

Salmonella spp. e antibiotico-resistenza in Mammiferi e Uccelli selvatici in Italia nord-occidentale dal 2002 al 2010

Velca Botti, Francine Valérie Navillod, Lorenzo Domenis, Riccardo Orusa,
Erika Pepe, Serena Robetto, Cristina Guidetti

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Struttura Complessa Valle d'Aosta,
Centro di Referenza Nazionale per le Malattie degli Animali Selvatici (Ce.R.M.A.S.),
Regione Amérique 7/G, 11020 Quart, Italia
cristina.guidetti@izsto.it

Parole chiave

Antibiotico-resistenza,
Fauna selvatica,
Italia nord-occidentale,
Salmonella,
Tetraciclina.

Riassunto

La *Salmonella* è un importante agente patogeno responsabile di zoonosi di notevole rilevanza economica. In Europa la salmonellosi è la seconda infezione trasmessa per via alimentare, in Italia il microrganismo continua ad essere la causa più frequente di infezione alimentare. In Europa sono in atto molti piani di sorveglianza di *Salmonella* in animali da allevamento, tuttavia il monitoraggio del microrganismo in animali selvatici è effettuato solo occasionalmente. Lo studio ha avuto l'obiettivo di indagare la presenza di *Salmonella* in animali selvatici e i ceppi antibiotico-resistenti. Nel periodo 2002-2010, 2.713 animali selvatici (Canidi, Mustelidi, Uccelli, Roditori e Ungulati), provenienti da aree dell'Italia nord-occidentale, sono stati testati per *Salmonella* mediante metodo microbiologico colturale seguito da tipizzazione sierologica e biochimica. Di questi, 117 (63 Canidi, 25 Mustelidi, 24 Uccelli, 5 Ungulati) sono risultati positivi per *Salmonella* (4,3%). Sono stati isolati 130 ceppi appartenenti a diversi sierotipi e *Salmonella* Typhimurium è risultato quello più rappresentato. La sensibilità agli antibiotici è stata testata su 88 ceppi con test di disco-diffusione. La maggior parte dei ceppi analizzati (97,7%) si sono mostrati intermedi (I) o resistenti (R) ad almeno una classe di antibiotici. I più alti valori sono stati osservati per la classe delle tetracicline. La presenza di sierotipi di *Salmonella* antibiotico-resistenti e responsabili di zoonosi è stata riscontrata in diverse specie di animali selvatici.

Veterinaria Italiana 2013, **49** (2), 187-194. doi: 10.12834/VetIt.2013.492.193.200

Introduzione

Salmonella è un batterio responsabile di zoonosi di notevole rilevanza per la salute pubblica poiché ha un considerevole impatto economico (19). La salmonellosi è una delle malattie alimentari più comuni e maggiormente diffuse. In Europa è la seconda infezione alimentare dopo la campilobatteriosi.

Nel 2010, l'European Food Safety Authority (EFSA) ha riportato 99.020 casi di salmonellosi umana nei 27 Stati Membri dell'Unione Europea, inclusi 2.730 casi in Italia, paese in cui *Salmonella* è ancora la principale causa di focolai di infezione alimentare (10).

Il genere *Salmonella* comprende due specie: *S. enterica* e *S. bongori* (22). La prima include sei sottospecie (subsp.): *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*. Esistono oltre 2.500 sierotipi di *Salmonella* responsabili di zoonosi, la maggior parte dei quali appartiene alla sottospecie *enterica*. *Salmonella* risiede in un'ampia varietà di ospiti:

animali da allevamento e domestici, fauna selvatica ed esotica, rettili.

Nelle nazioni dell'Unione Europea sono in atto molti piani di sorveglianza per *Salmonella* su animali allevati. Il controllo della filiera è, infatti, l'approccio più efficace per garantire la sicurezza alimentare. Nel 2009, la maggior parte dei ceppi è stata isolata da polli (45,7%), suini (16,02%) e tacchini (4,14%) (3).

Al contrario, la ricerca di *Salmonella* nella fauna selvatica non è regolata da piani di monitoraggio nazionali ma è effettuata, occasionalmente, a scopo di studio.

Diverse indagini sono state svolte sugli Uccelli selvatici (17, 27) ma i dati disponibili sulla presenza di *Salmonella* nei Mammiferi selvatici sono pochi.

Lo studio ha avuto l'obiettivo di indagare la presenza di *Salmonella* e i ceppi antibiotico-resistenti negli animali selvatici (Canidi, Mustelidi, Uccelli, Roditori e Ungulati) dell'Italia nord-occidentale.

