



 *Listeria monocytogenes*  
Laboratorio Nazionale di Riferimento



# ***Focolaio di listeriosi nella Regione Marche: caratterizzazione dei ceppi***

**IZS Abruzzo e Molise - LNR**  
Vicedalia Acciari

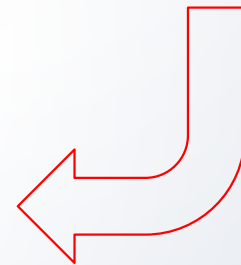
**\* IZS Umbria e Marche**  
**\* Giuliana Blasi**

**Seminario LNR per *Listeria monocytogenes*, 15 – 16 dicembre 2015 - Teramo**

Da alcuni anni la sezione di Fermo dell'IZS UM rappresenta un punto di riferimento per la raccolta e gestione dei ceppi di *Listeria monocytogenes* isolati:

- da alimenti e campioni ambientali prelevati dai Dipartimenti di Prevenzione nell'ambito delle attività del Controllo Ufficiale,
- da casi di listeriosi umana,
- da alimenti prelevati in ambito di autocontrollo,
- da attività di ricerca.

**1600**  
ceppi



# Attività del laboratorio

- Identificazione molecolare mediante PCR *end point* per la conferma di specie (*Barocci et al., 2008*).
- Definizione del profilo di patogenicità mediante PCR *end point* riferito a 7 geni target: *actA*, *iap*, *plcA*, *prfA*, *plcB*, *inlA* e *inlB* (*Jaradat et al. 2002; Rawool et al. 2007*).
- Studio delle caratteristiche di antibiotico-resistenza.
- PFGE *in progress*: collaborazione con l'ISS e da aprile 2015 con il LNR.





<https://sorveglianza.izs.it/seap/index.jsp>

In conformità a quanto indicato nella nota Ministeriale n.11560 del 26.03.13, provvede all'invio degli isolati all'ISS ed al LNR per *L. monocytogenes* ed all'inserimento delle relative informazioni nel SEAP: sistema informativo gestito dall'IZS AM per conto del Ministero della Salute.



# Un po' di cronistoria

- **18.06.15:** esecuzione PFGE (Ascl) di 10 isolati  
- 6 clinici e 4 alimentari associati
- **23.06.15:** esecuzione PFGE (Apal) ed invio  
all'ISS dei ceppi
- **25.06.15:** analisi dei profili con software  
Bionumerics (ISS)



Conferma  
dell'appartenenza ad  
un unico cluster di  
infezione di 5 ceppi  
clinici

- **29.06.15:** primo invio al LNR di 10 isolati da casi  
clinici e 22 da alimenti (2015)



A seguito dell'epidemia ad oggi sono stati inviati al LNR **289** ceppi di *L. monocytogenes* così distribuiti:

Anno isolamento	Isolati clinici	Alimenti	Ambiente
2014	8	104	2
2015	22 (21 Marche* - 1 Umbria)	139	14
<b>Totale</b>	<b>29</b>	<b>243</b>	<b>16</b>

\* 20 casi clinici

# Clinici

Laboratorio	Referente
A.O. Ospedali Riuniti Marche Nord - Fano	Dr.ssa Barbara Pieretti
A.O. Universitaria Ospedali Riuniti - Ancona	Dr.ssa Esther Manso
Lab. analisi Fabriano (ASUR – AV 2)	Dr.ssa Nadia Maria Curzi
Lab. analisi Civitanova Marche (ASUR – AV 3)	Dr.ssa Luciana Gironacci
Lab. analisi Fermo (ASUR - AV 4)	Dr.ssa Marisiana Granatelli



# Ambiente

Anno	Tipo di controllo	Campioni (n. ceppi)	Tipo di superfici (n. ceppi)
2014	Controllo in seguito a NC	7 (7)	Bocca impastatrice piccola
2015			Impastatrice
			Rubinetto
			Pozzetto scarico
			Canale scarico
			Pozzetto scarico
Scopettone tira acqua			
2015	Controllo su sospetto (Listeriosi)	5 (9)	Piano acciaio preparazione (4)
			Lavandino acciaio
			Acciarino non in uso
			Poggia-coltelli non in uso
			Carrello coppa in abbattitore (2)



