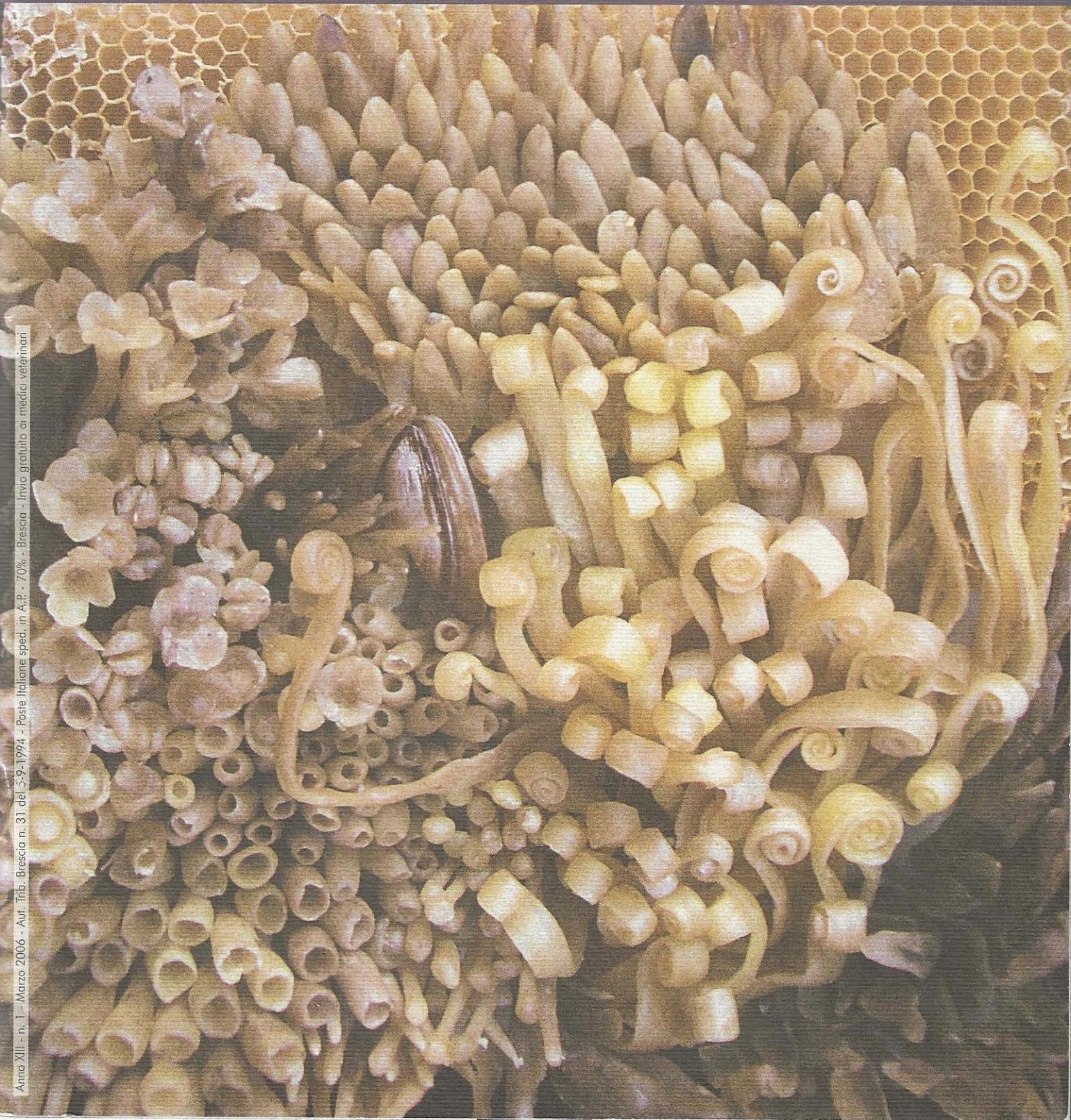


# il Chirone

RIVISTA TRIMESTRALE DI INFORMAZIONE E ATTUALITÀ VETERINARIA



Anno XIII - n. 1 - Marzo 2006 - Aut. Trib. Brescia n. 31 del 5-9-1994 - Poste Italiane sped. in A.P. - Brescia - Invio gratuito ai medici veterinari

