formazione del personale, allo studio di protocolli di analisi, comunicazione e gestione del rischio, al controllo dei laboratori privati ed all'autocontrollo, al controllo delle acque ed ai problemi di ordine nutrizionale.

P30. INDAGINE SU CAMPYLOBACTER SPP. IN SELVAGGINA DA PIUMA ALLEVATA

Soncini G. (a), Cena A. (b), Ballocchi E. (b), Cazzorla M. (b), Camardo M. (b), Del Tito C. (b), Vercellotti L. (c)

(a) *Dip. VSA Università degli Studi di Milano*

(b) *IZS del Piemonte Sezione Vercelli*

(c) *ASL 11 Vercelli*

La diffusione delle Malattie Trasmesse con gli Alimenti (MTA) è in costante aumento e tra i microrganismi “emergenti” i *Campylobacter*, seppur meno fatali di altri agenti di tossinfezione, rivestono un ruolo di certo interesse nel campo della sicurezza alimentare.

È noto infatti ad esempio che in Paesi come la Gran Bretagna il numero di infezioni superi quelle caratterizzate dalla Salmonella come agente eziologico; negli Stati Uniti la Campylobacteriosi è comune quasi quanto la Salmonellosi e la Shigellosi; anche in Italia la casistica è ampia, numerosi casi infatti sono stati descritti in letteratura.

Scopo della presente indagine è condurre uno studio per valutare se e quali tipi di *Campylobacter* siano presenti nella selvaggina da piuma allevata e regolarmente macellata. In questo si è stati favoriti dalla presenza, nell’ambito territoriale dell’ASL11 di Vercelli, dell’unico macello per selvaggina allevata autorizzato in Piemonte in base al DPR 559/92. I dati desunti dall’attività di tale macello peraltro confermano che attualmente la selvaggina allevata non sia più un mercato di “nicchia” ristretto a pochi individui, ma al contrario la ricerca di alimenti “diversi e genuini” ha avvicinato e continua ad avvicinare nuovi consumatori a tali prodotti, quindi essa è destinata ad ottenere sempre maggior interesse sia commerciale che sanitario.

Sul piano operativo si procede all’analisi su l’1% del macellato ed il protocollo operativo (in corso di definizione) prevede, dopo la semina in brodo di arricchimento ed in caso di intorbidamento dello stesso, una filtrazione ed una risemina in brodo di arricchimento. Se intorbidato si procede nuovamente ad una filtrazione prima dell’ulteriore semina sui terreni di isolamento selettivi, operando in condizioni di anaerobiosi nel rispetto delle caratteristiche colturali di tale microrganismo. In base all’esperienza maturata in questi mesi, si è tuttavia riscontrata una maggiore facilità di crescita in brodo anziché sui classici terreni solidi. Successivamente sui ceppi ritrovati e opportunamente isolati, vengono condotte le identificazioni tramite PCR e/o Kit presenti in commercio (API Campy test) per evidenziare l’eventuale presenza di sierotipi patogeni quali *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* agenti eziologici di tossinfezioni alimentari note in letteratura.

Le difficoltà nell’isolamento del microrganismo sono dovute, a nostro avviso, oltre che alle sue specifiche caratteristiche colturali, anche dal fatto che la ricerca è effettuata su animali molto giovani (età 60 giorni circa), nei quali il microrganismo difficilmente riesce a essere predominante. A tutt’oggi con la sperimentazione ancora in corso, si può sottolineare il fatto che su circa 150 campioni analizzati alcuni hanno dato esito positivo, ragione per cui si è deciso di continuare la ricerca per poter ottenere un quadro significativo dell’effettiva presenza di questo microrganismo nel comparto della selvaggina allevata.

