

CARATTERIZZAZIONE FENOTIPICA E GENOTIPICA DI SALMONELLA SPP. ISOLATA DAI MOLLUSCHI BIVALVI NELLA REGIONE MARCHE

PHENOTYPIC AND GENOTYPIC CHARACTERIZATION OF SALMONELLA SPP ISOLATED FROM MOLLUSCAN SHELLFISH IN MARCHE REGION

Valli M.B.¹, Staffolani M.¹, G. Blasi ², Rocchegiani E. ³, Pacioni M. ⁴, Fisichella S. ¹

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria Marche – Macerata; ² Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria Marche – Fermo

³ Laboratorio Nazionale di Riferimento per le contaminazioni batteriche dei molluschi bivalvi - Ancona

⁴ Libero Professionista – Loro Piceno (Mc)

SUMMARY

Salmonella enterica is a major epidemic cause of gastrointestinal infection worldwide. Although the animal host is believed to be the primary habitat of this specie, *Salmonella* is frequently isolated from water sources and it has been identified in marine environments. In this study the incidence of serotypes of *Salmonella* in the coastal water of the Italian region of Marche on the Adriatic Sea was evaluated. A total of 3985 samples of molluscan shellfish were analyzed during routine surveillance activity for a period of five years (2002-2007) and 0,95% of the samples were found contaminated with *Salmonella*. The most prevalent serotypes were Seftenberg (23.5%), Typhimurium (14,7%) and Enteritidis (11.8%) respectively. Pulsed-field electrophoresis and phage typing were used to determine possible genetic relationship (relatedness) between *S. Enteritidis* strains isolated from bivalve mollusc and those isolated from human cases, animals and foods in Region of Marche. Three isolates from mollusc shellfish, 7 from sporadic human infection and 4 from poultry farms were confirmed as phagetype PT2 and PFGE profile XB0002. These results suggest a molecular fingerprinting relationship among shellfish, human and animal isolates, which could be considered as preliminary evidence of human infections associated with poultry production industry.

Key words

Shellfish, *Salmonella enterica*, PFGE.

Salmonella spp. è uno dei più comuni agenti zoonotici responsabile di patologie gastroenteriche infettive a trasmissione alimentare nell'uomo. A causa della natura ubiquitaria di alcuni sierotipi, l'infezione può diffondere attraverso cicli epidemiologici complessi: *Salmonella spp.* è stata isolata da una notevole varietà di matrici alimentari e da diverse fonti ambientali quali ad esempio i corsi d'acqua, i liquami, il suolo, dove sopravvive anche per diversi mesi. Nell'ambiente marino, *Salmonella spp.* è stata isolata dalle acque costiere, dai molluschi e da altri prodotti della pesca.

Nel presente studio è stata indagata la presenza di *Salmonella spp* nei molluschi bivalvi vivi analizzati nell'ambito dell'attività di sorveglianza delle

acque di raccolta e di produzione della Regione Marche dal 2002 al 2007. Sono stati analizzati 3985 campioni di molluschi bivalvi vivi, 38 dei quali sono risultati positivi per la presenza di *Salmonella spp.*, pari alla percentuale del 0.95%.

Dalla tipizzazione sierologica di 34 ceppi, sono stati individuati 15 sierotipi differenti, tra cui predominante è il sierotipo Senftenberg (23.5%), seguito da Typhimurium (14.7%) ed Enteritidis (11.8%). La frequenza relativa di quest'ultimo sierotipo, confrontata con quanto riportato in letteratura, risulta essere particolarmente elevata. Nel corso di uno studio analogo condotto in Galizia nel 2004, solo il 3.1 % dei ceppi di *Salmonella* isolati dai molluschi vivi è risultato appartenere al sierotipo Enteritidis.

Al fine di individuare le possibili correlazioni epidemiologiche tra i ceppi di *Salmonella* Enteritidis, isolati nel corso dello studio con quelli circolanti nel territorio regionale, sono stati analizzati i dati relativi alla tipizzazione fagica ed alla tipizzazione molecolare con l'elettroforesi in campo pulsato (PFGE). Tre dei quattro stipiti di *S. Enteritidis* sono risultati appartenere all'associazione pulsotipo XB0002 fagotipo PT 2 (XB0002-PT2). Questi dati sono stati confrontati con quelli relativi alla caratterizzazione degli isolati di *S. Enteritidis* collezionati tra il 2002 ed il 2007 dal nostro Centro di Riferimento Regionale per gli Enteropatogeni e provenienti da infezioni umane, da alimenti e da animali.

Tale caratterizzazione ha dimostrato come l'associazione XB0002 PT 2 sia prevalente nella nostra regione, rappresentando oltre il 50% dei ceppi di *S. Enteritidis*, a differenza dei dati europei e nazionali, nei quali il pulsotipo XB 0002 è associato prevalentemente al fagotipo PT 8 o al fagotipo PT 21.

Dei 19 isolati XB0002 PT2, oltre ai 3 provenienti dai molluschi, 7 provenivano da infezioni sporadiche umane, 4 da allevamenti avicoli e 5 da alimenti destinati all'uomo. Tutti i ceppi isolati dai molluschi e dagli allevamenti avicoli provenivano da una zona geografica ristretta. Inoltre, tra i ceppi di origine umana, in tre casi, l'infezione era riconducibile al consumo di ovoprodotti e, in un caso, al consumo di prodotti a base di pesce. L'insieme di questi risultati suggeriscono una possibile relazione clonale tra la presenza di *S. Enteritidis* negli allevamenti avicoli e nei molluschi bivalvi e le infezioni umane.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Martinez-Urtaza, J., Saco, M., Hernández-Cordova, G., Lozano, A., Garcia-Martin, O. and Espinosa, J (2003) Identification of *Salmonella* serovars isolated from live molluscan shellfish and their significance in the marine environment. *J. Food Prot.* 66, 226-232.
- 2) Peters TM, Berghold C, Brown D, Coia J, Dionisi AM, Echeita A, Fisher IS, Gatto AJ, Gill N, Green J, Gerner-Smidt P, Heck M, Lederer I, Lukinmaa S, Luzzi I, Maguire C, Prager R, Usera M, Siitonen A, Threlfall EJ, Torpdahl M, Tschäpe H, Wannet W, Zwaluw WK. Relationship of pulsed-field profiles with key phage types of *Salmonella* enterica serotype Enteritidis in Europe: results of an international multi-centre study *Epidemiol Infect.* 2007 Nov;135(8):1274-81.
- 3) Martinez-Urtaza, J., Liebana, E., (2004) Investigation of clonal distribution and persistence of *Salmonella* Senftenberg in the marine environment and identification of potential sources of contamination. *FEMS Microbiology Ecology* 52 (2002) 255-263.