## Indagini biomolecolari su ceppi di *Salmonella* isolati da alimenti con riferimento all'antibiotico resistenza

Alessandro Attanzio e Vincenzo Alessandro Gennarino

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia-Palermo*

Le salmonelle sono i batteri più frequentemente identificati nel mondo come agenti di malattia trasmessa con gli alimenti. Possono essere ospitate e colonizzare l'ambiente e gli intestini di uccelli, rettili e mammiferi; si possono trasmettere all'uomo attraverso una svariata quantità di prodotti alimentari, specialmente quelli di origine animale. Sono in grado di provocare una tipica tossinfezione, legata alla presenza di germi nell'alimento e non alle loro tossine. Per episodio di tossinfezione alimentare si intende qualsiasi focolaio epidemico correlato all'assunzione di alimenti in cui due o più persone presentino segni di malattia, ad eccezione della intossicazione da *Clostridium botulinum*, da funghi e da altri agenti tossici naturali o chimici in cui è sufficiente la presenza di un solo caso. Nelle tossinfezioni alimentari il cibo può agire sia come vettore di microorganismi in attiva fase di crescita che come veicolo passivo di agenti che non si replicano (batteri, virus, protozoi) o di tossine biologiche o chimiche. La Salmonellosi è la malattia infettiva causata da più di 1.000 tipi diversi di salmonelle. Le infezioni da salmonella non tifoidea sono classici esempi di infezioni zoonotiche e possono essere considerate come malattie da civilizzazione. Si ritiene che, affinché si verifichi un episodio tossinfettivo, sia necessaria l'ingestione di un numero di salmonelle relativamente elevato, almeno superiore a 100. La dose infettante è comunque dipendente da vari fattori legati all'ospite (età, stato di salute, velocità di transito dell'alimento nel lume intestinale, ecc), alla composizione chimica dell'alimento, alla virulenza del ceppo. L'ingestione di salmonelle in numero basso, tale da non provocare malattia, potrebbe indurre lo stato di "portatore sano", per cui il soggetto diverrebbe eliminatore di germi per un certo periodo di tempo. Può evolvere in modo più severo in soggetti in giovanissima età, debilitati o immunocompromessi.

Gli antibiotici sono farmaci fondamentali per il controllo delle malattie infettive dell'uomo e degli animali che hanno trovato largo impiego per il miglioramento delle produzioni zootecniche. La resistenza dei microrganismi agli antibiotici è attualmente considerata, a livello mondiale, come uno dei principali problemi della sanità pubblica, e coinvolge in modo equivalente la medicina umana e la medicina veterinaria. È stato ampiamente dimostrato come l'utilizzo di antibiotici negli animali porti alla selezione di ceppi resistenti che hanno la possibilità

di colonizzare l'intestino e, conseguentemente, di essere escreti e di contaminare l'ambiente e gli alimenti derivati. L'isolamento di ceppi di salmonelle, di origine umana o non, resistenti agli antibiotici pone seri problemi di sanità pubblica, che si traducono in un rischio crescente di fallimenti terapeutici. L'incidenza globale delle tossinfezioni alimentari è difficile da stimare. Secondo l'Oms, nel 2000 circa due milioni di persone sono morte in seguito a diarrea. Gran parte di queste morti è probabilmente dovuta alla contaminazione di alimenti, e la Salmonella è l'agente contaminante più frequentemente isolato negli alimenti infetti. I batteri possono diventare resistenti, per mutazioni o per via orizzontale attraverso trasformazione, trasduzione, coniugazione. Tra questi, il metodo più comune è la coniugazione che permette il passaggio di plasmidi e trasposoni portatori di geni di resistenza da una cellula donatrice ad una accettatrice. Nel 1986, sono stati scoperti gli Integroni: sequenze di DNA contenenti numerosi geni per resistenze ad antibiotici non correlati tra loro. Gli Integroni sono elementi di DNA mobili con la capacità di catturare geni per proteine conferenti resistenza e di ricombinare in modo sito specifico.

Le infezioni da Salmonella in Italia provocano circa 12.000 casi/anno e rappresentano un importante problema di sanità pubblica sia per l'elevata morbosità, sia per il peso economico che esse comportano. La prevenzione inizia con piani di sorveglianza a livello di allevamento, con l'obiettivo di ridurre il numero di portatori sani: l'eliminazione risulta attualmente obiettivo irraggiungibile per alcune specie animali, specialmente avicole e suina. Pertanto, la contaminazione con materiale intestinale, per quanto limitata (Decisione 471/2001 CE), resterà sempre possibile. Considerato che per dare luogo alla malattia, il numero di Salmonelle ingerite da un soggetto in buono stato di salute deve essere piuttosto cospicuo, diventa cruciale impedire lo sviluppo del batterio sull'alimento contaminato. È pertanto della massima importanza, ai fini della prevenzione della Salmonellosi umana, il contenimento del numero di salmonelle sull'alimento e, per gli alimenti "freschi", l'integrità della catena del freddo. (Una temperatura inferiore a +5,2 °C blocca la moltiplicazione di Salmonella). La prevenzione si basa sulle comuni norme igieniche che tutti dovrebbero osservare.