Tabella I. *Animali campionati.*

	Famiglia	Genere/specie (nome comune)
Canidi	<i>Canidae</i>	<i>Vulpes vulpes</i> (volpe rossa)
Mustelidi	<i>Mustelidae</i>	<i>Meles meles</i> (tasso)
		<i>Martes martes</i> (martora)
		<i>Martes foina</i> (faina)
		<i>Mustela putorius</i> (puzzola)
Uccelli	<i>Accipitridae</i>	<i>Accipiter gentilis</i> (astore)
		<i>Accipiter nisus</i> (sparviere)
		<i>Aquila chrysaetos</i> (aquila reale)
		<i>Buteo buteo</i> (poiana)
		<i>Circus gallicus</i> (biancone)
	<i>Ardeidae</i>	<i>Nycticorax nycticorax</i> (nitticora)
	<i>Columbidae</i>	<i>Columba livia</i> (piccione)
	<i>Corvidae</i>	<i>Garrulus glandarius</i> (ghiandaia)
		<i>Corvus corone</i> (cornacchia)
		<i>Pica pica</i> (gazza)
	<i>Cuculidae</i>	<i>Cuculus canorus</i> (cuculo)
	<i>Falconidae</i>	<i>Falco peregrinus</i> (falco pellegrino)
		<i>Falco</i> spp. (falco)
		<i>Falco tinnunculus</i> (gheppio)
		<i>Pernis apivorus</i> (falco pecchiaiolo)
	<i>Fringillidae</i>	<i>Fringilla coelebs</i> (fringuello)
	<i>Laridae</i>	<i>Larus</i> spp. (gabbiano)
	<i>Passeridae</i>	<i>Passer domesticus</i> (passero domestico)
	<i>Picidae</i>	<i>Picus viridis</i> (picchio verde)
	<i>Scolopacidae</i>	<i>Scolopax rusticola</i> (beccaccia)
	<i>Strigidae</i>	<i>Asio otus</i> (gufo comune)
		<i>Bubo bubo</i> (gufo reale)
		<i>Otus scops</i> (assiolo)
<i>Strix aluco</i> (allocco)		
<i>Sturnidae</i>	<i>Sturnus vulgaris</i> (storno)	
<i>Tetraonidae</i>	<i>Tetrao tetrix</i> (gallo forcello)	
<i>Turdidae</i>	<i>Turdus merula</i> (merlo)	
<i>Tytonidae</i>	<i>Tyto alba</i> (barbagianni)	
Roditori	<i>Cricetidae</i>	<i>Clethrionomys glareolus</i> (arvicola rossastra)
	<i>Myocastoridae</i>	<i>Myocastor coypus</i> (nutria)
	<i>Muridae</i>	<i>Apodemus</i> spp. (topo)
	<i>Soricidae</i>	<i>Sorex</i> spp. (toporagno)
Ungulati	<i>Cervidae</i>	<i>Cervus elaphus</i> (cervo)
	<i>Suidae</i>	<i>Sus scrofa</i> (cinghiale)

Materiali e metodi

Raccolta dei campioni

In Italia nord-occidentale (Valle d'Aosta, Piemonte e Liguria), tra gennaio 2002 e dicembre 2010, sono stati prelevati ed esaminati per *Salmonella* spp. 2.713 animali selvatici (1.222 Canidi, 221 Mustelidi, 1.101

Uccelli, 100 Roditori, 69 Ungulati) (Tabella I). Gli animali, generalmente, sono stati prelevati morti a causa di incidenti in strada e attività venatoria nell'ambito dei piani di controllo provinciali o regionali. In alcuni casi, i soggetti sono risultati provenienti dai centri di recupero della fauna selvatica.

Gli animali morti sono stati sottoposti ad un esame necroscopico completo con la raccolta di campioni di linfonodo meseraico, feci e visceri per un totale di 3.862 campioni biologici. In particolare, a 927 volpi rosse (*Vulpes vulpes*) e 146 Mustelidi sono stati prelevati feci e linfonodo meseraico. Ai 3 animali catturati vivi è stato effettuato un tampone cloacale.

Isolamento e identificazione di *Salmonella*

Tutti i campioni sono stati omogeneizzati con apparecchio tipo Stomacher. Dopo incubazione di 18 ore in Buffered Peptone Water, sono stati inoculati in tre brodi di arricchimento (Selenite Cystine, Rappaport-Vassiliadis e Mueller Kauffman Tetrathionate) per 24 ore. Dieci µl di ciascun brodo sono stati inoculati in piastre di terreni selettivi (Brilliant Green Agar e Xylose Lysine Deoxycholate Agar). Le piastre sono state incubate per 24 ore a 37°C. Le colonie sospette sono state trasferite su Triple Sugar Iron per l'identificazione presuntiva di *Enterobacteriaceae*, basata sulla fermentazione degli zuccheri e produzione di H₂S.

Le presunte salmonelle sono state confermate con test biochimico (API 20E®) e sierologico. L'identificazione del sierotipo è stata effettuata tramite sieri monovalenti.

Salmonella Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis sono state fagotipizzate con metodo standard dal Centro di Referenza Nazionale per le Salmonellosi.

Valutazione della sensibilità agli antibiotici

L'antibiotico-resistenza è stata verificata con il test di disco-diffusione (metodo Kirby-Bauer), effettuato su Mueller-Hinton Agar a partire da una sospensione batterica con torbidità pari a 0,5 McFarland. L'interpretazione è stata eseguita in base ai criteri forniti dal *Clinical Laboratory Standard Institute* (CLSI) (4).

Gli antibiotici saggiati in questo studio sono rappresentativi delle diverse classi: β-lattamici, tetracicline, chinoloni, aminoglicosidi, sulfonamidi, polipeptidi e fenicoli. Le molecole sono state selezionate sulla base della loro rilevanza per la salute pubblica e tenendo conto delle indicazioni dell'EFSA (11), della rete Enter-net Italia (5) e della letteratura disponibile. Gli antibiotici testati e le loro concentrazioni sono riportati nella Tabella II.

