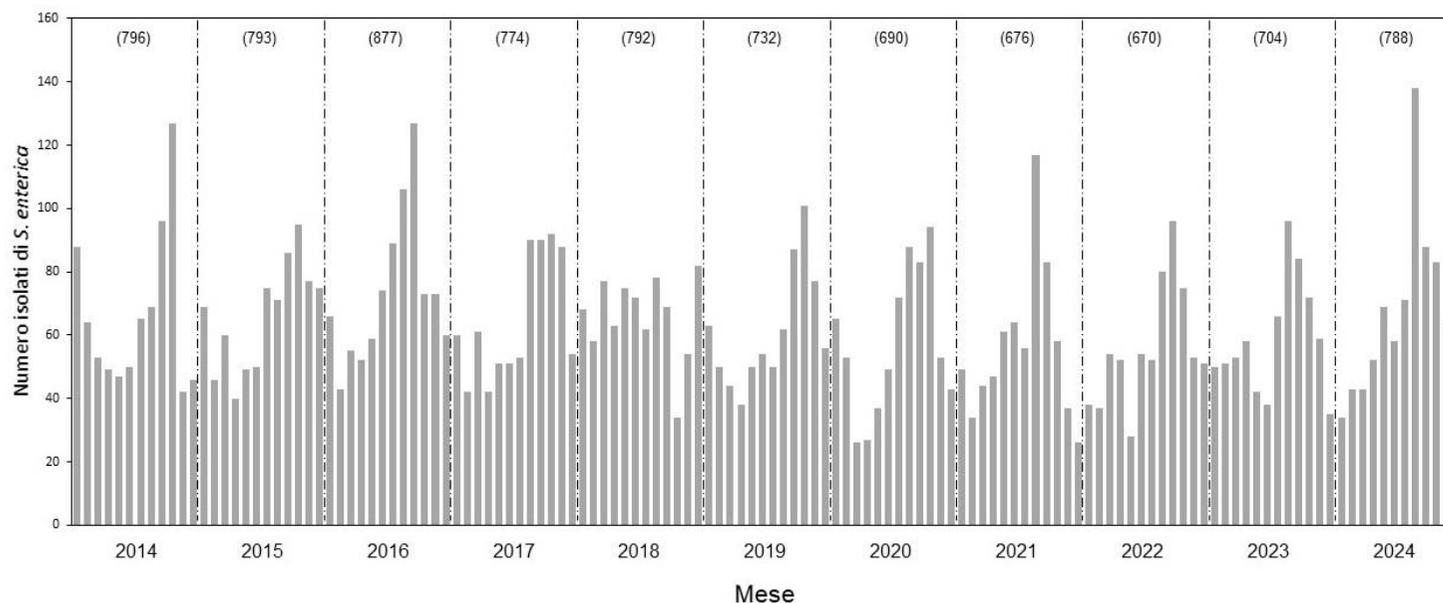




## 1. Sorveglianza su *Salmonella enterica*

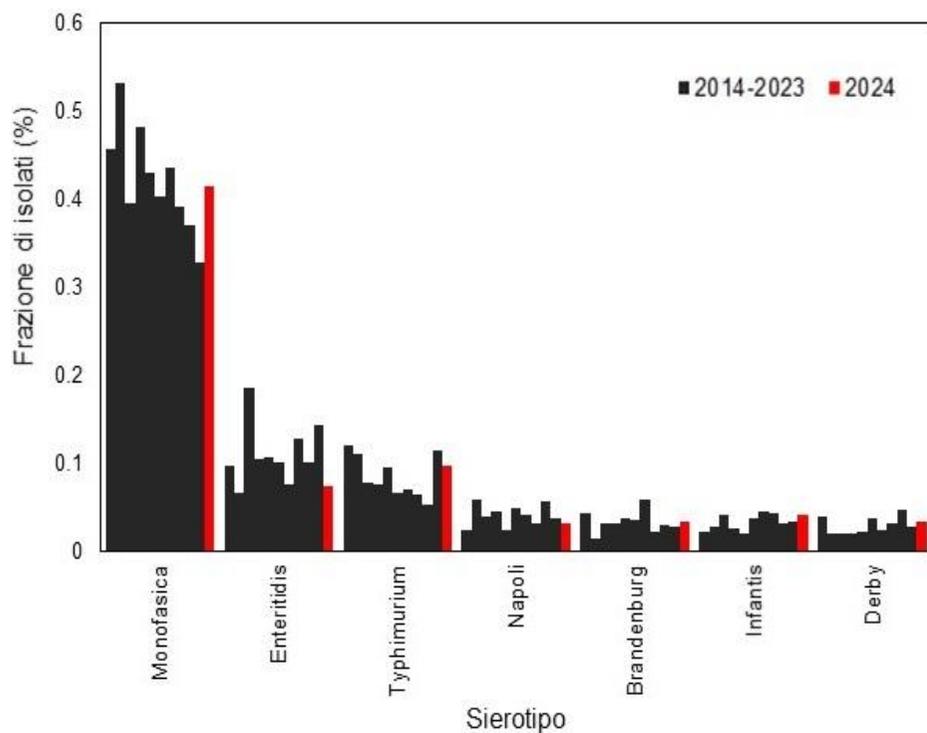
Fig. 1: Isolati per mese di prelievo di *S. enterica* nel periodo 2014-2024. Tra parentesi il totale degli stipiti isolati per anno.