È stata condotta una ricerca avente come scopo la caratterizzazione molecolare di ceppi di Salmonella isolati da

alimenti, per i quali era stato preventivamente delineato il pannello dell'antibiotico resistenza mediante antibiogramma classico. In tal modo si possono anche determinare i tassi di resistenza a diverse classi di antibiotici comunemente usati in clinica dei vari sierotipi di salmonella di origine umana, animale, alimentare e ambientale. Le infezioni enteriche veicolate da alimenti rappresentano un importante problema di Sanità Pubblica in tutto il mondo. In particolare, l'emergenza di resistenze ai farmaci antimicrobici in quei microrganismi responsabili delle principali infezioni enteriche come *Salmonelle*, *Campylobacter* ed *E.coli* verocitotossici propone nuovi problemi in materia di controllo della circolazione di questi microrganismi nell'ecosistema degli allevamenti intensivi. La prevenzione di questo tipo di infezioni nell'uomo, con particolare riguardo ad eventuali episodi epidemici, assume un ruolo di primo piano per i potenziali riflessi negativi della chemio-antibiotico-resistenza sulle opzioni terapeutiche disponibili in ambito umano. Dati ottenuti da studi effettuati negli ultimi anni anche nella nostra area geografica documentano la circolazione di cloni multiresistenti di alcuni sierotipi di *Salmonella* epidemiologicamente legate agli animali da allevamento. *S.typhimurium* DT 104 multiresistente (MDR) in particolare, è frequentemente rinvenuta come agente responsabile di enterite nell'uomo, ma anche altri sierotipi: Agona, Blockley, Brandenburg, Hadar etc., sembrano acquisire un ruolo crescente di veicolo di determinanti di resistenza tra le due nicchie ecologiche, animale ed umana. La ricerca da noi intrapresa costituisce il punto di partenza per

l'ottimizzazione di un sistema molecolare in grado di indagare l'esistenza di caratteri di resistenza nei ceppi isolati, già caratterizzati da un punto di vista microbiologico con il classico antibiogramma. Nello stesso tempo, la ricerca permette la valutazione del rischio e la pianificazione di efficaci strategie preventive nel settore umano, alimentare e veterinario. I risultati fin qui raggiunti, sono assolutamente preliminari in quanto sono stati condotti solo su 9 ceppi dei tanti isolati e già caratterizzati microbiologicamente. Gli esperimenti eseguiti hanno però contribuito alla standardizzazione del protocollo di indagine molecolare per l'individuazione degli elementi conferenti resistenza a uno o più antibiotici. Tramite PCR abbiamo evidenziato la presenza di integroni di taglia variabile. Come già descritto prima, l'individuazione degli integroni unitamente ai dati degli antibiogrammi, sono indicativi della resistenza di tali batteri a uno o più antibiotici. Sulla base di tali ipotesi si è quindi proceduto alla ricerca dei geni di resistenza specifici (geni del gruppo delle tetracicline e degli aminoglicosidi) in tutti e 9 i ceppi di *Salmonella*. I prodotti ottenuti sono stati purificati e sequenziati. Praticamente tutti i ceppi esaminati hanno mostrato la presenza di integroni di varie dimensioni confermata poi dal ritrovamento dei geni di resistenza alle tetracicline o agli aminoglicosidi. Ulteriori studi sono ancora in corso per la ricerca di altri geni di resistenza. Una migliore comprensione del meccanismo molecolare dell'antibiotico resistenza e della sua diffusione può contribuire all'attuazione di nuove strategie di intervento per ridurre la loro progressione.



**ANALISI CHIMICHE E  
MICROBIOLOGICHE PER IL SETTORE  
AGROALIMENTARE**

**MICROINQUINANTI NEGLI ALIMENTI**

- PESTICIDI, METALLI PESANTI
- PCB, AFLATOSSINE

INDAM Laboratori chimici s.r.l.  
Via San Desiderio 21 - 25020 Flero BRESCIA  
Tel. 030 3581231 - Fax 0303581241 o 030 35886233  
[www.indam.it](http://www.indam.it) - [info@indam.it](mailto:info@indam.it)

**LA DIFFERENZA  
È LA NUTRIZIONE**



**L'importatore  
NUTRO per l'Italia  
LA TICINESE**

**Via Vigentina, 102/A  
27100 Pavia  
Tel. 0382.573789  
Fax 0382.575576  
[www.laticinese.it](http://www.laticinese.it)  
[ticinutro@tin.it](mailto:ticinutro@tin.it)**