Tabella II. Sensibilità agli antibiotici (Metodo Kirby-Bauer), numero e percentuale di ceppi intermedi e resistenti.

Classe antimicrobica	Molecola attiva	Simbolo	Dose (μ g)	Ceppi I/R Fr % (No)
Aminoglicosidi	Amikacina	AK	30	0% (n=0)
	Streptomicina	S	10	46,6% (n=41)
	Neomicina	N	30	7,9% (n=7)
	Gentamicina	CN	10	0% (n=0)
	Kanamicina	K	30	4,5% (n=4)
β -lattamici	Ampicillina	AM	10	13,6% (n=12)
	Amoxicillina + acido clavulanico	AMC	30 (20 e 10)	7,9% (n=7)
	Cefotaxima	CTX	30	0% (n=0)
	Cefalotina	KF	30	1,0% (n=1)
Fenicoli	Cloramfenicolo	C	30	1,0% (n=1)
Polipeptidi	Colistina	CT	10	1,0% (n=1)
Chinoloni	Acido nalidixico	NA	30	3,4% (n=3)
	Enrofloxacin	ENR	5	3,4% (n=3)
	Ciprofloxacina	CIP	5	0% (n=0)
Sulfonamidi	Trimetoprim + sulfametoxazolo	SXT	25 (23,75 e 1,25)	1,0% (n=1)
Tetracicline	Oxitetraciclina	T	30	72,3% (n=68)
	Tetraciclina	TE	30	81,8% (n=72)

Fr = frequenza; I = ceppo intermedio; R = ceppo resistente.

Tabella III. Salmonella in Canidi, Mustelidi, Uccelli, Roditori e Ungulati dal 2002 al 2010: animali analizzati e positivi (numero e percentuale).

Anno	Canidi		Mustelidi		Uccelli		Roditori		Ungulati		Animali	
	Analizzati (No)	Positivi Fr (No)	Analizzati (No)	Positivi Fr (No)	Analizzati (No)	Positivi Fr (No)	Analizzati (No)	Positivi Fr (No)	Analizzati (No)	Positivi Fr (No)	Analizzati (No)	Positivi Fr (No)
2002	48	6,3% (n=3)	19	15,8% (n=3)	25	-	2	-	-	-	94	6,4% (n=6)
2003	56	7,1% (n=4)	27	22,2% (n=6)	126	1,6% (n=2)	-	-	4	-	213	5,6% (n=12)
2004	142	9,9% (n=14)	57	7,0% (n=4)	545	0,6% (n=3)	65	-	2	-	811	2,6% (n=21)
2005	263	6,8% (n=18)	35	5,7% (n=2)	84	3,5% (n=3)	30	-	26	3,8% (n=1)	438	5,5% (n=24)
2006	178	6,2% (n=12)	33	21,2% (n=7)	135	4,4% (n=6)	-	-	8	-	354	7,0% (n=25)
2007	175	5,1% (n=9)	17	5,9% (n=1)	131	3,1% (n=4)	1	-	-	-	324	4,3% (n=14)
2008	296	0,7% (n=2)	19	-	14	-	2	-	28	14,3% (n=4)	359	1,7% (n=6)
2009	46	-	5	20,0% (n=1)	36	13,9% (n=5)	-	-	1	-	88	6,8% (n=6)
2010	18	5,6% (n=1)	9	11,1% (n=1)	5	20,0% (n=1)	-	-	-	-	32	9,4% (n=3)
Total	1.222	5,2% (n=63)	221	11,3% (n=25)	1.101	2,2% (n=24)	100	-	69	7,2% (n=5)	2.713	4,3% (n=117)

Fr = frequenza.

Risultati

Ceppi di Salmonella

Durante il periodo di studio, 117 animali selvatici (63 Canidi, 25 Mustelidi, 24 Uccelli, 5 Ungulati) sono risultati positivi per *Salmonella* (4,3%). Nessuno di essi

ha mostrato segni clinici o lesioni patologiche riconducibili a salmonellosi.

Le frequenze di positività sono risultate pari a: 5,2% (63/1222) nei Canidi, 11,3% (25/221) nei Mustelidi, 2,2% (24/1101) negli Uccelli e 7,2% (5/69) negli Ungulati. Nessun roditore è risultato positivo per *Salmonella* (Tabella III).

Sono stati isolati 130 ceppi di *Salmonella*: 2 animali hanno permesso di evidenziare due differenti sottospecie di *Salmonella* nella stessa matrice e 11 animali, campionati sia per feci sia per linfonodo [una faina (*Martes foina*), 2 tassi (*Meles meles*) e 8 volpi], sono risultati positivi per entrambe le matrici (Tabelle IV e V).

Le sottospecie di *Salmonella* identificate sono risultate le seguenti: *S. enterica* subsp. *enterica* (n=91), *S. enterica* subsp. *houtenae* (n=13), *S. enterica* subsp. *diarizonae* (n=15), *S. enterica* subsp. *arizonae* (n=5), *S. enterica* subsp. *salamae* (n=3). Inoltre, salmonelle non specifiche sono state indicate dal laboratorio che ha identificato i sierotipi, rispettivamente, come "nuovo sierotipo" (n=2) e "sierotipo non tipizzabile" (n=1).

