

*cepacia* in reparti di Rianimazione associate a colluttori non alcolici, riportando due eventi epidemici occorsi in ospedali americani. I pazienti sottoposti a ventilazione meccanica sono infatti particolarmente esposti all'azione dei patogeni presenti nel cavo orale o nelle prime vie aeree, e presentano un alto rischio di colonizzazioni e di infezioni respiratorie in rapporto alla carenza delle normali funzioni protettive legate ai meccanismi mucociliari e al riflesso della tosse. La nostra segnalazione di una epidemia da *B. cepacia* associata all'uso di un collutorio contaminato in due reparti di Terapia Intensiva apporta un ulteriore contributo all'argomento. Nel nostro caso l'origine dell'evento è stato identificato nella contaminazione dell'acqua deionizzata utilizzata per la diluizione al 4% della clorexidina nella preparazione del collutorio. L'epidemia ha avuto la durata di 14 mesi e ha coinvolto 43 pazienti con 10 casi di infezioni respiratorie, prima che si identificasse la fonte e si sospendesse l'uso della soluzione. La tipizzazione molecolare con RAPD-PCR di 58 ceppi derivati dai pazienti, dal collutorio e dall'acqua deionizzata, ha evidenziato lo stesso genotipo nei campioni clinici e nella soluzione di clorexidina. Il reperto di genotipi differenti negli isolati provenienti dall'acqua indica la probabile selezione da parte del disinfettante di un clone resistente a partire dalla popolazione microbica policlonale presente, responsabile dei casi di infezione e di colonizzazione. La cessazione degli isolamenti contestuale alla sospensione dell'uso del collutorio ha confermato il rapporto tra il disinfettante e l'origine dei casi. Si sottolinea pertanto il ruolo emergente di microrganismi ambientali come *B. cepacia* nel determinare patologie opportunistiche ed eventi epidemici nosocomiali.

---

### S10.3

#### **PATOGENI ENTERICI: RETI DI SORVEGLIANZA NAZIONALI ED INTERNAZIONALI. IL CENTRO DI RIFERIMENTO REGIONALE DELL'EMILIA-ROMAGNA**

**Cirillo G., Bacchi M., Ortali F.**

*ARPA Emilia - Romagna*

L'esigenza di costituire Centri di Riferimento nell'ambito di un sistema nodale, sorge da motivi scientifico-culturali ed economici. La conoscenza microbiologica ha seguito lo sviluppo avutosi nelle altre discipline, raggiungendo oggi i suoi massimi livelli. Questo comporta un maggior onere, non sempre sostenibile, da parte di ogni singolo Laboratorio per essere in condizioni di rispondere alle richieste di prestazioni. Lo sviluppo dei CdR risponde pertanto a perseguire livelli di miglioramento qualitativi e di produttività nell'attività

svolta e ad evitare la dispersione dei dati che in Epidemiologia costituiscono un fattore molto importante. Il CdR di Forlì opera da circa 10 anni e ha ampliato costantemente i clienti fino a raccogliere la quasi totalità dei Laboratori di Microbiologia. I centri periferici, afferenti al CdR, sono costituiti dai Laboratori di Microbiologia delle sezioni ARPA delle 9 Province Emiliano-romagnole che effettuano ricerche su matrici ambientali come acque superficiali, potabilità, balneazione, terme, etc. Vi sono poi i Laboratori di Microbiologia clinica Ospedalieri e Dipartimenti di Sanità Pubblica che inviano ceppi e/o schede per la sierotipizzazione completa di *Salmonella* sp. Dobbiamo ammettere che i dati umani sono tuttora sottostimati in quanto mancano quelli relativi ai tre grandi Policlinici regionali (Bologna, Modena e Parma). Laboratori privati e aziendali del settore agro-alimentare alquanto sviluppato nella nostra Regione. Nelle nostre casistiche non figurano i dati relativi agli isolamenti negli animali che sono di pertinenza della rete Entervet che raccoglie gli Istituti di Zooprofilassi in una rete nazionale parallela che afferisce anch'essa nel sistema Enternet. Il nostro laboratorio attua procedure analitiche dedicate e accreditate Sinal N° 0249. Esegue un invio mensile dei dati alla sede centrale italiana del progetto Enternet (ISS Roma), pubblica un Rapporto Annuale con invio cartaceo e telematico agli addetti ai lavori. E' inoltre inserito in alcuni circuiti di proficiency test nazionali ed internazionali. Ci sono quindi tutte le premesse che i dati prodotti siano attendibili. Presentiamo i dati relativi all'ultimo biennio 2005/2006 sugli isolamenti di *Salmonella* sp effettuati in Emilia-Romagna evidenziando le differenze qualitative e quantitative che si verificano fra i sierotipi di origine ambientale e umana. I sierotipi di maggior isolamento e l'attività antimicrobica dei ceppi di origine ambientale rispetto a quelli clinici. Una osservazione speciale a *S. Veneziana*, presente costantemente da circa 10 anni nelle matrici ambientali fino a diventare il secondo sierotipo isolato, ma senza notevoli riscontri clinici.