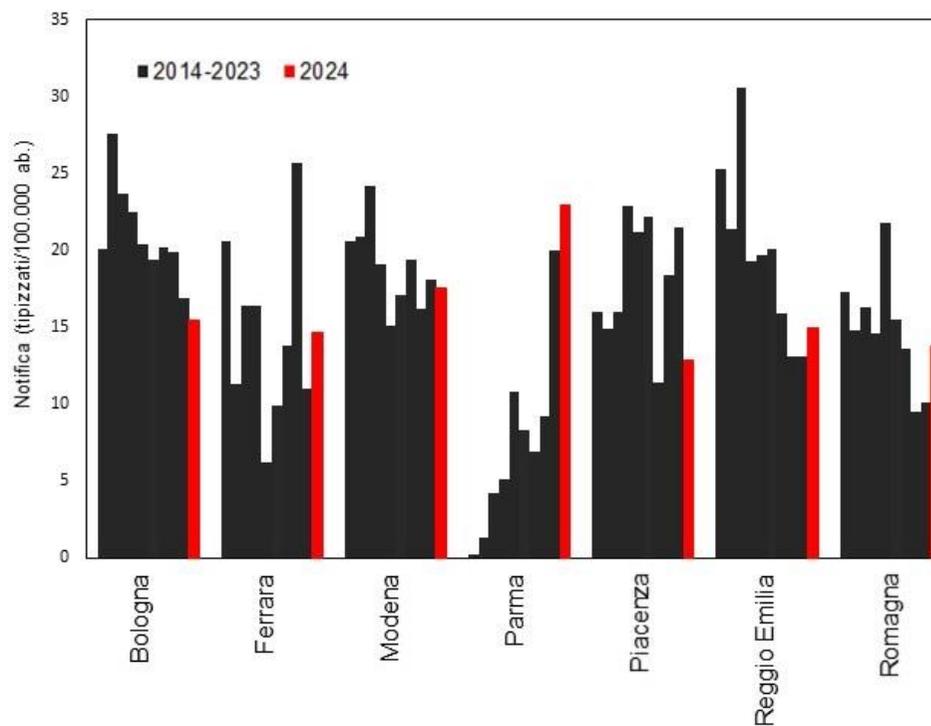
### Periodo Gennaio-Dicembre 2024

Il report si riferisce ai 788 stipiti di *Salmonella enterica* isolati dai pazienti della Regione Emilia-Romagna (RER) nel periodo gennaio-dicembre 2024 e inviati al Centro di Referenza Regionale Enteropatogeni presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna (IZSLER), Unità di Analisi del Rischio ed Epidemiologia Genomica (AREG).

**Fig. 2:** Percentuale di isolati appartenenti ai principali sierotipi di *Salmonella enterica* negli anni 2014-2024 (sierotipi con >2% degli isolamenti nel periodo di osservazione).



**Fig. 3:** Isolamenti di *Salmonella enterica* per 100'000 abitanti negli anni 2014-2024 in funzione della provincia/ASL di prelievo. Il tasso medio di notifica di salmonellosi in RER nel periodo di riferimento è di 16.9 casi/anno ogni 100'000 ab.



### 1.1 Descrizione del sistema di allerta per la segnalazione di focolai di *Salmonella enterica*

Al Centro di Referenza Regionale Enteropatogeni Emilia-Romagna vengono inviati i ceppi di *Salmonella enterica* isolati dai Laboratori di microbiologia clinica della Regione. I ceppi vengono genotipizzati al fine di produrre informazioni utili alla comprensione dell'insorgenza e dell'origine delle salmonellosi.