# Alimenti - 2014

Tipologia di controllo	N. Alimenti (n. ceppi)	Tipo di alimenti (n. ceppi)
Controllo regolare (PAMA)	23 (95)	PbL : 4 (5)
		PbC: 19 (90)
Controllo su sospetto (Listeriosi)	1 (1)	PbC: 1
Controllo in seguito a NC	4 (8)	PbL: 4

**PbL:** prodotto a base di latte

**PbC:** prodotto a base di carne



# Alimenti - 2015

Tipologia di controllo	N. Alimenti (n. ceppi)	Tipo di alimenti (n. ceppi)
Controllo regolare (PAMA)	28 (113)	PbL : 6 (6)
		PbC: 22 (107)
Controllo su sospetto (Listeriosi)	6 (16)	PbL : 1
		PbC: 5 (15)
Controllo in seguito a NC	2 (10)	PbL: 2

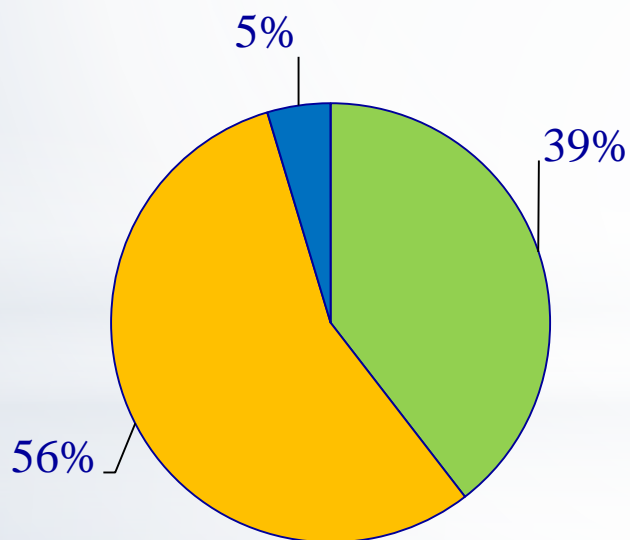
**PbL:** prodotto a base di latte

**PbC:** prodotto a base di carne



I 64 campioni di alimenti, 17 (27%) di formaggi e 47 (73%) di prodotti a base di carne, sono stati prelevati presso imprese di produzione, esercizi per la vendita al dettaglio, ristorazione e domicili privati.

■ OSA registrati      ■ Osa riconosciuti  
■ Domicili privati



Prodotti a base di carne	N. Campioni (n. ceppi)
Coppa	6 (33)
Galantina	2 (4)
Salame fresco	20 (104)
Salame	16 (63)
Altro*	3 (9)