---

### S10.4

#### **PATOGENI ENTERICI: RETI DI SORVEGLIANZA NAZIONALI E INTERNAZIONALI**

**Luzzi I.**

*Istituto Superiore di Sanità, Roma*

La prevenzione e il controllo delle infezioni da patogeni enterici trasmessi da alimenti dipende in larga misura dal riconoscimento degli episodi epidemici attraverso un idoneo sistema di sorveglianza. L'incidenza delle infezioni trasmesse da alimenti è in costante aumento, le caratteristiche relative alle

modalità di trasmissione sono cambiate, tra gli agenti eziologici emergono sempre più frequentemente agenti zoonotici che riconoscono diversi serbatoi animali e possono essere trasmessi all'uomo da un'infinità di varietà di alimenti di origine animale.

Di fronte a questo mutato scenario anche la sorveglianza dei patogeni enterici deve assumere caratteristiche diverse. I sistemi di sorveglianza basati sui laboratori rispecchiano l'evoluzione in materia di prevenzione e controllo.

L'integrazione tra i vari settori della microbiologia, clinica, veterinaria, alimentare e ambientale, l'utilizzo di tecniche di laboratorio innovative, l'uso dei metodi molecolari di tipizzazione consentono oggi di identificare episodi epidemici diffusi in aree geografiche estese, di stabilire relazioni tra casi di malattia apparentemente sporadici, di riconoscere il veicolo di infezione e risalire ai serbatoi dei diversi agenti eziologici.

Il sistema di sorveglianza dei patogeni enterici trasmessi da alimenti ENTER-NET rappresenta il prototipo della sorveglianza basata sui laboratori. Il sistema attivo in Europa da anni si prefigge di studiare la circolazione dei diversi sierotipi di *Salmonella* e di *E. coli* produttori di verotossina, di seguire la diffusione di altri patogeni enterici come il *Campylobacter*, di mantenere attivo un sistema di allerta internazionale al fine di identificare episodi epidemici anche a carattere transnazionale.

In Italia il sistema è coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità e si avvale della partecipazione dei laboratori del Servizio Sanitario Nazionale e di una rete di laboratori regionali di riferimento. Il sistema di sorveglianza italiano ha inoltre la caratteristica di raccogliere dati sugli isolamenti di *Salmonella* da campioni di origine ambientale e di origine animale attraverso una rete parallela, Enter-vet, coordinata dal centro nazionale di riferimento per le *Salmonelle* dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie.

La struttura e le caratteristiche dei sistemi di sorveglianza Enter-net e Enter-vet Italia consentono quindi di valutare il valore aggiunto alla sorveglianza delle infezioni zoonotiche a trasmissione alimentare dell'uso routinario dei metodi di tipizzazione molecolare per i principali agenti zoonotici quali *Salmonella*, *Campylobacter* ed *E. coli* 0157 e altri patogeni trasmessi da alimenti isolati da fonte umana e non umana.

---

## S10.5

---

### IL GENERE SALMONELLA: EPIDEMIOLOGIA MOLECOLARE

**Nastasi A.**

L'epidemiologia delle salmonelle in Italia si identifica ormai con i sierotipi di primaria origine animale, infatti nello scenario nazionale le febbri tifoidee rappresentano ormai reperti sporadici legati a casi d'importazione.

La ricostruzione delle catene di contagio nelle infezioni da agenti responsabili di zoonosi, come le salmonellosi, oltre duemila sierotipi anche se soltanto un centinaio si sono adattate all'uomo, sono problematiche anche per la bassa sensibilità delle metodiche di tipizzazione fenotipiche.

L'utilizzo di metodiche di biologia molecolare, come la Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) e la Single Enzyme Amplified Fragment Length Polymorphism (SE-AFLP) ha permesso di superare, ad esempio, la sierotipo specificità della tipizzazione fagica.

*Salmonella enterica* sierotipo Enteritidis rappresenta in Italia il secondo sierotipo più frequente dopo *S. Typhimurium*. La grande diffusione di *S. Enteritidis* su scala mondiale, legata alla capacità di colonizzare l'ovidutto delle galline, ha portato questo sierotipo ad essere per molti anni prevalente ed oggi, in ogni caso, un reperto costante nelle infezioni umane. La tipizzazione fagica, che ha permesso di studiare l'evolversi della diffusione pandemica nelle singole Regioni, è purtroppo un patrimonio di pochi laboratori, di solito su scala nazionale, per problemi legati alla disponibilità dei fagi e alla standardizzazione fra laboratori.

L'introduzione di metodiche di tipizzazione molecolare come la PFGE, adottata in campo internazionale dai laboratori di riferimento più accreditati, ha permesso di sviluppare una valida alternativa in grado di ben discriminare i cloni circolanti. La PFGE, se ha risolto i problemi legati alla tipizzazione fagica, presenta costi d'acquisto e gestione delle apparecchiature non alla portata dei laboratori di primo e secondo livello.

In questi laboratori, di supporto all'inchiesta di primo intervento, è necessario poter disporre di metodiche che siano in grado di garantire una ricostruzione epidemiologica dell'intervento a basso costo. Abbiamo, a Firenze di recente, messo a punto e validato una SE-AFLP modificata raggiungendo lo scopo di ottenere una metodologia poco costosa con risultati non dissimili in termini di sensibilità della PFGE. A tale scopo si è applicata la SE-AFLP modificata nella lettura ed interpretazione della storia naturale di *Salmonella* Enteritidis negli ultimi tre anni nel territorio fiorentino.