INDICE DEGLI AUTORI

Abelli L.A.; 41
Addante N.; 63
Agnelli E.; 50
Ammendola S.; 21
Andreoni S.; 29
Angeletti R.; 65
Arcangeletti M.C.; 25; 41
Ardissino G.; 22
Are B.M.; 30
Arena S.; 8
Arista S.; 13
Azara A.; 30
Bacchi M.; 6
Ballocchi E.; 66
Barbuti S.; 39
Battisti A.; 7; 9; 47; 57
Battistoni A.; 21
Benedetti G.B.; 56
Bertasi B.; 50
Bessegato A.; 23
Bilei S.; 5; 21; 47
Blancato S.; 33
Bommezzadri S.; 25
Boni P.; 50; 60; 64
Bonometti E.; 50; 60
Bornati L.; 50
Bosco S.; 42
Bottero M.T.; 51
Bottinelli G.; 6
Bragagna P.; 56
Brizio G.; 53
Buccella C.; 47
Busani L.; 9; 57
Calderaro A.; 25; 41
Caligiuri V.; 57
Camardo M.; 66
Camellini L.; 6
Cannavò G.; 59
Caprioli A.; 10; 33; 35; 49; 53; 57; 62
Capuano F.; 63
Caputo M.; 33
Carattoli A.; 28; 31
Caroli D.; 6
Carullo M.R.; 5
Casalinuovo F.; 57
Cazzorla M.; 66
Ceglie L.; 34
Cena A.; 66
Cenci T.; 57
Cerioli M.; 40
Chezzi C.; 25; 41
Chiavacci L.; 57
Chiocco D.; 63
Chironna M.; 39
Chizzolini R.; 48
Cigliano A.; 57
Cirillo G.; 6
Civera T.; 51; 52
Conedera G.; 49
Consalter A.; 65
Conter M.; 48
Cora O.; 65
Cosciani E.; 50
Costa A.; 64
Crocchi L.; 16
Crotti D.; 12
Crudeli S.; 42
Cusi D.; 22
D'Incau M.; 9
Daccò V.; 22
Dalmaso A.; 51; 52
Dalvit P.; 49; 65
Daminelli P.; 50; 60; 64
De Cesare A.; 12
De Conto F.; 41
De Grazia S.; 13
De Luca A.; 61
De Petris L.; 35
De Vito D.; 32
Decastelli L.; 5; 33; 51; 52; 53
Defabiani I.; 56
Del Tito C.; 66
Delia Santi A.; 59
Dell'Eva I.; 26

Desiato R.; 51; 52
 Dettori G.; 25; 41
 Dettori G.; 41
 Di Bella C.; 57
 Di Giampietro G.; 21; 47
 Di Giannatale E.; 5; 9; 31
 Di Modugno D.; 54
 Di Modugno G.; 54; 63
 Di Noto A.M.; 64
 Di Pardo L.; 61
 Dionisi A.M.; 7; 8; 12; 28
 Duranti A.; 57
 Edefonti A.; 22
 El-Kammsh S.; 30
 Fabbi M.; 62
 Farina C.; 62
 Fenicia L.; 27
 Ferrari M.; 43
 Ferraroni M.; 55
 Filetici E.; 7; 8
 Fioravanti A.; 33; 35; 62
 Fisichella S.; 34
 Fontana G.; 55
 Fontanelli G.; 47
 Fortina G.; 29
 Franco A.; 9; 47
 Frenguelli M.; 26
 Galetta P.; 3; 6; 7; 35
 Galiero G.; 49
 Gallina S.; 53
 Gallo G.; 65
 Gentile D.; 53
 Germinario C.; 39
 Giaccone V.; 56; 58
 Giacomucci D.; 36
 Giammanco G.; 13
 Gianviti A.; 35
 Goffredo E.; 5; 49
 Gramaglia M.; 49
 Grassi M.A.; 52
 Graziani C.; 9
 Helfer F.; 26
 Iamele A.; 61
 Incaprera M.; 25
 Kazmi S.; 30
 Lafisca A.; 58
 Laganà P.; 59
 Lana S.; 3
 Lanzilotta S.G.; 63
 Laporta L.; 54
 Lavazza A.; 40
 Loffredo G.; 49
 Loi S.; 22
 Lopalco P.; 39
 Losio M.N.; 60; 64
 Luzzi I.; 7; 8; 9; 12; 28; 31
 Magnino S.; 43
 Maida I.; 30
 Mamma C.; 7; 11
 Mancin M.; 5; 9
 Mancini G.; 61
 Mannuppella A.; 6
 Manuppella A.; 61
 Marangon S.; 57; 65
 Martinelli M.; 41
 Martini M.; 49
 Martorana M.; 51; 52
 Marziano M.L.; 35
 Medici M.C.; 25; 41
 Melloni A.; 61
 Mercati G.; 6
 Migliorati G.; 57
 Minelli F.; 28; 35; 62
 Mioni R.; 12; 65
 Molina M.; 6
 Molinari G.L.; 29
 Mollichelli A.; 61
 Monastero P.; 50; 60
 Moncada G.; 32
 Monini M.; 42
 Morabito S.; 33; 35; 49; 62
 Morelli N.; 32
 Moreno Martin A.; 40
 Moretti M.; 43
 Moroder L.; 6
 Morrone A.; 61
 Muresu E.; 30
 Nardella M.C.; 57
 Nastasi A.; 15
 Oggioni C.; 55
 Onorati C.; 47