La Fig. 1 mostra l'andamento nel tempo, su base mensile, degli isolamenti di *Salmonella enterica* in RER nel periodo 2014-2024. A partire dal gennaio 2021, tutti gli stipiti di *S. enterica* isolati da casi umani o dalla catena alimentare, conferiti al Centro, sono tipizzati con Whole Genome Sequencing (WGS). Lo scopo della tipizzazione WGS è quello di indentificare gli specifici isolati che presentano una reciproca similarità sufficientemente elevata da essere considerati potenziali membri di uno stesso focolaio. Il sistema si riferisce a questi stipiti come "cluster" di isolati. L'identificazione di potenziali focolai si svolge in due fasi.

1) L'analisi preliminare per l'individuazione di cluster genomici che possono costituire potenziali focolai viene generalmente effettuata con l'approccio di core-genome MLST (cgMLST) che si basa sull'analisi di un set predefinito di 3002 geni di *S. enterica* precedentemente validati (Alikhan et al. 2018). Il cut-off utilizzato per la definizione dei cluster genomici è di massimo 3 mismatch allelici in *single-linkage clustering* (equivalente a una similarità minima del 99.9% tra genomi).

2) Nel caso il cgMLST identifichi cluster genomici che possono costituire un potenziale focolaio, indagini supplementari vengono effettuate con un'analisi di SNPs (che rappresenta una metodologia più potente per

discriminare l'appartenenza o meno di un genoma a un cluster rispetto a cgMLST) per la conferma del cluster stesso.

I tre criteri generalmente adottati presso il Centro per la conferma in SNPs del cluster genomico sono i seguenti:

(i) esistenza di un gruppo monofiletico di genomi identificato sulla base dell'analisi dei core SNPs;

(ii) tale gruppo deve essere caratterizzato da alto supporto della *bootstrap analysis* (>90%);

(iii) i genomi appartenenti al gruppo devono avere distanza massima di 5 SNPs in *single-linkage clustering*.

Analisi effettuate allo scopo di identificare le priorità di intervento su focolai causati da enteropatogeni hanno mostrato che l'indagine di cluster con quattro o più casi porta con maggior probabilità all'identificazione della sorgente di infezione rispetto a cluster più piccoli (Rounds et al. 2007; Rounds et al. 2012). Coerentemente con queste evidenze il Centro segnala al Servizio Sanitario Regionale la presenza di potenziali focolai di *S. enterica* quando in un periodo di 2 mesi individua: i) cluster genomici (definiti come sopra) di 4 o più casi umani; o ii) cluster genomici di 2 o più casi umani e uno o più isolati nella catena alimentare.

Il Centro analizza inoltre le possibili correlazioni epidemiologico molecolari tra gli stipiti isolati in ambito regionale e altri attenzionati a livello nazionale ed internazionale perché coinvolti in focolai di infezione di larga scala.

## 1.2 Potenziali focolai diffusi di *Salmonella enterica* rilevati nell'anno 2024

Nell'anno 2024, il sistema di individuazione di potenziali focolai attivo presso il Centro, basato sull'analisi sistematica in WGS degli isolati di *Salmonella enterica* di origine umana, ha evidenziato 17 nuovi cluster genomici indicativi di altrettanti potenziali focolai. In aggiunta, sono stati identificati nuovi isolati in uomo e nella catena alimentare di 1 cluster genomico identificato negli anni precedenti. Parallelamente, le analisi di correlazione molecolare vengono estese anche agli isolati alimentari e animali ricevuti di routine da IZSLER o specificamente prelevati in associazione ai focolai. I 232 casi totali di salmonellosi appartenenti a potenziali focolai in RER costituiscono un numero rilevante se si tiene conto che, in un focolaio di salmonellosi, si stimano ben 29 casi non notificati per ogni caso confermato (Scallan et al. 2011).

**Tab. 1:** Cluster di salmonellosi segnalati al sistema sanitario nel 2024. La tabella riporta il numero di casi attribuiti al cluster sulla base della sorveglianza molecolare. L'ultima colonna riporta la differenza allelica (AD) in single-linkage clustering secondo lo schema Enterobase. \*Parte di un focolaio multi-regionale. \*\*Parte di un focolaio internazionale.

