



**MOLECULAR CHARACTERIZATION OF SALMONELLA ENTERICA SER.
INFANTIS MULTIRESISTANT STRAINS ISOLATED IN MARCHE REGION -
CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DI CEPPI DI SALMONELLA ENTERICA
SIEROTIPO INFANTIS MULTIRESISTENTI ISOLATI NELLA REGIONE
MARCHE**

Dionisi A. M.¹, Staffolani M.², Valli M. B.³, Fisichella S.², Lucarelli C.¹, Owczarek S.¹, Luzzi I.¹

(1) Dipartimento di malattie infettive, parassitarie ed immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma;

(2) Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria Marche, Macerata;

(3) Istituto Nazionale Malattie Infettive "L. Spallanzani", Roma.

Abstract. Salmonella spp. is the most important food borne pathogen in EU. Salmonella Infantis is an important serotype included in the top ten list and is increasing in some European countries. While antibiotic resistance is frequent in Salmonella Infantis, in Italy is rarely found. In this work we report a rapid increase of Salmonella Infantis frequency in Marche Region (Italy) among human and veterinary areas.

Riassunto. Salmonella spp. è il più importante patogeno legato al cibo nell'Unione Europea. Salmonella Infantis è un importante sierotipo incluso nella lista dei dieci patogeni di maggiore importanza ed è in crescita in alcuni Paesi europei. Mentre la resistenza agli antibiotici è frequente in Salmonella Infantis, in Italia è trovata raramente. In questo lavoro viene data menzione dell'incremento della frequenza di Salmonella Infantis nella Regione Marche nell'ambito umano e veterinario

Introduzione

In Italia *S. Infantis* rappresenta il 4° sierotipo isolato da infezioni umane dopo *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* e *S. 4,[5],12:i:-*.

In campo non umano, pur con bassa frequenza, *S. Infantis* viene isolata in diverse specie animali e in diverse fonti ambientali (fig. 1, 2). Sebbene caratterizzata da elevata suscettibilità agli antibiotici, ceppi di *S. Infantis* multiresistenti isolati dall' uomo e dall' ambiente sono emersi negli ultimi anni (fig. 3).

Nella regione Marche, la prevalenza di *S. Infantis* è risultata sempre al di sotto della media nazionale sia in campo umano che veterinario (fig. 1, 2), ad eccezione del periodo Luglio 2005- Marzo 2006.

In questo periodo è stato registrato un notevole incremento negli isolamenti di *S. Infantis* di diversa origine caratterizzati da resistenza multipla agli antibiotici. Ceppi con profilo di resistenza ACSSuT (ampicillina, cloramfenicolo, streptomina, sulfonamidi, tetraciclina) accompagnato spesso da resistenza a K e Sxt (kanamicina e trimethoprim/sulfametossazolo), sono stati isolati sia in campioni umani che in campioni di origine non umana.

Scopo di questo lavoro: Individuare clusters epidemici tra i ceppi di *S. Infantis* isolati da fonti diverse nella regione Marche tra il 2005 e il 2006 e caratterizzare le cassette geniche responsabili dell'antibiotico resistenza nei ceppi multiresistenti.



Figura 1 e 2: Percentuali d'isolamento di *S. Infantis* nell'uomo e in campo veterinario in Italia e nelle Marche dal 2002 al 2008

Materiali e metodi

Il lavoro è stato condotto su 60 ceppi di *S. Infantis* isolati nelle Marche e 12 isolati in altre regioni in Italia, tra il 2002 e il 2008, da uomo, ambiente, animale ed alimenti di origine animale, suscettibili e multiresistenti.

E' stata utilizzata la tecnica dell'Elettroforesi in Campo Pulsato (PFGE) XbaI e analisi dei profili di restrizione, mediante il software Bionumerics. La PCR per le cassette geniche di resistenza: blaTEM, tetA-B-C-G, sul2, strA-B, int1 (5'-3'cs) e sequenziamento. E' stata effettuata coniugazione su ceppi rappresentativi per determinare la localizzazione cromosomale o plasmidica dei determinanti di resistenza.