Ottaviani D.; 49
 Owczarek S.; 8; 9
 Pacello F.; 21
 Paglialonga F.; 22
 Panteghini C.; 60
 Parisi A.; 63
 Pasquali P.; 21
 Paterlini F.; 49
 Pavoni E.; 50; 60; 64
 Pezzella C.; 31
 Pezzotti G.; 12; 49
 Piana A.; 30
 Piccolo G.; 25
 Pinardi F.; 41
 Piraino C.; 5
 Pisanu M.; 49
 Pontello M.; 11; 55
 Pratelli A.M.; 14
 Prato R.; 39
 Quarto M.; 39
 Ravarotto L.; 65
 Razia L.E.; 25
 Ricci A.; 5; 7; 12; 31; 57; 65
 Ripabelli G.; 12
 Rizzi D.; 32
 Rizzo C.; 32
 Rizzo G.; 32
 Rizzoni G.; 35
 Rolesu S.; 57
 Rossi M.; 36
 Rotilio G.; 21
 Ru G.; 53
 Rubino S.; 30
 Ruggeri F.M.; 42; 43
 Saccares S.; 57
 Salinetti A.P.; 21; 47
 Sallustio A.; 39
 Sanguinetti V.; 36
 Santoni R.; 43
 Saracco M.; 56
 Scalfaro C.; 8
 Scuota S.; 5; 34
 Semprini P.; 49
 Serafin A.; 12
 Sereni F.; 22
 Sigovini G.; 58
 Silvestro L.; 33
 Soncini G.; 66
 Staffolani M.; 5; 34
 Stea G.; 63
 Tagliabue S.; 5
 Taioli E.; 57
 Tamba M.; 57
 Testa S.; 22
 Tosi G.; 40
 Toti L.; 57
 Tozzi A.E.; 3; 35
 Tozzoli R.; 33; 35; 62
 Ulissi M.A.; 7
 Valenti P.; 21
 Valerio E.; 55
 Vercellotti L.; 56; 66
 Vidili A.; 5
 Villa L.; 31
 Villanacci V.; 25
 Vinco L.; 40
 Vio D.; 5; 9; 34
 Vio P.; 65
 Weiss C.; 57
 Zanoni R.G.; 36
 Zavagnin P.; 34
 Zicavo A.; 34
 Zignani M.; 29
 Zuanon G.; 65

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.*

*Stampato da Ditta Grafiche Chicca & C. snc
Via di Villa Braschi 143, 00019 Tivoli (Roma)*

Roma, settembre 2003 (n. 3) 7° Suppl.