Cluster ID	Casi	AUSL Coinvolte	Isolati nella catena alimentare	Sierotipo	Sequence type	AD
2024_GCS_0072_01	16	BO, IM, RE, ROM	1	Monofasica	34	1
2024_GCS_0090_01*	13	BO, MO, PR, RE	10	Monofasica	34	1
2024_GCS_0460	2	BO	1	Monofasica	34	0
2024_GCS_0461	6	FE	-	Brandenburg	65	1
2024_GCS_0462	3	BO, ROM	2	Monofasica	34	2
2024_GCS_0464*	5	MO, PC, PR, ROM	14	Enteritidis	11	3
2024_GCS_0469**	8	BO, FE, ROM	-	Typhimurium	36	2
2024_GCS_0470	6	MO, RE	-	Monofasica	34	3
2024_GCS_0472	4	BO, ROM	2	Typhimurium	19	0
2024_GCS_0478**	13	BO, IM, MO, RE	-	Typhimurium	36	3
2024_GCS_0479**	5	BO, MO, PR, RE	-	Typhimurium	36	1
2024_GCS_0480*	95	BO, FE, IM, MO, PC, PR, RE, ROM	-	Monofasica	34	2
2024_GCS_0482	5	BO, FE, MO, PC, ROM	-	Brandenburg	65	1
2024_GCS_0483**	4	FE, MO, RE	-	Umbilo	2014	0
2024_GCS_0490	10	PC, PR	1	Hadar	33	2
2024_GCS_0494	16	ROM	10	Monofasica	34	1
2024_GCS_0497	7	BO, MO, RE	-	Bredeney	897	1
2021_GCS_0138**	14	BO, FE, MO, PR, RE, ROM	1	Strathcona	2559	5

## 2. Sorveglianza su *Listeria monocytogenes*

### Periodo Gennaio-Dicembre 2024

Il report si riferisce ai 50 stipiti di *Listeria monocytogenes* isolati dai pazienti della RER nel periodo gennaio-dicembre 2024 e inviati al Centro di Referenza Regionale Enteropatogeni presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna (IZSLER).

La Fig. 4 mostra l'andamento nel tempo su base annua degli isolamenti di *Listeria monocytogenes* in regione Emilia-Romagna nel periodo 2013-2024. A partire dagli ultimi mesi del 2017 il Centro di Referenza Regionale Enteropatogeni RER svolge anche attività di sorveglianza su *L. monocytogenes* basata su WGS. Tale sorveglianza è diventata sistematica nel gennaio 2018. L'identificazione di potenziali focolai si svolge in due fasi. 1) L'analisi preliminare per l'individuazione di cluster genomici che possono costituire potenziali focolai viene effettuata con l'approccio di *core-genome MLST* (cgMLST) che si basa sull'analisi di un set di 1748 geni di *L. monocytogenes* precedentemente validati (Moura et al. 2016). Il cut-off utilizzato per la definizione dei cluster genomici è di massimo 3 mismatch allelici in *single-linkage clustering* (equivalente a una similarità minima del 99.83% tra genomi).

2) Nel caso il cgMLST identifichi cluster genomici che possono costituire un potenziale focolaio, indagini supplementari vengono effettuate con analisi di SNPs analogamente a quanto descritto per *Salmonella* (si vedano anche Morganti et al. 2018, Scaltriti et al. 2020).

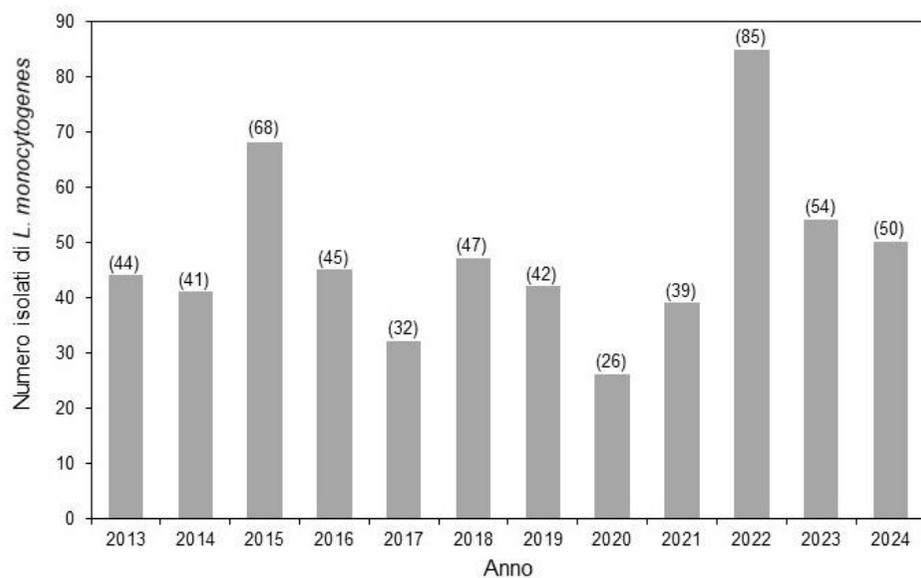
Analisi effettuate allo scopo di identificare le priorità di intervento su focolai causati da enteropatogeni hanno mostrato che l'indagine di cluster

con quattro o più casi porta con maggior probabilità all'identificazione della sorgente di infezione rispetto a cluster più piccoli (Rounds et al. 2007; Rounds et al. 2012). Coerentemente con queste evidenze il Centro segnala al Servizio Sanitario Regionale la presenza di potenziali focolai di *L. monocytogenes* quando in un periodo di 1 anno individua: i) cluster genomici (definiti sulla base degli SNPs) di 4 o più casi umani; o ii) cluster genomici di 2 o più casi umani e uno o più isolati nella catena alimentare.