\*: carne salada, panino con hamburger, petto tacchino arrosto

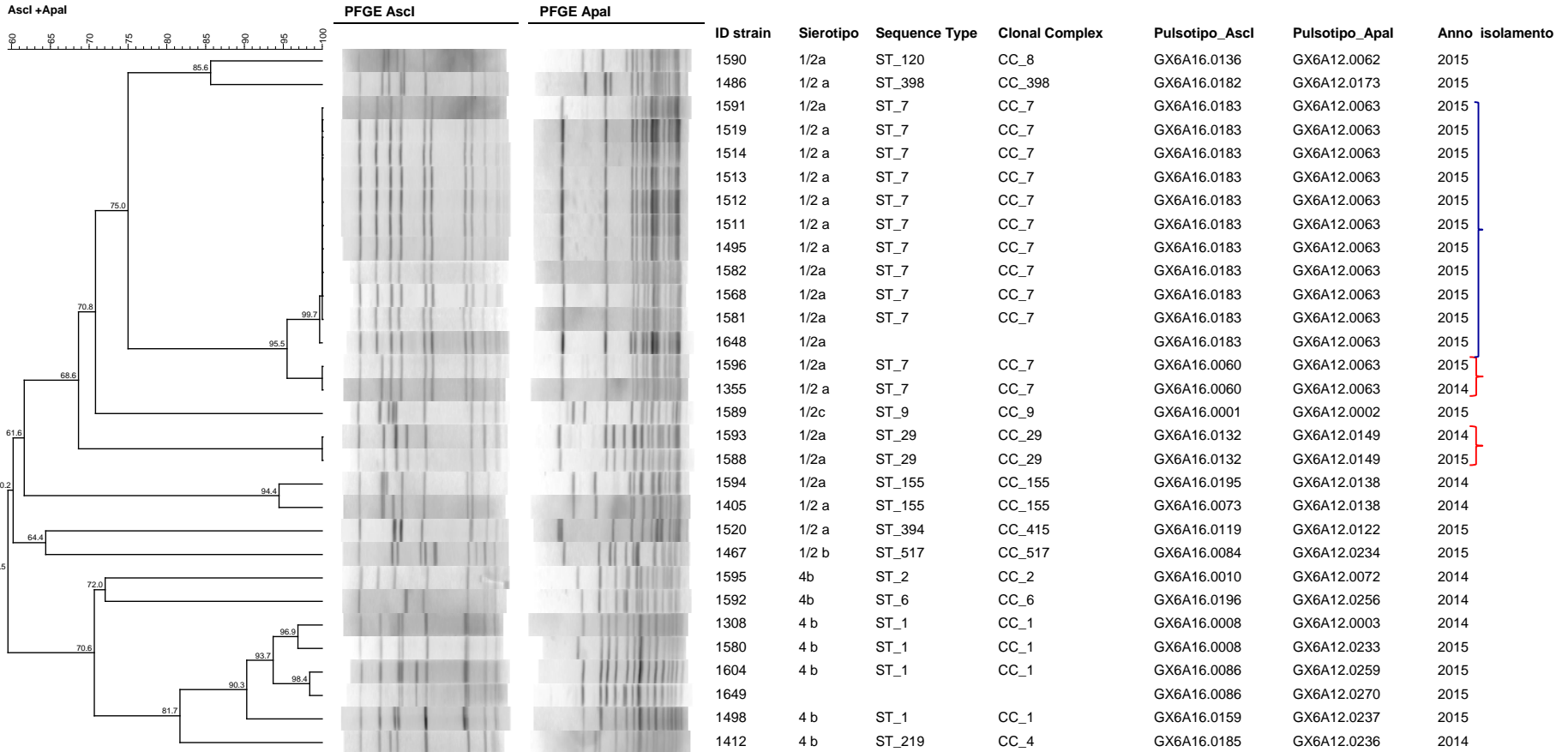



*Listeria monocytogenes*  
 Laboratorio Nazionale di Riferimento



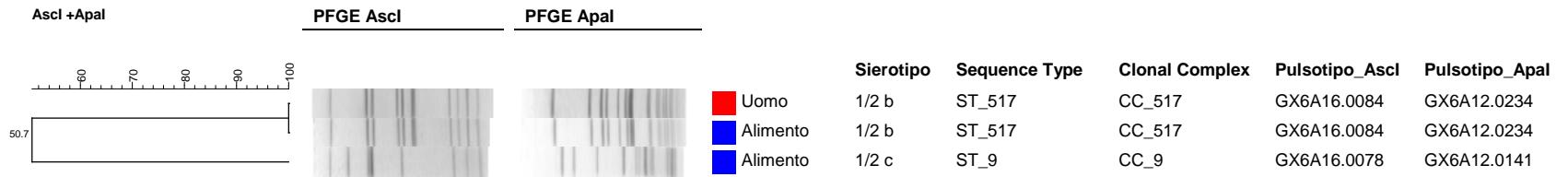


# Casi clinici 2014\_2015

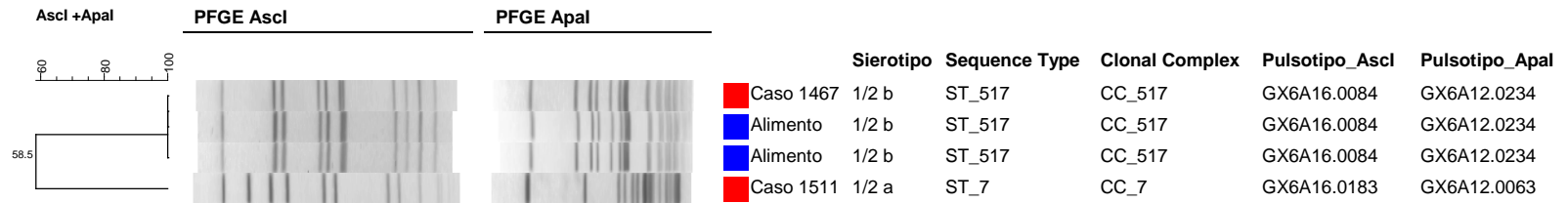


# Ceppi isolati nell'ambito delle indagini epidemiologiche

## Caso clinico 1467

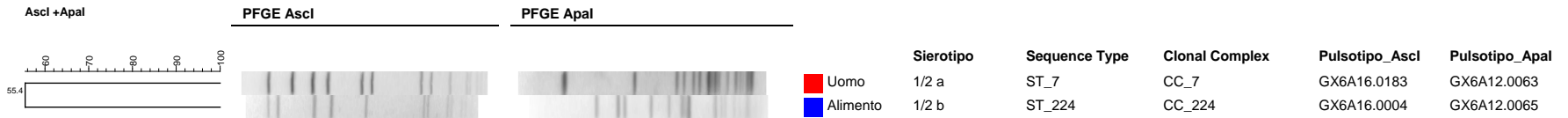