Salmonella Typhimurium è risultato il sierotipo più comunemente identificato, riscontrato in 7 volpi rosse, 4 tassi, 2 piccioni (*Columba livia*), una ghiandaia (*Garrulus glandarius*), un passero (*Passer domesticus*), una poiana (*Buteo buteo*), un gufo comune (*Asio otus*) e un barbagianni (*Tyto alba*).

La fagotipizzazione è stata effettuata per 10 salmonelle appartenenti al sierotipo Typhimurium e i fagotipi individuati sono stati: DT 104, DT 12, DT 193, DT 302 e solo un "non tipizzabile".

Tabella IV. Coinfezione da parte di ceppi o fagotipi differenti di *Salmonella* in uno stesso animale (4 casi individuati).

Specie animale	Feci	Linfonodo meseraico
Caso 1 Volpe rossa	<i>S. Typhimurium</i> DT12	<i>S. Typhimurium</i> DT104
Caso 2 Volpe rossa	<i>S. Veneziana</i>	<i>S. Kottbus</i>
Caso 3 Volpe rossa	<i>S. enterica</i> subsp. <i>salamae</i> E <i>S. Kimuenza</i>	Non analizzato
Caso 4 Biancone	<i>S. enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> gr. Z:50:z4,z23:-: E <i>S. Enteritidis</i> gr. D1-1,9,12:g,m:-: PT4	Non analizzato

Tabella V. Presenza di *Salmonella* in feci e linfonodi di Canidi e Mustelidi.

Anno	<i>Salmonella</i> in linfonodo e feci		<i>Salmonella</i> in linfonodo		<i>Salmonella</i> nelle feci	
	Mustelidi	Canidi	Mustelidi	Canidi	Mustelidi	Canidi
2002	-	-	3	2	-	-
2003	2	2	1	1	-	1
2004	-	1	1	6	-	5
2005	2	-	1	12	-	1
2006	1	1	5	8	-	1
2007	-	2	-	2	-	4
2008	-	-	-	1	-	1
2009	-	-	-	-	1	-
2010	-	-	1	-	-	1
Totale	5	6	12	32	1	14

Salmonella Enteritidis è stata rilevata in cinque animali: 2 volpi rosse, un biancone (*Circaetus gallicus*), un allocco (*Strix aluco*), un gabbiano (*Larus* spp.). In tre casi il fagotipo è risultato PT4.

Gli altri sierotipi di *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sono riportati in Tabella VI.

Resistenza agli antibiotici

Ottantotto ceppi sono stati testati per verificare la sensibilità agli antibiotici. Quasi tutti i ceppi (97,7%) si sono mostrati intermedi (I) o resistenti (R) ad almeno una classe di antibiotici. I valori maggiori sono stati osservati per la classe delle tetracicline.

Le percentuali di resistenza alle singole molecole è riportata in Tabella II. Soltanto due ceppi di

Tabella VI. Sierotipi di *Salmonella enterica* subsp. *enterica*.

Sierotipo	No	Specie
Alfort	1	Volpe rossa
Bonariensis	3	Volpe rossa, faina
Bredeney	1	Volpe rossa
Braenderup	1	Volpe rossa
Brancaster	1	Gheppio
Coeln	5	Volpe rossa, tasso, faina
Corvallis	1	Tasso
Djugu	1	Volpe rossa
Farsta	1	Piccione
Galiema	1	Cinghiale
Heidelberg	3	Volpe rossa
Hessarek	1	Volpe rossa
Hiduddify	1	Volpe rossa
Infantis	4	Volpe rossa, faina, cornacchia, cervo
Kibi	2	Volpe rossa, faina
Kimuenza	1	Volpe rossa
Kottbus	5	Volpe rossa, cinghiale
Livingstone	2	Volpe rossa, assiolo
Loanda	1	Assiolo
Massenya	1	Tasso
Mikavasima	1	Volpe rossa
Muenchen	3	Volpe rossa, tasso
Napoli	2	Tasso
Nordufer	2	Tasso
Ohio	1	Aquila reale
Strourbridge	1	Gallo forcello
Suberu	1	Allocco
Thompson	2	Cinghiale
Tsevie	1	Piccione
Tshiongwe	2	Volpe rossa
Veneziana	8	Volpe rossa, biancone, falco pellegrino
Wil	1	Volpe rossa

Table VII. Schema dei ceppi di *Salmonella* multi-resistenti (MDR).

Sierotipo	Specie animale	Schema di MDR
<i>S. Typhimurium</i> DT 104	Volpe rossa	AM-C-S-T-TE
<i>S. Typhimurium</i> DT 193	Gufo comune	AM-AMC-N-S-T-TE
<i>S. Typhimurium</i>	Poiana	AM-AMC-S-T-TE
	Volpe rossa	AM-NA-ENR-S-TE
	Volpe rossa	AM-NA-ENR-S-T-TE
	Volpe rossa	S-T-TE
<i>S. Brancaster</i>	Gheppio	AM-AMC-NA-N-S-K-T-TE-SXT
<i>S. Heidelberg</i>	Volpe rossa	AM-AMC-T-TE
<i>S. Bredeney</i>	Volpe rossa	N-S-T-TE
<i>S. Ohio</i>	Aquila reale	AM-AMC-S-T-TE
Nuovo sierotipo	Volpe rossa	AM-S-T-TE
Non tipizzabile	Faina	AM-AMC-KF-ENR-T-TE

Salmonella Enteritidis sono risultati sensibili agli antibiotici (S).