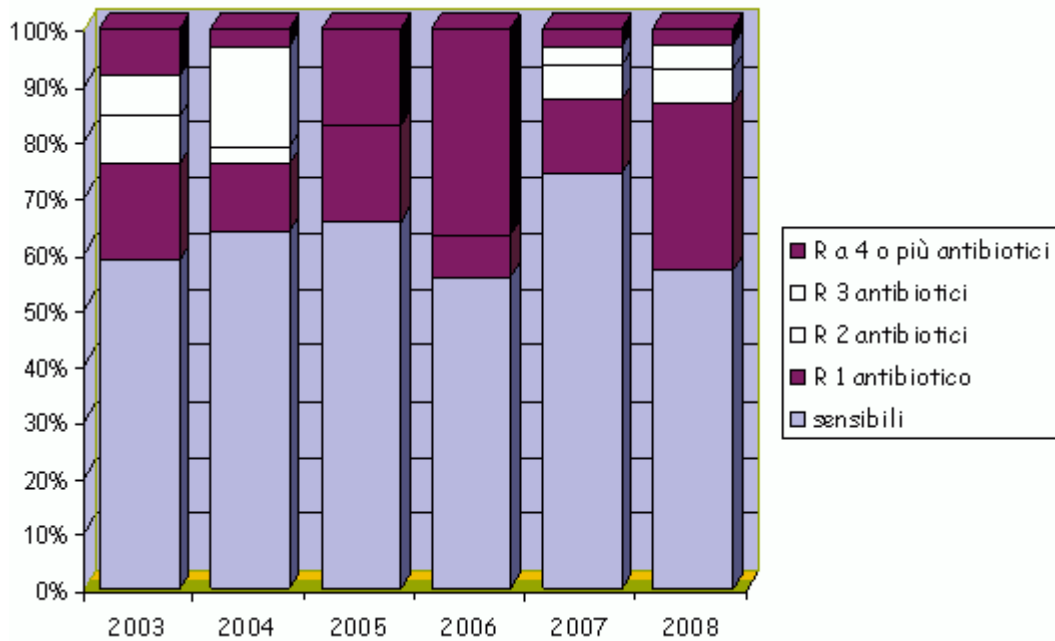


Figura 3: Percentuali di resistenza in ceppi di *S. Infantis* isolati in Italia da fonte umana e non umana.

Risultati

I risultati ottenuti mostrano come la PFGE ha evidenziato la presenza di un cluster prevalente comprendente 49 ceppi con omologia genetica =90%. Ben 27 dei 49 ceppi compresi in questo cluster, erano multiresistenti e possedevano il pattern di resistenza ACSSuTKSxt (fig. 4). Di questi 27 ceppi, 24 provenivano dalle Marche ed erano stati isolati tra il 2005 e il 2006.

I ceppi con R-type ACSSuTKSxt presentavano i geni: *bla*TEM, *tetB*, *strA-B*, *sul2*, per la resistenza all'ampicillina, alla tetraciclina, alla streptomina e ai sulfonamidi. Inoltre possedevano un integrone di classe 1 (2.2 Kb) contenente le cassette geniche: *folA*, *catB3*, *aadA4*, *sul1* per la resistenza al trimethoprim, cloramfenicolo, streptomina/spectinomicina e sulfonamidi.

Gli esperimenti di coniugazione hanno dimostrato che tutte le resistenze sono portate da un plasmide appartenente al gruppo di incompatibilità HI1.