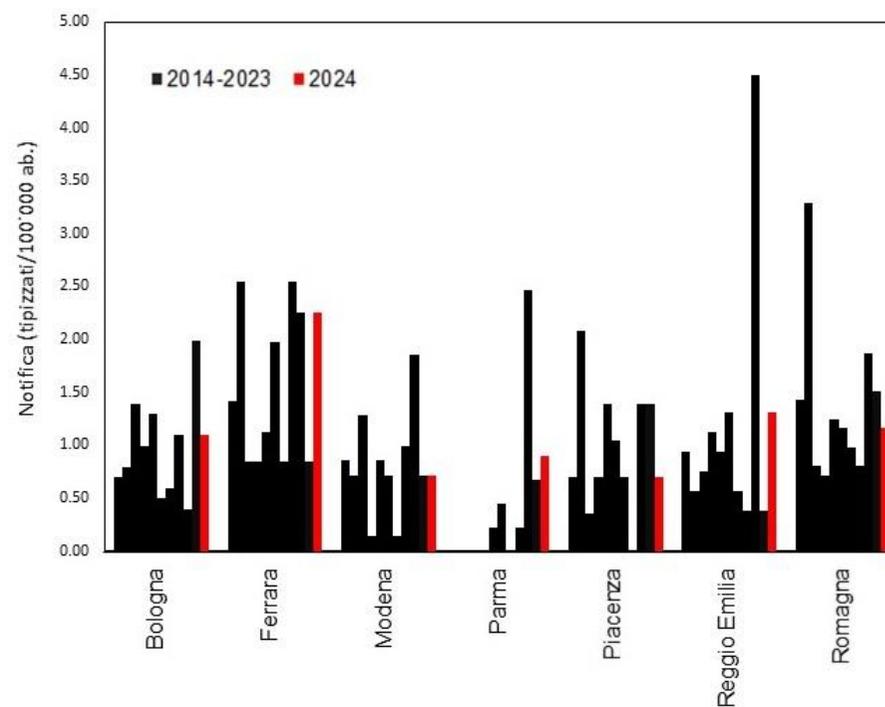
Si sottolinea che 31 dei 50 isolati di *L. monocytogenes* del 2024 appartengono a cluster genomici (62% degli isolati). Questo indica che una proporzione rilevante dei casi di listeriosi non è di natura sporadica, ma appartiene verosimilmente a focolai di infezione, confermando quanto osservato negli anni precedenti.

Il Centro analizza inoltre le possibili correlazioni epidemiologico molecolari tra gli stipiti isolati in ambito regionale e altri attenzionati a livello nazionale ed internazionale perché coinvolti in focolai di infezione di larga scala.

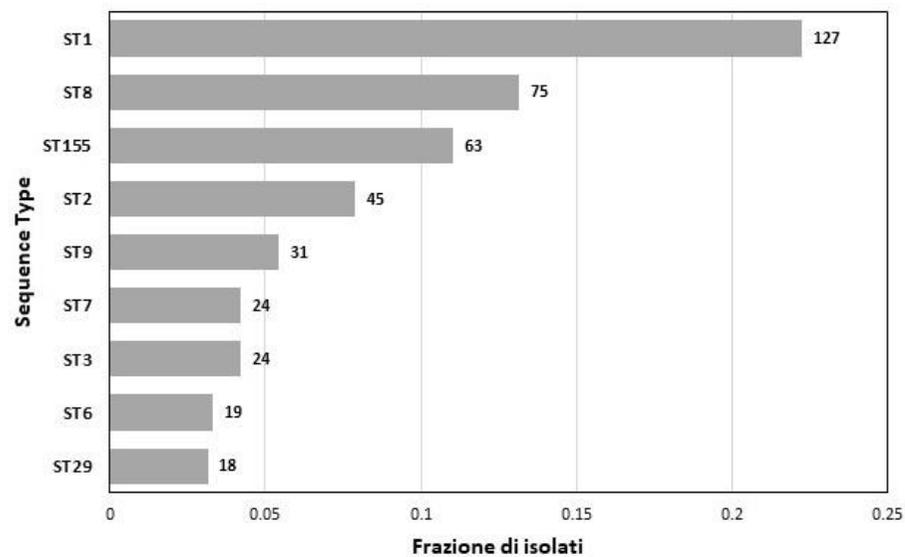
**Fig. 4:** Isolati di *Listeria monocytogenes* in RER per anno di prelievo nel periodo 2013-2024. In parentesi il totale degli stipiti isolati per anno.