Trentatré ceppi, definiti multi-resistenti (MDR), sono risultati intermedi o resistenti a due o più classi di antibiotici (Tabella VII).

Discussione

Lo studio ha analizzato la presenza di *Salmonella* nella fauna selvatica dell'Italia nord-occidentale (Canidi, Mustelidi, Ungulati e Uccelli).

Una ricerca simile, effettuata nei Paesi Baschi (20), per un breve periodo (2001-2002) e su un basso numero di animali, ha evidenziato come la prevalenza di *Salmonella* nei Mammiferi selvatici sia comparabile a quella degli Uccelli selvatici. Nella ricerca citata, in linea con quanto rilevato nel presente studio, gli animali positivi non hanno mostrato sintomi di salmonellosi. Tuttavia, le frequenze di positività rilevate nel presente studio su Mammiferi e Uccelli sono entrambe inferiori a quelle riportate da Millán et al. (rispettivamente, 5,8% vs 7,2% e 2,2% vs 8,5%) (20).

Per quanto riguarda i Canidi e l'infezione da *Salmonella* si riporta uno studio sulle volpi in Norvegia risultate infettate dallo stesso sierotipo *Salmonella* Typhimurium responsabile di focolai nei Passeriformi (14). Diversamente, nello studio effettuato non è rilevabile una correlazione tra ceppi di *Salmonella* Typhimurium isolati da specie animali differenti e non si riportano focolai di salmonellosi negli Uccelli. Tuttavia, alcuni sierotipi di *Salmonella* (*S. Infantis*, *S. Kottbus*, *S. Livingstone*, *S. Veneziana*) sono stati riscontrati in animali connessi tra loro nella catena alimentare {volpe rossa, faina, rapaci [biancone, assiolo (*Otus scops*), falco pellegrino (*Falco peregrinus*)] e cinghiale (*Sus scrofa*)} (Tabella VI).

Il comportamento e le abitudini alimentari degli animali selvatici influenzano la probabilità di essere infettati da *Salmonella* (9). In particolare, tassi, volpi,

uccelli rapaci e cinghiali potrebbero acquisire *Salmonella* attraverso lo scavenging su carcasse contaminate o cercando tra i rifiuti (20).

Un'indagine su salmonelle non tifoidee è stata realizzata su gruppi sociali di tassi nel Regno Unito, rivelando un'elevata prevalenza del batterio (72%) (29). Tali risultati, anche se in apparenza differenti, sono comparabili ai dati del presente studio che mostrano un'elevata positività nonostante la bassa dimensione campionaria. Questa frequenza può essere spiegata da alcuni aspetti biologici dei tassi: animali che condividono tane e latrine con dieta onnivora che include Insetti, piccoli Mammiferi e Uccelli.

Uno studio è stato condotto su cinghiale, capriolo (*Capreolus capreolus*), cervo (*Cervus elaphus*) e volpe rossa, nel periodo 2005-2009, nelle aree delle regioni Lombardia ed Emilia Romagna: *Salmonella* è stata isolata da cinghiali in una percentuale variabile dal 3,9% al 26%, in relazione all'area geografica di campionamento (18). Solo occasionalmente il batterio è stato ritrovato in capriolo, cervo o volpi rosse. La sierotipizzazione ha rivelato la presenza di *S. Typhimurium*, *S. Napoli*, *S. Veneziana*, *S. Mishmarhaeme* e, in particolare, di *S. Thompson* nei cinghiali, similmente ai risultati del presente studio.

Esistono innumerevoli ricerche sulla presenza di *Salmonella* negli Uccelli selvatici. In Spagna, Reche et al. (24) hanno riportato la prevalenza del 4% nei rapaci, principalmente di *S. Typhimurium* DT 104. In un altro studio, sempre su rapaci, è stata riportata una percentuale ancora maggiore di *Salmonella* (10%) (19). La positività rilevata nel presente studio, nel complesso delle specie di Uccelli indagati, è stata inferiore (2,2%), tuttavia, metà degli isolamenti sono risultati riferibili a Uccelli rapaci (n=12/24).

Come riportato da Vieira-Pinto et al. (28) e Hilbert et al. (16), la selvaggina [nel presente studio: cinghiali, cervo e gallo forcello (*Tetrao tetrix*)] potrebbe costituire una fonte di infezione per l'uomo quando gli spari nell'addome o una scorretta eviscerazione causino contaminazione fecale delle carni destinate al consumo.

Un'ulteriore fonte di infezione per l'uomo potrebbe essere la scorretta manipolazione degli animali vivi presso i centri di recupero della fauna selvatica, specialmente degli Uccelli selvatici [nel presente studio: aquila reale (*Aquila chrysaetos*), assiolo, gheppio (*Falco tinnunculus*), allocco, colombo, gufo comune (*Asio otis*) e passerolo].