## Caso clinico 1511



# Ceppi isolati nell'ambito delle indagini epidemiologiche

## Caso clinico 1514



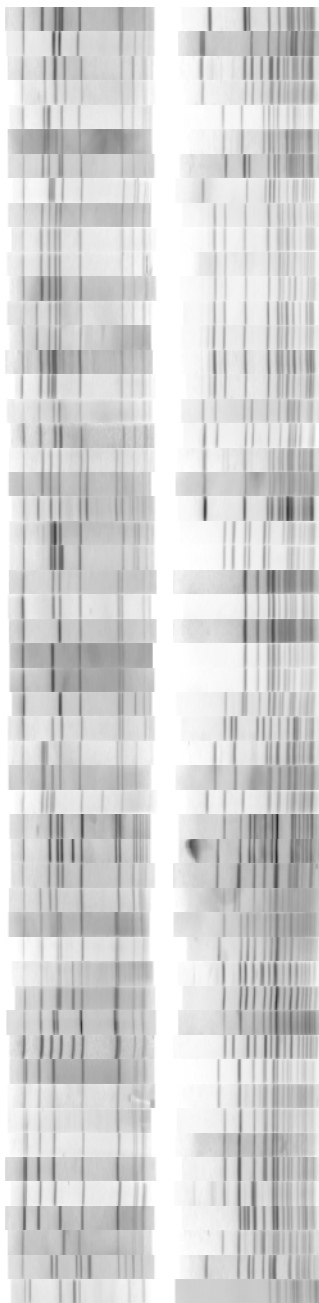
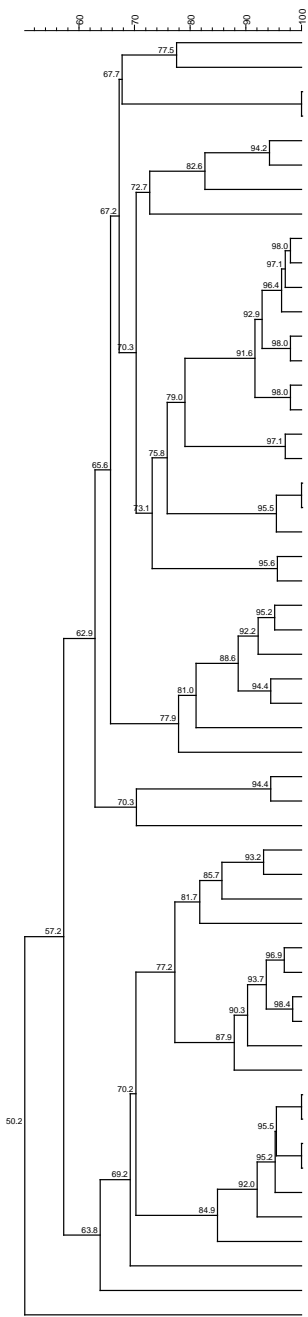
## Caso clinico 1581





# Ceppi alimenti 2014

- **Sierotipi prevalenti:**
  - 1/2a (51,9 %);
  - 1/2c (23,6 %);
  - 1/2b (5,7 %);
  - 4b (6,6 %).
- **ST e CC prevalenti:**
  - ST 121\_CC 121 (36,8% dei ceppi)
  - ST 9\_CC 9 (23,6%)
  - ST 2\_CC 2 (13,2%)