**Fig. 5:** Isolamento di *Listeria monocytogenes* per 100'000 abitanti negli anni 2014-2024 in funzione della provincia/ASL di prelievo. Il tasso medio di notifica di listeriosi in RER nel periodo di riferimento è di 1.08 casi/anno ogni 100'000 ab.



**Fig. 6:** Distribuzione dei principali (>2%) Sequence Type (ST) di *L. monocytogenes* isolati da infezioni umane negli anni 2013-2024. I numeri nelle etichette rappresentano i totali per ST nel periodo di riferimento.



## 2.1 Potenziali focolai diffusi di *L. monocytogenes* rilevati nell'anno 2024

Nell'anno 2024, il sistema di individuazione di potenziali focolai attivo presso il Centro, basato sull'analisi sistematica in WGS degli isolati di *Listeria monocytogenes* di origine umana, ha evidenziato un nuovo cluster genomico indicativo di potenziali focolai. Inoltre, sono stati identificati nuovi isolati in uomo e nella catena alimentare di un cluster genomico identificato negli anni precedenti. Parallelamente all'identificazione dei cluster di isolati umani, le analisi di correlazione molecolare vengono eseguite anche sugli isolati alimentari e animali ricevuti di routine da IZSLER o specificamente in associazione ai focolai.

**Tab. 2:** Riepilogo delle informazioni relative ai cluster di listeriosi segnalati al sistema sanitario. In tabella è riportato il numero di casi presumibilmente attribuibili al focolaio sulla base della sorveglianza molecolare. L'ultima colonna riporta la differenza allelica (AD) in single linkage clustering calcolata tra gli isolati del cluster. La AD è determinata secondo lo schema di Moura et al. (2016).

Cluster ID	Casi	AUSL Coinvolte	Sequence Type	Isolati nella catena alimentare	AD
2024_GCL_0447*	1	BO	451	9	1
2022_GCL_0002_01	4	BO, RE	8	1	2

\*Parte di un focolaio multi-regionale.

### 3. Sorveglianza su *Campylobacter spp.*

#### Periodo Gennaio-Dicembre 2024

Il report si riferisce ai 733 stipiti di *Campylobacter spp.* isolati dai pazienti della RER nel periodo gennaio-dicembre 2024 e che è stato possibile tipizzare con WGS presso il Centro di Referenza Regionale Enteropatogeni presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna (IZSLER).

A partire da maggio 2023 il Centro di Referenza Regionale Enteropatogeni RER svolge anche attività di sorveglianza molecolare su *Campylobacter spp.* basata su WGS. La Fig. 7 mostra l'andamento nel tempo su base mensile dei conferimenti di *Campylobacter spp.* in RER nel periodo 2023-2024. Il tasso di isolamento di *Campylobacter spp.* in RER nel 2024 è stato di 16.4 casi ogni 100'000 abitanti. Questo tasso costituisce una sottostima del valore effettivamente rilevato dall'attività di diagnosi microbiologica medica, in quanto tiene conto solo degli stipiti sottoposti a tipizzazione WGS. Tuttavia, una parte degli stipiti effettivamente isolati in sede diagnostica non vengono sottoposti a tipizzazione WGS in quanto risultano non più vitali dopo trasferimento al laboratorio di genotipizzazione, a causa dell'intrinseca delicatezza di questi microrganismi. Nel 2024, il numero di stipiti isolati ma non tipizzati in RER è stato di 277. Tenendo conto di questi stipiti non tipizzati in WGS, il tasso di isolamento in RER risulterebbe pari a 22.4/100'000 ab.

L'identificazione di specie di *Campylobacter spp.* viene effettuata *in-silico* a partire dal dato di sequenziamento WGS. Dei 733 stipiti tipizzati in WGS nel 2024, 623 sono risultati essere *C. jejuni* (85.0%), 107 *C. coli* (14.6%), 1 *C. fetus* e 2 specie non identificata.

Al momento, la procedura per identificazione di potenziali focolai di *Campylobacter spp.* si svolge con analisi basate sugli SNPs analogamente a quanto descritto per *Salmonella* (si veda Brehony et al. 2021; Joensen et al. 2021). Una procedura di screening basata su cgMLST (analogamente a quanto viene fatto per *S. enterica* e *L. monocytogenes*) è attualmente in corso di sviluppo.