Tutti gli animali campionati nel presente studio possono essere considerati portatori sani di *Salmonella* per l'assenza di lesioni patologiche riconducibili a salmonellosi (enterite emorragica, epatite glaucomatosa, ecc.).

Tra le volpi e i Mustelidi positivi, analizzati per due matrici, la maggior parte sono risultati positivi solo

per il linfonodo meseraico, non per le feci (n=44). Questo aspetto indica che gli stessi animali al momento del campionamento, pur essendo portatori di *Salmonella*, non sono escretori. È probabile che fattori stressanti (avverse condizioni climatiche, carenze nutrizionali, altre malattie infettive) favoriscano il trasferimento di *Salmonella* nelle feci rendendo l'animale escretore.

La fauna selvatica può essere un ricco serbatoio di una grande varietà di sierotipi, la maggior parte dei quali da considerare non patogeni. Tuttavia, alcuni geni che codificano per fattori di virulenza, localizzati su plasmidi, possono essere trasferiti da un ceppo all'altro causando un incremento della patogenicità di alcuni sierotipi (1). Questi ultimi, inoltre, possono preferire specie animali differenti: alcuni sono considerati specie-specifici, altri ubiquitari (13). La presenza di plasmidi di virulenza in sierotipi adattati all'ospite suggerisce che l'acquisizione orizzontale della virulenza può aver espanso l'assortimento di ospiti di *Salmonella* (25).

Tra i ceppi del microrganismo isolati nel presente studio, il 32% (n=41/130), menzionato nei rapporti Enter-net Italia 2002-2009 come responsabile di infezioni umane, è risultato costituito da: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg*, *S. Muenchen*, *S. Thompson*, *S. Bredeney*, *S. Napoli* e *S. Infantis* (7, 8).

In particolare, *S. Napoli* è un sierotipo emergente in Italia. Uno studio recente suggerisce che il principale serbatoio del microrganismo possa essere l'ambiente (12), anche se Graziani *et al.* non hanno identificato una specifica fonte di esposizione per l'uomo. La presente indagine indica che il tasso possa rappresentare una fonte sostanziale di *S. Napoli*.

Il sierotipo *S. Thompson* è stato associato a un focolaio di salmonellosi causato da rucola contaminata da acque di irrigazione non potabili (21). La fauna selvatica, in particolare gli Uccelli, potrebbero causare la contaminazione delle colture vegetali, direttamente con materiale fecale o indirettamente con la contaminazione delle acque di irrigazione (15).

In uno studio precedente (6), effettuato nella regione Valle d'Aosta, è stato osservato come le distribuzioni spaziali stimate di carnivori ed esseri umani infettati da *Salmonella* fossero parzialmente sovrapposte, considerando che *S. Typhimurium*, *S. Heidelberg* e *S. Infantis* sono state isolate in entrambi. Questo aspetto può essere spiegato dal comportamento sinantropico delle specie selvatiche che vivono in prossimità di aree residenziali, zone agricole e discariche di rifiuti. La dieta estremamente diversificata di cinghiali, tassi e volpi aumenta il rischio di acquisire *Salmonella* e spiega l'ampia diversità di sierotipi (9).

L'analisi dei dati ha rivelato la presenza di una diffusa antibiotico-resistenza di *Salmonella* in Italia nord-occidentale. La diffusione di batteri responsabili di

zoonosi resistenti agli antibiotici è un aspetto rilevante per il trattamento delle infezioni umane per la capacità di compromettere l'efficacia delle terapie.

Gli Stati Membri dell'Unione Europea raccolgono e analizzano un'ampia varietà di campioni animali e alimentari per monitorare la presenza di batteri antibiotico-resistenti responsabili di zoonosi, generalmente *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia* ed *Enterococcus*. Non esistono dati sulla resistenza agli antibiotici nella fauna selvatica da confrontare con i risultati del presente studio. I soli dati disponibili sono quelli riportati dall'EFSA riguardanti il bestiame (da 0,2% a 75%) (11). Il tasso di resistenza agli antibiotici nella fauna selvatica, emerso nel presente studio (97,7%), risulta maggiore di quello indicato dal rapporto EFSA, tuttavia i dati devono essere correlati alla numerosità campionaria.

I valori di resistenza più elevati sono stati registrati nei confronti delle tetracicline, verosimilmente per l'impiego frequente in medicina veterinaria, in circa i due terzi dei regimi terapeutici (26). In aggiunta, diversamente dai dati europei, i risultati hanno mostrato una totale sensibilità dei ceppi a cefotaxime e ciprofloxacina.

Tra le Salmonelle MDR, un caso significativo è rappresentato da *Salmonella* Brancaster isolata da un gheppio, che ha rivelato di essere un sierotipo intermedio o resistente verso ampicillina, amoxicillina + acido clavulanico, acido nalidixico, neomicina, streptomina, kanamicina, oxitetraciclina, tetraciclina e trimetoprim + sulfametoxazolo. Le informazioni epidemiologiche relative a questo sierotipo sono piuttosto limitate. La letteratura indica isolamenti sporadici: *Salmonella* Brancaster è stata riportata in Toscana nel 1985 e nel 1991 da campioni umani (23) ma senza fornire dati sulla sensibilità antimicrobica.