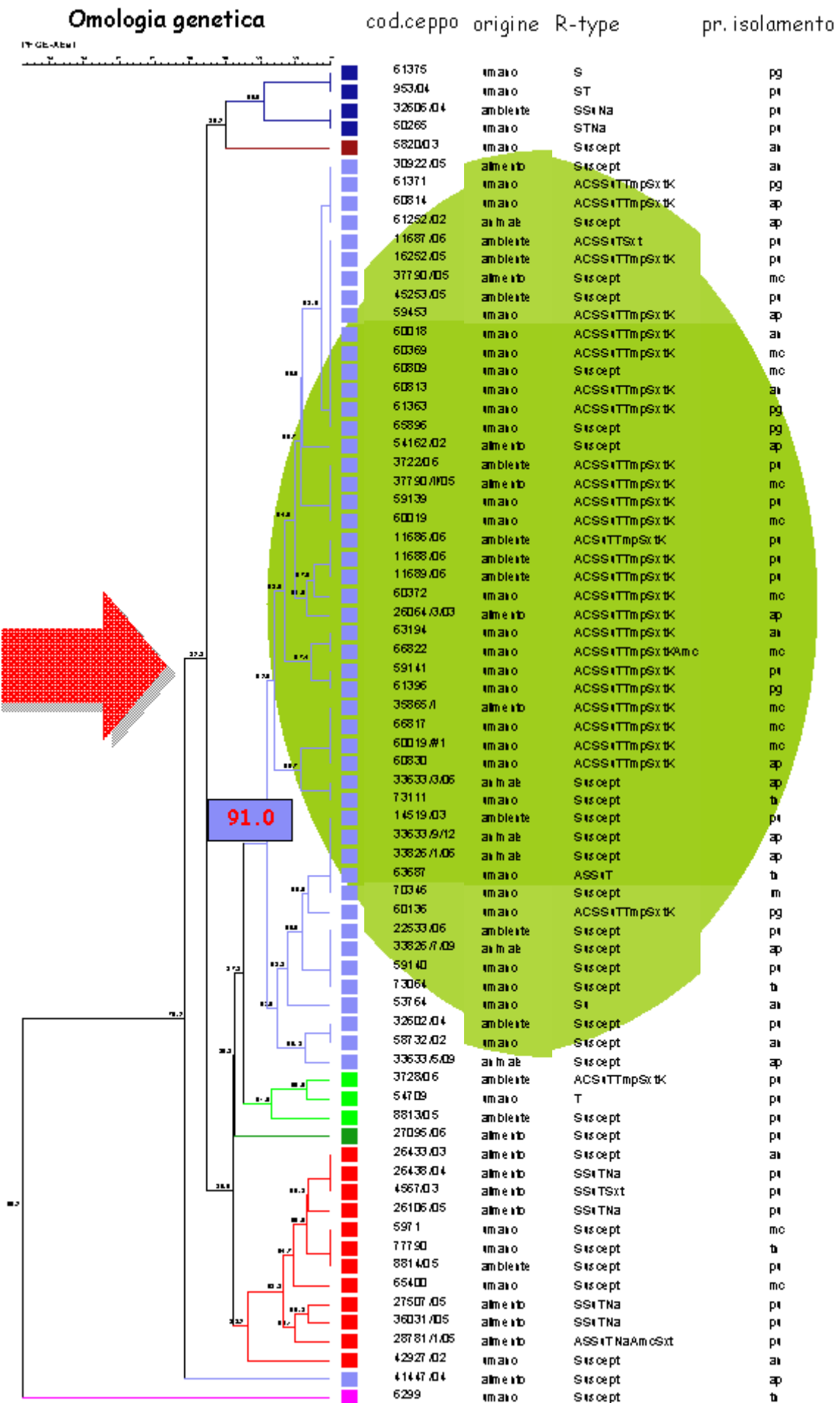


Figura 4: cluster analysis dei 72 ceppi analizzati; in evidenza il cluster con omologia $\geq 90\%$ comprendente i ceppi con R-type ACSSuTKSxt.

Conclusioni

Lo studio qui brevemente riferito, ha dimostrato che una buona caratterizzazione fenotipica di ceppi circolanti in una determinata regione è un ottimo "supporto" per indirizzare ulteriori indagini epidemiologiche di tipo molecolare.

La caratterizzazione molecolare delle cassette geniche di resistenza ha evidenziato la circolazione di un cluster di *S. Infantis*, con R-type ACSSuTKSxt, nel periodo 2005-2006 nella regione Marche. Presumibilmente la presenza di un plasmide portatore di queste resistenze può aver facilitato la diffusione di ceppi multiresistenti isolati da diverse fonti anche attraverso il trasferimento genico orizzontale.



Quest'opera è stata rilasciata sotto la licenza Creative Commons Attribuzione-Non commerciale 2.5 Italia. Per leggere una copia della licenza visita il sito web <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.5/it/> o spedisci una lettera a Creative Commons, 171 Second Street, Suite 300, San Francisco, California, 94105, USA.

	Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Via G. Salvemini 1. 06126, Perugia - Italy
Centralino Istituto	Tel. +39 075 3431 - Fax. +39 075 35047
Biblioteca	Tel. / Fax +39 075 343217 e-mail: bie@izsum.it
Rivista SPVet.it ISSN 1592-1581	Tel. +39 075 343207 e-mail: editoria@izsum.it http://spvet.it/ http://indice.spvet.it
U. R. P.	Tel. +39 075 343223; Fax: +39 075 343289 e-mail: URP@izsum.it