Analisi effettuate allo scopo di identificare le priorità di intervento su focolai causati da enteropatogeni hanno mostrato che l'indagine di cluster con quattro o più casi porta con maggior probabilità all'identificazione della sorgente di infezione rispetto a cluster più piccoli (Rounds et al. 2007; Rounds et al. 2012). Coerentemente con queste evidenze il Centro segnala al Servizio Sanitario Regionale la presenza di potenziali focolai di *Campylobacter spp.* quando in un periodo di 2 mesi individua: i) cluster genomici (definiti sulla base degli SNPs) di 4 o più casi umani; o ii) cluster genomici di 2 o più casi umani e uno o più isolati nella catena alimentare.

Fig. 7: Isolati di *Campylobacter spp.* per mese di prelievo nel periodo 2023-2024. Tra parentesi il totale degli stipiti tipizzati per anno.

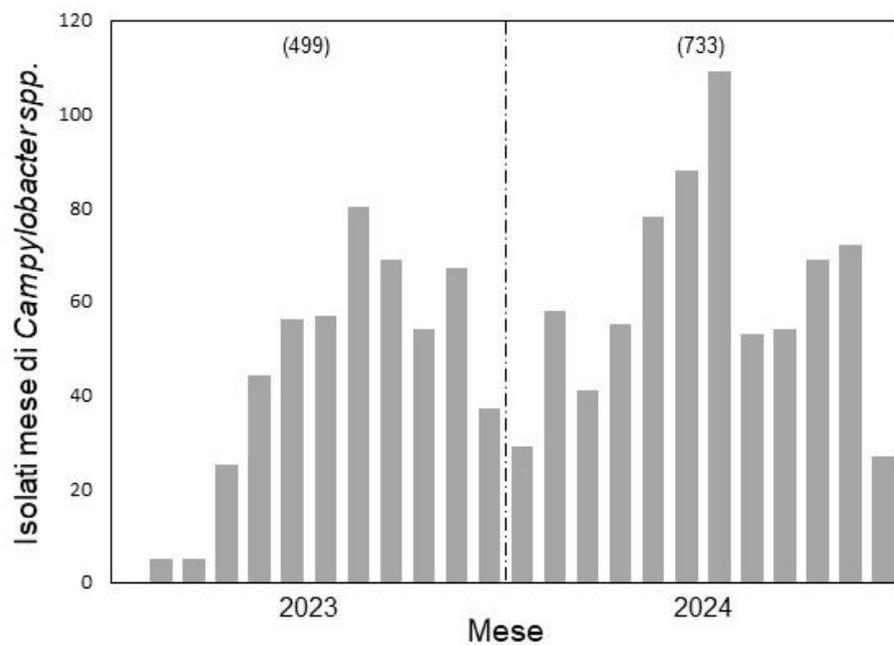
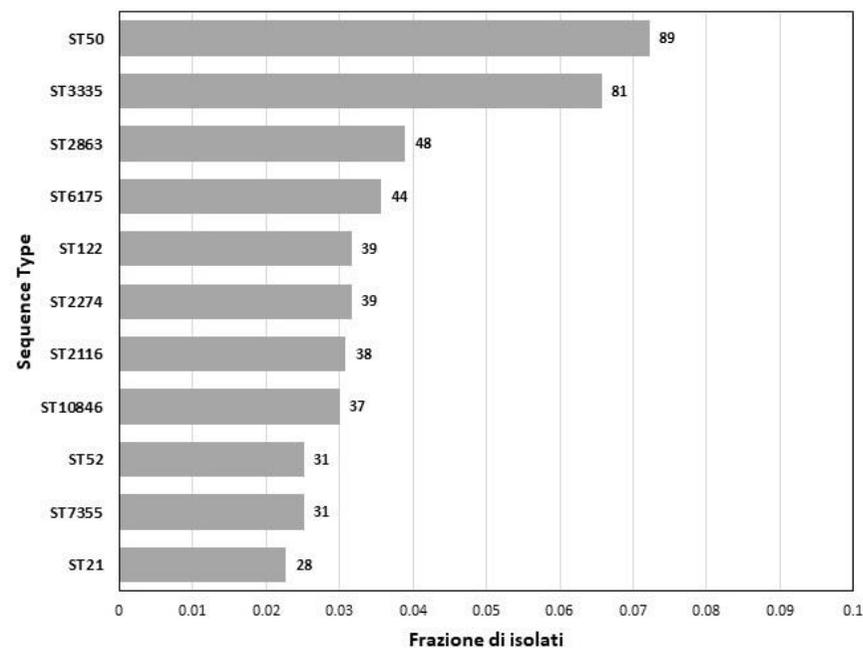


Fig. 8: Distribuzione dei principali (>2%) Sequence Type (ST) di *Campylobacter spp.* isolati da infezioni umane nel 2023-2024. I numeri nelle etichette rappresentano i totali per ST nel periodo.