Salmonella Typhimurium DT 104, considerata un agente patogeno emergente, ha mostrato un elevato numero di resistenze rispetto agli altri fagotipi. Non è noto se gli isolati di DT 104 possiedano virulenza maggiore oppure se essa stessa sia associata a geni di resistenza multipla. Se i geni relativi alla virulenza fossero associati a quelli dell'antibiotico-resistenza, essa potrebbe essere selezionata dall'uso di antibiotici (2).

Cause probabili che promuovono la selezione di ceppi antibiotico-resistenti sono: i trattamenti massivi effettuati negli allevamenti per la terapia e la profilassi delle infezioni batteriche, una posologia inaccurata e tempi di trattamento inadeguati. Anche l'uso di mangimi addizionati con antibiotici, a dosaggi sub-terapeutici, come promotori della crescita, possono produrre resistenza verso le molecole in uso e verso quelle strutturalmente e farmacologicamente correlate (cross-resistenza) (13).

Conclusioni

È necessaria una costante vigilanza su *Salmonella* nella fauna selvatica e sulla sua sensibilità agli antibiotici per identificare precocemente i ceppi responsabili di zoonosi, individuare nuovi profili di resistenza e valutare le misure di controllo. I risultati ottenuti in questo studio sottolineano la necessità di coordinare al meglio organizzazioni e reti che si occupano di sicurezza alimentare, salute animale e umana.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano: la dott.ssa Lucia Decastelli della S.C. Controllo alimenti e igiene delle produzioni, IZS Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta, per l'identificazione dei sierotipi; la dott.ssa Antonia Ricci del Centro di Riferenza Nazionale per le Salmonellosi, IZS delle Venezie, per la fagotipizzazione; il dott. Roberto Pellizzaro del Centro di Recupero della Valle d'Aosta e la dott.ssa Elena Ghelfi del Parco Fluviale del Po e dell'Orba, il

Corpo Forestale dello Stato e l'Ufficio Fauna della Regione Autonoma Valle d'Aosta per il campionamento; la dott.ssa Cristina Banchi e la dott.ssa Raffaella Spedicato per il supporto tecnico e analitico.

Finanziamenti

Questo studio è stato in parte finanziato dal Ministero della Salute attraverso il Progetto di ricerca PLV 25/07 RC "Epidemiosorveglianza in CRAS e CRASE: monitoraggio sanitario di rapaci e passeriformi per la messa a punto di un sistema di prevenzione verso alcune zoonosi (infezione da *Chlamydia* e *Salmonella*, influenza aviaria, Newcastle disease e West Nile disease) e parassitosi della avifauna selvatica" e il Progetto di ricerca IZS PLV 009/00 "Valutazione sulla presenza di alcune patologie nella volpe e nei mustelidi con possibili ripercussioni sulla salute dell'uomo e degli animali domestici".

Bibliografia

- Boyd E.F. & Hartl D.L. 1997. Recent horizontal transmission of plasmids between natural populations of *E. coli* and *Salmonella enterica*. *J Bacteriol*, **179**, 1622-1627.
- Briggs C.E. & Fratamico P.M. 1999. Molecular characterization of an antibiotic resistance gene cluster of *Salmonella typhimurium* DT104. *Antimicrob Agents Chemother*, **43**, 846-849.
- Centro di Riferenza Nazionale per le Salmonellosi. 2011. Enter-Vet Report 2009. (http://www.izsvenezie.it/images/stories/Pdf/Salmonelle/report_entervet_2009new.pdf ultimo accesso 24 ottobre 2012).
- Clinical Laboratory Standard Institute. 2008. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated From Animals, Approved Standard. 3rd Ed. CLSI document M31-A3. Wayne, PA, 99 p.
- Dionisi A.M., Filetici E., Oczwazek S., Arena S., Benedetti I., Lucarelli C., Luzzi I., Scavia G., Minelli F., Ciaravino G., Marziano M.L., Caprioli A. & Italy Enter-net Laboratories. 2011. ENTER-NET: Sorveglianza delle infezioni trasmesse da alimenti e acqua. Rapporto dell'attività 2007-2009. *Not Ist Super Sanità*, **24**, 3-10.
- Domenis L., Orusa R., Lo Valvo T., Balestrieri A., Ferrari A. & Robetto S. 2004. Wild carnivores as bioindicators of *Salmonella* sp. infections in Aosta Valley-preliminary results. Abstract Book of The Sixth Conference of the European Wildlife Disease Association TSE and CWD Workshop, 68 p.
- Enter-net Italia a. Sorveglianza delle infezioni da *Salmonella*. Dati storici dal 2000 al 2006. (<http://www.iss.it/binary/salm/cont/4.e%20%20Dati%20SALMONELLA%202000-2006.1206455668.pdf> ultimo accesso 24 ottobre 2012).
- Enter-net Italia b. Sorveglianza delle infezioni da *Salmonella*. Dati storici dal 2007 al 2009. (http://www.iss.it/binary/ente/cont/4f_Dati_SALMONELLA_2007_2009.pdf ultimo accesso 24 ottobre 2012).
- Euden P.R. 1990. *Salmonella* isolates from wild animals in Cornwall. *Br vet J*, **146**, 228-232.
- European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control; The European Union. 2012. Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2010. *EFSA Journal*, **10**, 2597.
- European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control. 2012. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2010. *EFSA Journal*, **10**, 2598.
- Graziani C., Busani L., Dionisi A.M., Caprioli A. Ivarsson S., Hedenström I. & Luzzi I. 2011. Virulotyping of *Salmonella enterica* Serovar Napoli strains isolated in Italy from human and nonhuman sources. *Foodborne Pathog Dis*, **8**, 997-1003.
- Graziani C., Galetta P., Busani L., Dionisi A.M., Filetici E., Ricci A., Caprioli A. & Luzzi I. 2005. Infezioni da *Salmonella*: diagnostica, epidemiologia e sorveglianza. Rapporti ISTISAN, 05/27, 1-49.
- Handeland K., Nesse L.L., Lillehaug A., Vikøren T., Djønne B. & Bergsjø B. 2008. Natural and experimental *Salmonella* Typhimurium infections in foxes (*Vulpes vulpes*). *Vet Microbiol*, **132**, 129-134.
- Hanning I.B., Nutt J.D. & Ricke S.C. 2009. Salmonellosis outbreaks in the United States due to fresh produce:

- sources and potential intervention measures. *Foodborne Pathog Dis*, **6**, 635-648.
16. Hilbert F., Smulders F.J.M., Chopra-Dewasthaly R. & Paulsen P. 2011. *Salmonella* in the wildlife-human interface. *Food Res Int*, **45**, 603-608.
 17. Hughes L.A., Shopland S., Wigley P., Bradon H., Leatherbarrow A.H., Williams N.J., Bennet M., de Pinna E., Lawson B., Cunningham A.A. & Chantrey J. 2008. Characterisation of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium isolates from wild birds in northern England from 2005-2006. *BMC Vet Res*, **4**, 4-13.
 18. Magnino S., Frasnelli M., Fabbi M., Bianchi A., Zaroni M.G., Meriardi G., Pacciarini M.L. & Gaffuri A. 2011. The monitoring of selected zoonotic diseases of wildlife in Lombardy and Emilia-Romagna, northern Italy. In *Game meat hygiene in focus: Microbiology, epidemiology, risk analysis and quality assurance*, (P. Paulsen, A. Bauer, M. Vodnansky, R. Winkelmayr & F.J.M. Smulders, eds.). Wageningen, Wageningen Academic Publishers, 223-244.
 19. Molina-Lopez R.A., Valverdú N., Martin M., Mateu E., Obon E., Cerdà-Cuellar M. & Darwich L. 2011. Wild raptors as carriers of antimicrobial-resistant *Salmonella* and *Campylobacter* strains. *Vet Rec*, **168**, 565b-567b.
 20. Millán J., Aduriz G., Moreno B., Juste R.A. & Barral M. 2004. *Salmonella* isolates from wild birds and mammals in the Basque Country (Spain). *Rev sci tech Off int Epiz*, **23**, 905-911.
 21. Nygård K., Lassen J., Vold L., Adersson Y., Fisher I., Löfdahl S., Threlfall J., Luzzi I., Peters T., Hampton M., Torpdahl M., Kapperud G. & Aavitsland P. 2008. Outbreak of *Salmonella* Thompson infections linked to imported rucola lettuce. *Foodborne Pathog Dis*, **5**, 165-173.
 22. Office International des Épizooties: OIE (World Organisation for Animal Health). 2010. Salmonellosis. OIE Terrestrial Manual, Chapter 2.9.9.
 23. Pacini R., Quagli E., Galassi R., Tozzi E. & Malloggi L. 1994. Dieci anni di sorveglianza epidemiologica a Livorno (I parte). Studio epidemiologico sulle salmonelle isolate da portatori sani, nell'area livornese, dal 1984 al 1993. *Bollettino di Microbiologia e Indagini di Laboratorio*, **14**, 9-14.
 24. Reche M.P., Jiménez P.A., Alvarez F., García de los Ríos J.E., Rojas A.M. & de Pedro P. 2003. Incidence of *Salmonellae* in captive and wild free-living raptorial birds in central Spain. *J Vet Med B*, **50**, 42-44.
 25. Rotger R. & Casadesús J. 1999. The virulence plasmids of *Salmonella*. *Internatl Microbiol*, **2**, 177-184.
 26. Schwarz S., Kehrenberg C. & Walsh T.R. 2001. Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *Int J Antimicrob Agents*, **17**, 431-437.
 27. Tizard I. 2004. Salmonellosis in Wild Birds. *Semin Avian Exot Pet*, **13**, 50-66.
 28. Vieira-Pinto M., Morais L., Caleja C., Themudo P., Torres C., Igrejas G., Poeta P. & Martins C. 2011. *Salmonella* sp. in game (*Sus scrofa* and *Oryctolagus cuniculus*). *Foodborne Pathog Dis*, **8**, 739-740.
 29. Wilson J.S., Hazel S.M., Williams N.J., Phiri A., French N.P. & Hart C.A. 2003. Nontyphoidal *Salmonellae* in United Kingdom badgers: prevalence and spatial distribution. *Appl Environ Microbiol*, **69**, 4312-4315.