	Pulsotipo_Ascl	Pulsotipo_Apal	Anno	isolamento N°
Alimenti	GX6A16.0101	GX6A12.0265	2014	1
Umani	GX6A16.0119	GX6A12.0122	2015	1
Umani	GX6A16.0132	GX6A12.0149	2014	1
Umani	GX6A16.0132	GX6A12.0149	2015	1
Alimenti	GX6A16.0158	GX6A12.0062	2014	1
Umani	GX6A16.0136	GX6A12.0062	2015	1
Umani	GX6A16.0182	GX6A12.0173	2015	1
Alimenti	GX6A16.0047	GX6A12.0150	2014	1
Alimenti	GX6A16.0007	GX6A12.0002	2014	7
Alimenti	GX6A16.0007	GX6A12.0001	2014	8
Alimenti	GX6A16.0007	GX6A12.0050	2014	4
Alimenti	GX6A16.0007	GX6A12.0002	2014	1
Alimenti	GX6A16.0028	GX6A12.0001	2014	2
Alimenti	GX6A16.0028	GX6A12.0002	2014	2
Alimenti	GX6A16.0001	GX6A12.0001	2014	1
Umani	GX6A16.0001	GX6A12.0002	2015	1
Alimenti	GX6A16.0005	GX6A12.0144	2014	2
Alimenti	GX6A16.0167	GX6A12.0144	2014	1
Umani	GX6A16.0060	GX6A12.0063	2015	1
Umani	GX6A16.0060	GX6A12.0063	2014	1
Umani	GX6A16.0183	GX6A12.0063	2015	10
Alimenti	GX6A16.0203	GX6A12.0268	2014	1
Alimenti	GX6A16.0202	GX6A12.0243	2014	1
Alimenti	GX6A16.0006	GX6A12.0042	2014	15
Alimenti	GX6A16.0006	GX6A12.0258	2014	1
Alimenti	GX6A16.0065	GX6A12.0267	2014	1
Alimenti	GX6A16.0002	GX6A12.0103	2014	14
Alimenti	GX6A16.0002	GX6A12.0048	2014	6
Alimenti	GX6A16.0137	GX6A12.0008	2014	2
Umani	GX6A16.0006	GX6A12.0257	2014	6
Umani	GX6A16.0195	GX6A12.0138	2014	1
Umani	GX6A16.0073	GX6A12.0138	2014	1
Alimenti	GX6A16.0197	GX6A12.0036	2014	5
Alimenti	GX6A16.0011	GX6A12.0204	2014	4
Alimenti	GX6A16.0071	GX6A12.0263	2014	1
Alimenti	GX6A16.0175	GX6A12.0224	2014	1
Umani	GX6A16.0185	GX6A12.0236	2014	1
Umani	GX6A16.0008	GX6A12.0003	2014	1
Umani	GX6A16.0008	GX6A12.0233	2015	1
Umani	GX6A16.0086	GX6A12.0270	2015	1
Umani	GX6A16.0086	GX6A12.0259	2015	1
Umani	GX6A16.0159	GX6A12.0237	2015	1
Umani	GX6A16.0105	GX6A12.0262	2014	1
Alimenti	GX6A16.0010	GX6A12.0072	2014	2
Umani	GX6A16.0010	GX6A12.0072	2014	1
Umani	GX6A16.0010	GX6A12.0073	2014	1
Umani	GX6A16.0010	GX6A12.0073	2014	2
Alimenti	GX6A16.0010	GX6A12.0073	2014	7
Alimenti	GX6A16.0010	GX6A12.0264	2014	1
Alimenti	GX6A16.0131	GX6A12.0269	2014	1
Umani	GX6A16.0196	GX6A12.0256	2014	1
Umani	GX6A16.0084	GX6A12.0234	2015	1
Alimenti	GX6A16.0201	GX6A12.0266	2014	2

2014

106 ceppi

- 13,2 % (GX6A16.0002/GX6A12.0103)
- 14,1 % (GX6A16.0006/GX6A12.0042)

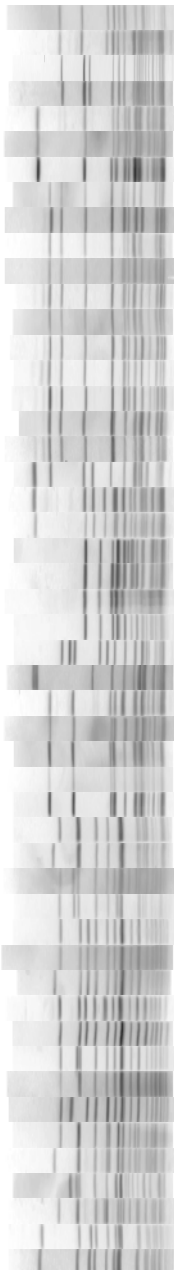
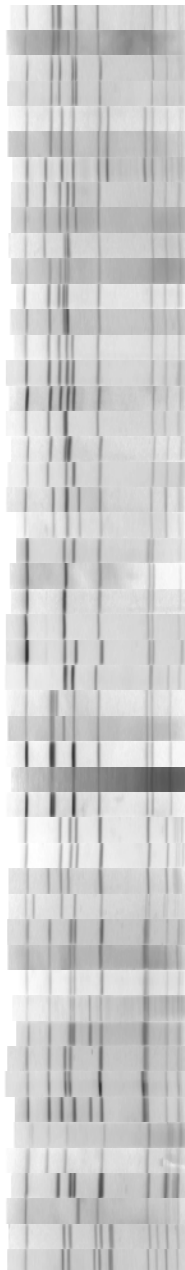
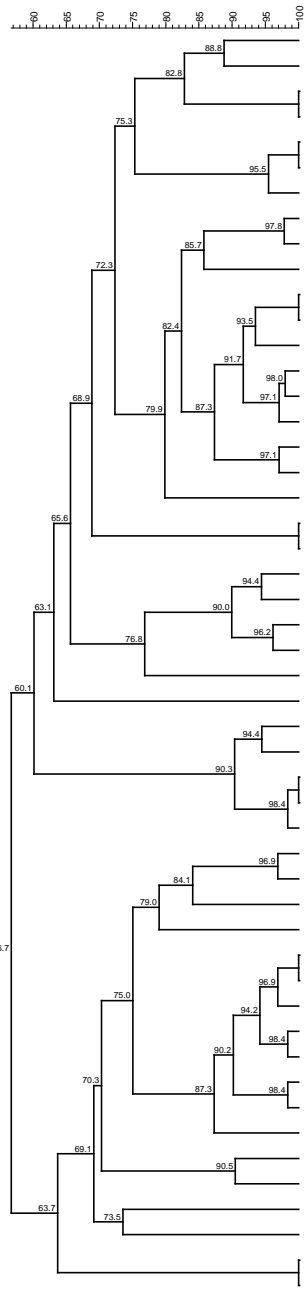






# Ceppi alimenti 2015

- **Sierotipi prevalenti:**
  - 1/2a (33,6%)
  - 1/2c (27,4%)
  - 1/2b (21,2%)
  - 4b (10,6%)
  
- **ST e CC prevalenti:**
  - ST 9\_CC 9 (34,3%)
  - ST 121\_CC 121 (19,2%)
  - ST 191\_CC 191 (19,2%)



	Pulsotipo_Ascl	Pulsotipo_Apal	Anno isolamento	N°
■ Ambiente	GX6A16.0048	GX6A12.0143	2015	2
■ Umani	GX6A16.0136	GX6A12.0062	2015	1
■ Alimenti	GX6A16.0182	GX6A12.0173	2015	1
■ Umani	GX6A16.0182	GX6A12.0173	2015	1
■ Umani	GX6A16.0060	GX6A12.0063	2015	1
■ Umani	GX6A16.0060	GX6A12.0063	2014	1
■ Umani	GX6A16.0183	GX6A12.0063	2015	10
■ Alimenti	GX6A16.0040	GX6A12.0045	2015	2
■ Alimenti	GX6A16.0184	GX6A12.0235	2015	1
■ Alimenti	GX6A16.0078	GX6A12.0141	2015	1
■ Alimenti	GX6A16.0001	GX6A12.0002	2015	1
■ Umani	GX6A16.0001	GX6A12.0002	2015	1
■ Alimenti	GX6A16.0005	GX6A12.0034	2015	1
■ Alimenti	GX6A16.0007	GX6A12.0002	2015	5
■ Alimenti	GX6A16.0007	GX6A12.0001	2015	15
■ Alimenti	GX6A16.0007	GX6A12.0050	2015	4
■ Alimenti	GX6A16.0148	GX6A12.0109	2015	5
■ Alimenti	GX6A16.0005	GX6A12.0109	2015	1
■ Alimenti	GX6A16.0005	GX6A12.0144	2015	5
■ Umani	GX6A16.0132	GX6A12.0149	2014	1
■ Umani	GX6A16.0132	GX6A12.0149	2015	1
■ Alimenti	GX6A16.0006	GX6A12.0253	2015	11
■ Ambiente	GX6A16.0002	GX6A12.0048	2015	4
■ Alimenti	GX6A16.0147	GX6A12.0103	2015	1
■ Alimenti	GX6A16.0002	GX6A12.0103	2015	6
■ Alimenti	GX6A16.0006	GX6A12.0257	2015	1
■ Umani	GX6A16.0119	GX6A12.0122	2015	1
■ Umani	GX6A16.0195	GX6A12.0138	2014	1
■ Umani	GX6A16.0073	GX6A12.0138	2014	1
■ Alimenti	GX6A16.0072	GX6A12.0026	2015	3
■ Ambiente	GX6A16.0072	GX6A12.0026	2015	3
■ Alimenti	GX6A16.0072	GX6A12.0026a	2015	2
■ Alimenti	GX6A16.0175	GX6A12.0252	2015	1
■ Alimenti	GX6A16.0175	GX6A12.0224	2015	18
■ Umani	GX6A16.0185	GX6A12.0236	2014	1
■ Alimenti	GX6A16.0004	GX6A12.0065	2015	1
■ Alimenti	GX6A16.0008	GX6A12.0003	2015	1
■ Umani	GX6A16.0008	GX6A12.0003	2014	1
■ Umani	GX6A16.0008	GX6A12.0233	2015	1
■ Umani	GX6A16.0086	GX6A12.0270	2015	1
■ Umani	GX6A16.0086	GX6A12.0259	2015	1
■ Alimenti	GX6A16.0159	GX6A12.0064	2015	5
■ Umani	GX6A16.0159	GX6A12.0237	2015	1
■ Alimenti	GX6A16.0105	GX6A12.0262	2015	5
■ Alimenti	GX6A16.0010	GX6A12.0073	2015	3
■ Umani	GX6A16.0010	GX6A12.0072	2014	1
■ Alimenti	GX6A16.0045	GX6A12.0088	2015	1
■ Umani	GX6A16.0196	GX6A12.0256	2014	1
■ Alimenti	GX6A16.0084	GX6A12.0234	2015	3
■ Umani	GX6A16.0084	GX6A12.0234	2015	1

2015

113 ceppi

- 15,9% (GX6A16.0175/GX6A12.0224)
- 13,3% (GX6A16.0007/GX6A12.0001)
- 9,7% (GX6A16.0006/GX6A12.0253)



# Ceppi con profilo simile ai ceppi clinici



# Conclusioni

Anche se ad oggi non è stata individuata la fonte dell'epidemia, PFGE, MLST e sequenziamento hanno permesso di rilevare il focolaio di Listeriosi verificatosi nelle Regioni Marche – Umbria (10 casi clinici).

Tuttavia l'applicazione di tecniche molecolari quali PFGE e MLST ha permesso di riscontrare la presenza di ceppi isolati da alimenti indistinguibili da ceppi relativi a casi clinici sporadici



# Ringraziamenti

Grazie a tutto il personale dei laboratori  
"Controllo Alimenti" di Pesaro, Ancona, Tolentino  
e **Fermo** dell'IZS UM.

Grazie alle dr.sse Monica Gianfanceschi e  
Antonietta Gattuso dell'ISS.



Grazie di cuore per la preziosa  
collaborazione a tutti componenti  
del LNR per *L. monocytogenes*.

..... grazie per l'attenzione



 *Listeria monocytogenes*  
Laboratorio Nazionale di Riferimento