### 3.1 Potenziali focolai diffusi di *Campylobacter spp.* rilevati nell'anno 2024

Nell'anno 2024, il sistema di individuazione di potenziali focolai attivo presso il Centro, basato sull'analisi sistematica in WGS degli isolati di *Campylobacter spp.* di origine umana, ha evidenziato cinque nuovi cluster genomici indicativi di potenziali focolai. Parallelamente all'identificazione dei cluster di isolati umani, le analisi di correlazione molecolare vengono eseguite anche sugli isolati alimentari e animali ricevuti di routine da IZSLER o specificamente in associazione ai focolai.

**Tab. 3:** Riepilogo delle informazioni relative ai cluster di campylobatteriosi segnalati al sistema sanitario. In tabella è riportato il numero di casi presumibilmente attribuibili al focolaio sulla base della sorveglianza molecolare.

Cluster ID	Casi	AUSL Coinvolte	Specie	Sequence Type	Isolati nella catena alimentare
2024_GCC_0514	22	BO, MO, PC, PR, RE, ROM	<i>C. jejuni</i>	10846	10
2024_GCC_0515	8	BO, FE, PC	<i>C. jejuni</i>	2863	5
2024_GCC_0516	10	MO, FE, PC, PR, ROM	<i>C. jejuni</i>	50	-
2024_GCC_0517	11	BO, MO, FE, PC, PR, RE, ROM	<i>C. jejuni</i>	50	-
2024_GCC_0518	15	BO, FE, MO, PC, PR	<i>C. jejuni</i>	3335	-

## Bibliografia

Alikhan N-F, Zhou Z, Sergeant MJ, Achtman M (2018) A genomic overview of the population structure of *Salmonella*. *PLoS Genet* 14(4): e1007261.

Brehony C, Lanigan D, Carroll A, McNamara E (2021) Establishment of sentinel surveillance of human clinical campylobacteriosis in Ireland. *Zoonoses Public Health*. 68:121–130.

Joensen KG, Schjørring S, Gantzhorn MR, et al. (2021) Whole genome sequencing data used for surveillance of *Campylobacter* infections: detection of a large continuous outbreak, Denmark, 2019. *Euro Surveill*. 26(22):2001396.

Morganti M, Bolzoni L, Scaltriti E, Casadei G, Carra E, Rossi L, Gherardi P, Faccini F, Arrigoni N, Sacchi AR, Delle Donne M, Pongolini S (2018) Rise and fall of outbreak-specific clone inside endemic pulsotype of *Salmonella* 4,[5],12:i-: insights from high resolution molecular surveillance in Emilia-Romagna, Italy, 2012-2015. *Eurosurveillance* 23:p=17-00375.

Moura A, Criscuolo A, Pouseele H, Maury MM, Leclercq A, et al. (2016) Whole genome-based population biology and epidemiological surveillance of *Listeria monocytogenes*. *Nature Microbiology* 2:16185.

Rounds JM, Hedberg CW, Meyer S, Boxrud DJ, Smith KE (2007) *Salmonella enterica* pulsed-field gel electrophoresis clusters, Minnesota, USA, 2001–2007. *Emerg Infect Dis* 16(11):1678-85.

Rounds JM, Boxrud DJ, Jawahir SL, Smith KE (2012) Dynamics of *Escherichia coli* O157:H7 outbreak detection and investigation, Minnesota 2000-2008. *Epidemiol Infect* 140(8):1430-8.

Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, et al. (2011) Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerg Infect Dis*. 17:7–15.

Scaltriti E, Bolzoni L, Vocale C, Morganti M, Menozzi I, Re MC and Pongolini S (2020) Population structure of *Listeria monocytogenes* in Emilia-Romagna (Italy) and implications on whole genome sequencing surveillance of listeriosis. *Front Public Health* 8:519293.

**Il report è stato predisposto da:**

Bolzoni Luca

Berni Melissa

Bracchi Chiara

Dodi Alessandra

Manni Laura

Morganti Marina

Scaltriti Erika

Vinci Massimiliano

Pongolini Stefano

**Alla sorveglianza microbiologica contribuiscono:**

I Laboratori di Microbiologia Medica della Regione

I Servizi di Igiene e Sanità Pubblica della Regione

I Servizi di Igiene degli Alimenti e della Nutrizione della Regione

I Servizi Veterinari della Regione

Il Servizio Prevenzione Collettiva e Sanità Pubblica dell'Assessorato Politiche per la Salute della Regione

L'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna