

**Epidemia in più Stati di *Salmonella*
Typhimurium associata a
succo d'arancia non pastorizzato –
Stati Uniti, 2005**

**Robert Tauxe, MD, MPH,
with thanks to Seema Jain, MD
Foodborne and Diarrheal Diseases Branch
Centers for Disease Control and Prevention
March 28, 2006
ISS, Roma**



SAFER • HEALTHIER • PEOPLE™



Dip. Salute Pubblica del Michigan (MDCH) 24 giugno – 6 luglio 2005

- 14 casi di *Salmonella* Typhimurium
- Non si distinguono pattern con la elettroforesi in campo pulsato (PFGE)
 - CDC PulseNet *Xba*I pattern JPX001.0178 and *Bln*I pattern JPXA26.0186
- La data di inizio sintomi va dal 7 maggio al 6 giugno 2005



Interviste ai pazienti del MDCH

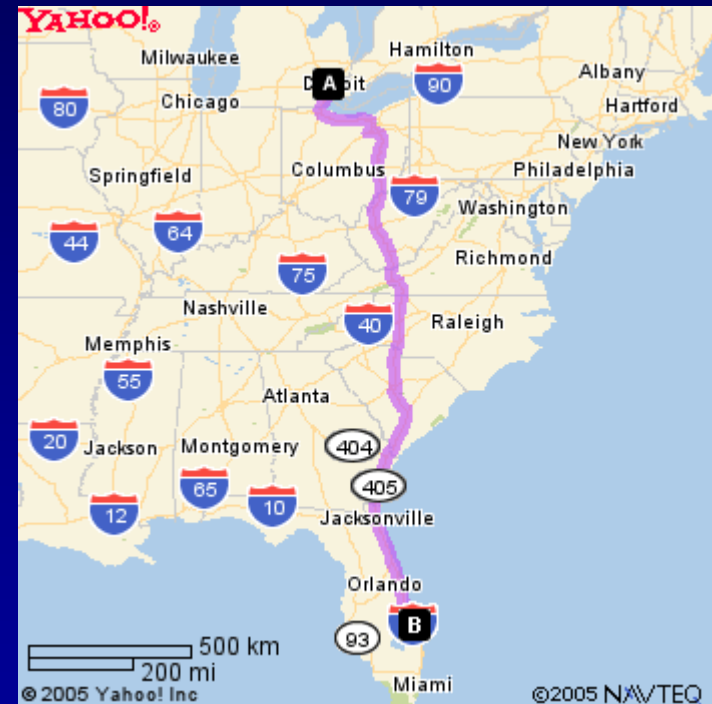
- **11/14 pazienti hanno bevuto “spremuta di arance fresche”**

- Spremute nel negozio
- Negozi al dettaglio “di élite” nel sudest del Michigan
- 9 comprate in diverse filiali del Market A
- 2 comprate nello stesso luogo in un negozio diverso, Market B

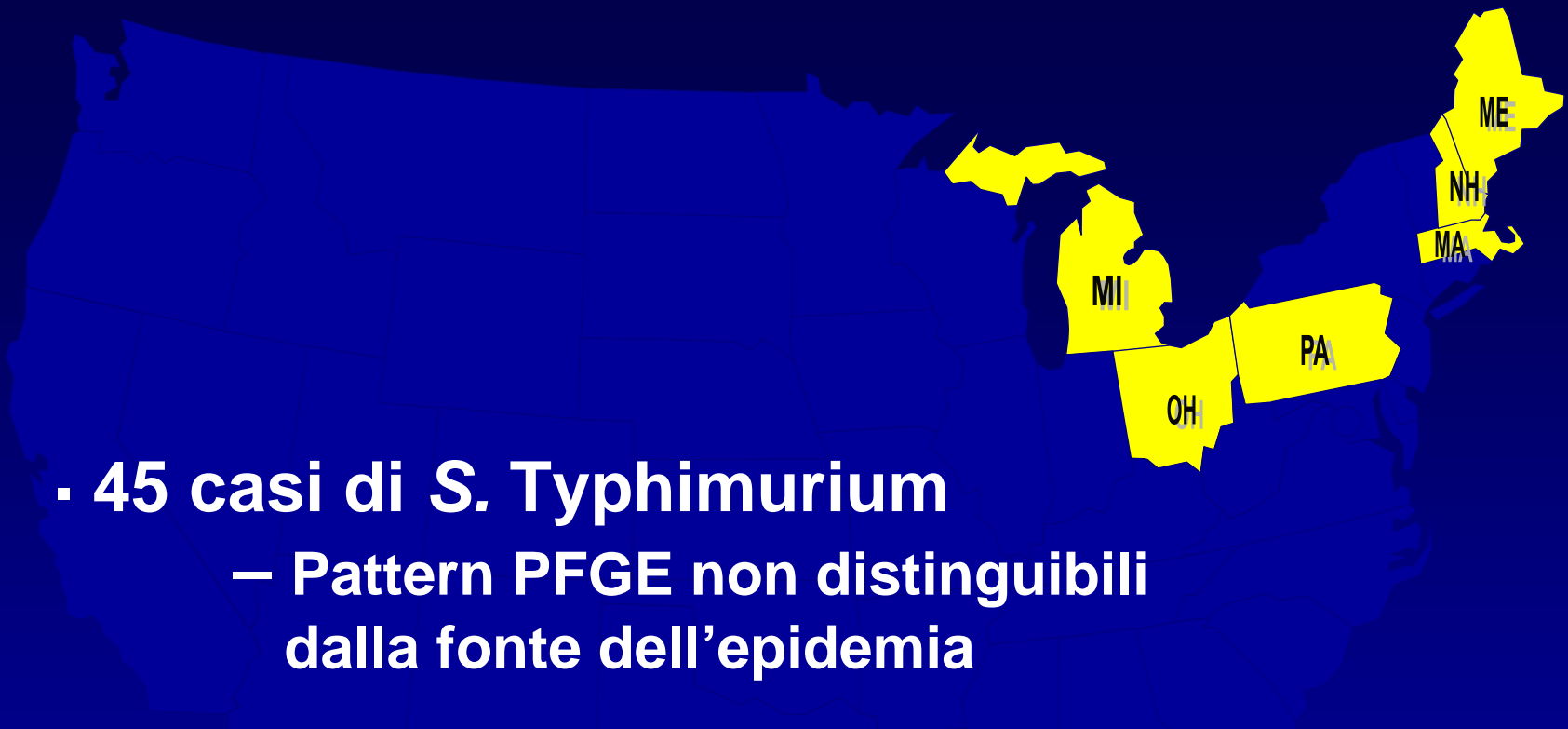


Dipartimento di agricoltura del Michigan

- **Market A e B**
 - Entrambi riforniti dalla Compagnia X in Florida
- **Succo di arance spremute al 100%, non pastorizzato**



PulseNet – 1° luglio 2005



- **45 casi di *S. Typhimurium***
 - Pattern PFGE non distinguibili dalla fonte dell'epidemia
- **Il team Epi-Aid CDC viene invitato dagli Stati per assistere all'indagine da Atlanta**

Risultati attesi

- **Determinare la grandezza dell'epidemia**
- **Identificare i fattori di rischio per l'infezione**
- **Raccomandare le misure di controllo**

Case-finding

- **PulseNet ha richiesto ai laboratori degli stati di effettuare la PFGE nei campioni isolati per *Salmonella* Typhimurium dal 1° maggio 2005**
 - **Contattati tutti gli stati che avevano isolato campioni con lo stesso pattern associato all'epidemia**
- **Usate le epidemie del Foodborne su Listserv e Epi-X sollecitando l'aiuto degli stati nell'identificazione dei casi**
- **E' stato chiesto agli stati di intervistare i malati che rientravano nella definizione di caso con un questionario standardizzato**

Definizione di caso per il Case-finding

- Infezione con *Salmonella* Typhimurium
 - PFGE CDCPulseNet *XbaI* pattern JPX001.0178
 - PFGE CDCPulseNet *BlnI* pattern JPXA26.0186
- Inizio sintomi dopo il 1° maggio 2005



Verificare le ipotesi

- **Riesaminata l'ipotesi di tossinfezione estesa tramite l'intervista a 10 pazienti nel Michigan**
- **Rilevate le tipologie di alimenti consumati da più del 30% dei pazienti intervistati**
- **Confrontate le rilevazioni con quelle di Maine, Massachusetts, Michigan, New Hampshire, Ohio and Pennsylvania**



Studio caso-controllo

- **Definizione di caso:**
 - Infezione con *Salmonella* Typhimurium
 - PFGE CDCPulseNet *Xbal* pattern JPX001.0178
 - PFGE CDCPulseNet *Blnl* pattern JPXA26.0186
 - Inizio sintomi dopo il 1° maggio 2005
- **Definizione di controllo:**
 - Appaiato per età
 - Selezionato con numeri casuali
 - Persone che non presentano diarrea dal 15 Maggio 2005



Questionario

- **Somministrato telefonicamente dall'8 al 16 luglio 2005**
- **Focalizzato sul consumo di succo di frutta e su quello di frutta e verdura da almeno il 30% dei pazienti intervistati per verificare le ipotesi**
- **I controlli sono stati interrogati sull'esposizione durante la prima settimana di giugno del 2005**

Questionario

- **Domande dettagliate sul consumo di mela e di succo d'arancia**
 - **Luogo e data dell'acquisto, luogo di consumo, marca, tipo di lavorazione e pastorizzazione del succo nei 7 giorni precedenti l'inizio dei sintomi**
- **Questionario supplementare per conoscere la provenienza del succo d'arancia**
 - **Contattati direttamente i negozi per ottenere informazioni sui distributori**
 - **Contattati i distributori per determinare la provenienza del prodotto**



Indagini di laboratorio

- **Laboratori di analisi della sanità pubblica dello stato**
 - Serotipo e sottotipi di *Salmonella* isolati con la PFGE
- **CDC**
 - Conferma che gli isolati selezionati hanno lo stesso ceppo dell'epidemia
 - Test di antibiotico resistenza
- **Laboratori dello Stato e CDC**
 - Coltura sul succo d'arancia della Compagnia X ottenuto da pazienti o stabilimenti
 - Campioni raccolti dall'11 luglio al 1° agosto 2005

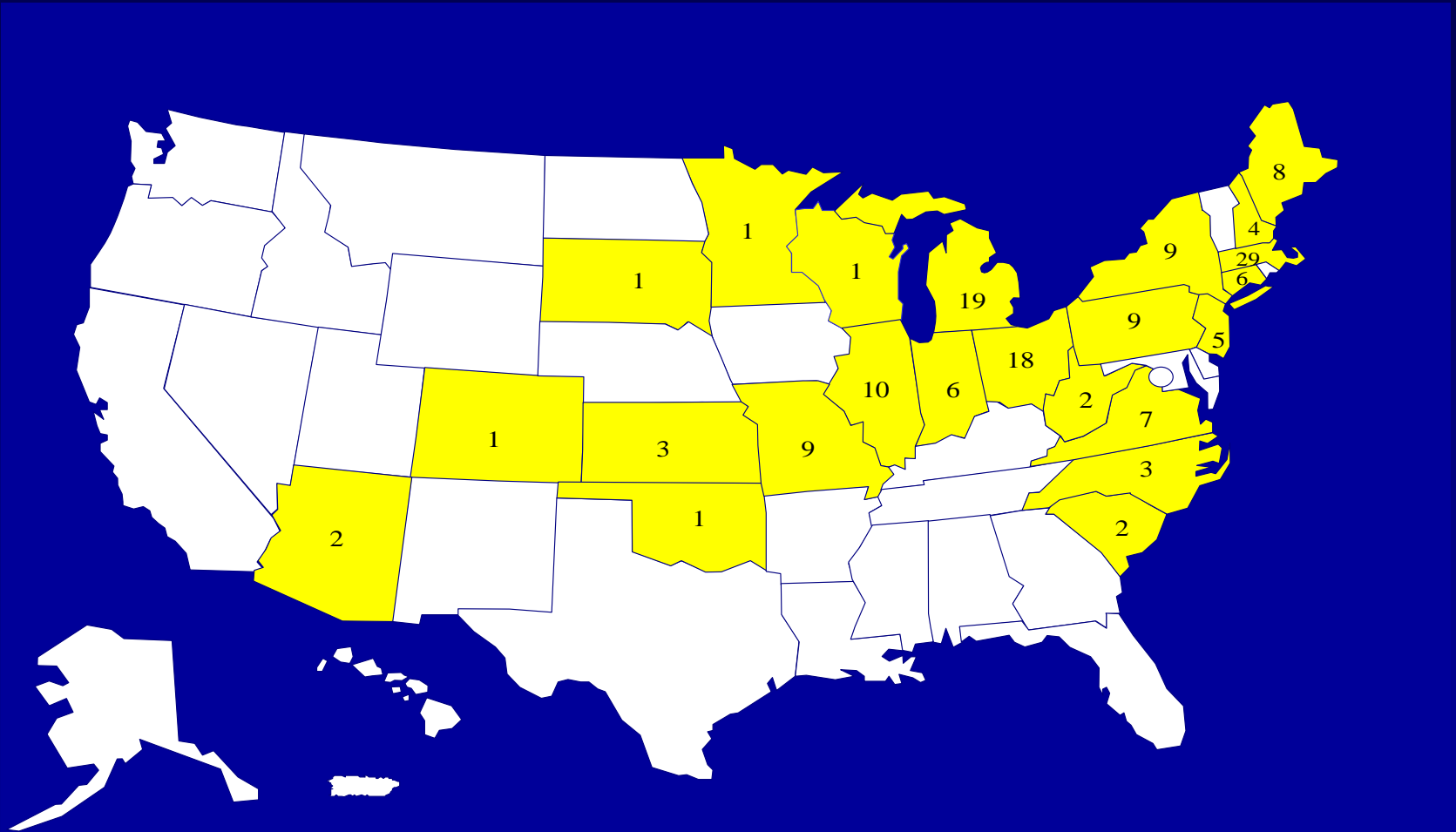


Trace-back indagine ambientale

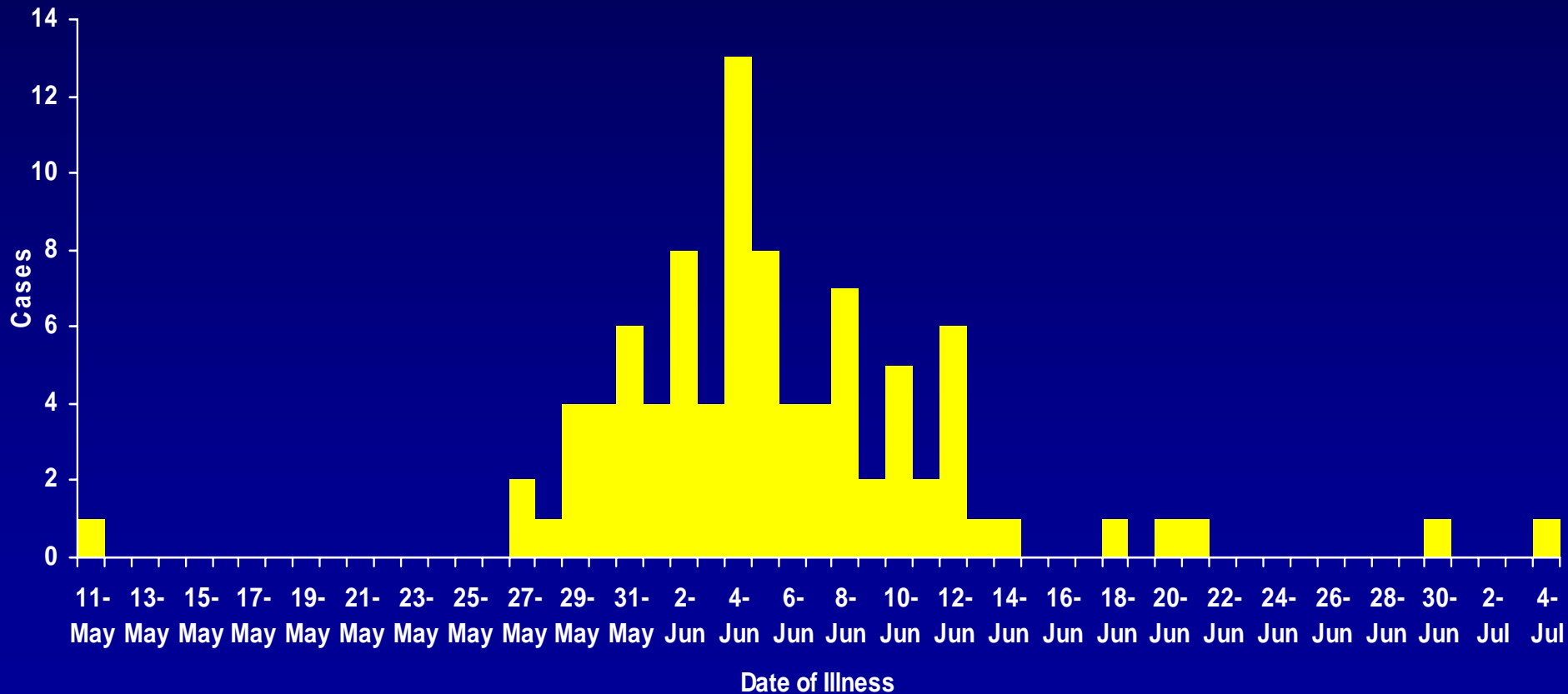
- **Dipartimenti di salute locali e statali**
 - Ispezionati negozi, ristoranti e resort dove è stato servito il succo della Compagnia X
- **The Food and Drug Administration (FDA)**
 - Ispezione agli impianti della Compagnia X
 - Tamponi ambientali e campioni di succo analizzati
 - Valutato il rispetto delle regole dell'HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Point)



Numero di Casi per Stato – Epidemia *Salmonella* *Typhimurium* – USA 2005 (N=156)



Casi per data inizio sintomi – *Salmonella* Typhimurium Outbreak – United States 2005 (N=95)



Profilo dei malati (N=95)

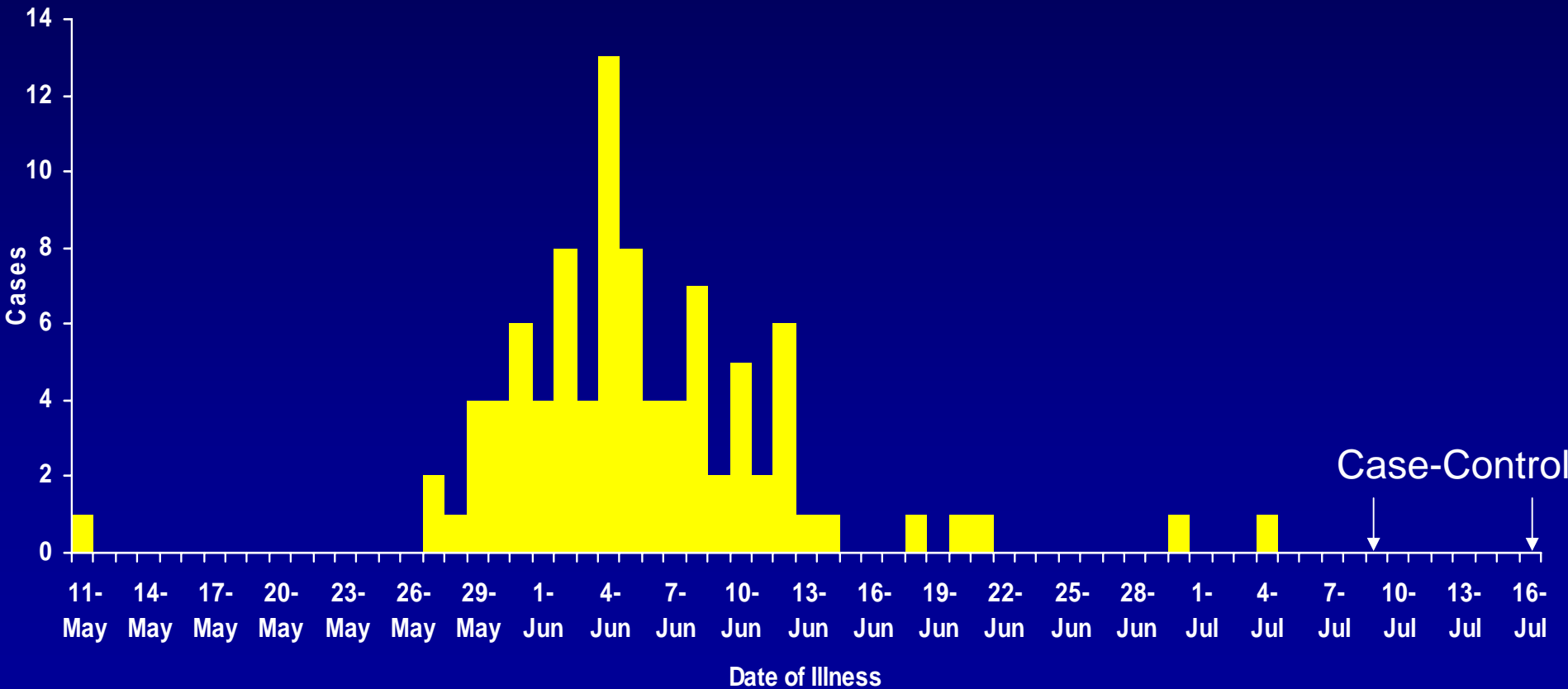
- **Età: 5.5 mesi - 78 anni (età mediana 22.5 anni)**
- **Sesso: 46 (48%) femmine**

Sintomi	Casi %
Diarrea	96%
Crampi addominali	90%
Febbre	81%
Sangue nelle feci	56%
Eemicrania	55%
Brividi	54%
Nausea	44%
Vomito	37%

Profilo dei casi (N=95)

- **Durata della malattia**
 - range 2-23 giorni (mediana 7 giorni)
- **Gravità della clinica**
 - 96% ha richiesto cure mediche, 24% ospedalizzato e 54% assente a scuola o al lavoro
 - 60% ha ricevuto antibiotici
 - Nessun decesso

Timeline dell'indagine



Studio caso - controllo

- Al momento dello studio, 45 casi isolati di *Salmonella* Typhimurium coincidevano con il pattern dell'epidemia
- 38 casi e 53 controlli
 - 5 stati (Maine, Massachusetts, Michigan, Ohio, and Pennsylvania)



Esposizione nei casi e controlli – Epidemia *Salmonella* Typhimurium – United States 2005

Esposizione	Casi esposti/ totale (%)	Controlli esposti/ totale (%)	Odds Ratio Appaiati	Exact 95% Confidence Interval	p-value
Succo arancia	34/38 (90)	24/52 (45)	22.2	3.5 – 927.5	< 0.0001
Viaggi	14/37 (38)	7/52 (14)	4.0	1.2 - 17.3	0.0188
Succo di marca X	20/38 (53)	0/53 (0)	undefined	7.1-infinity	< 0.0001
Succo di marca Y	14/38 (37)	10/53 (19)	4.2	1.1-24.2	0.0387

Note: solo variabili con significatività statistica by the Mantel-Haenszel summary chi-square test are included



Esposizione nei casi e controlli – Epidemia *Salmonella* Typhimurium – United States 2005

Esposizione	Casi esposti/ totale (%)	Controlli esposti/ totale (%)	Odds Ratio Appaiati	Exact 95% Confidence Interval	p-value
Succo arancia	34/38 (90)	24/52 (45)	22.2	3.5 – 927.5	< 0.0001
Viaggi	14/37 (38)	7/52 (14)	4.0	1.2 - 17.3	0.0188
Succo di marca X	20/38 (53)	0/53 (0)	undefined	7.1-infinity	< 0.0001
Succo di marca Y	14/38 (37)	10/53 (19)	4.2	1.1-24.2	0.0387

Note: only variables that reached statistical significance by the Mantel-Haenszel summary chi-square test are included



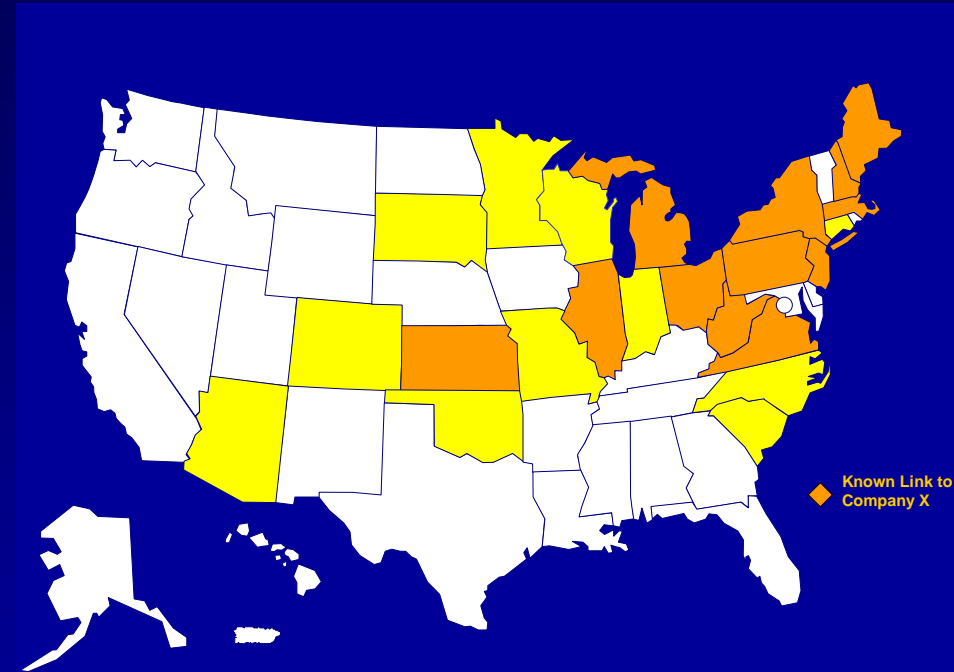
Modello di regressione logistica

- **Include le variabili per consumo di succo d'arancia di marca X e di marca Y**
- **Solo il succo di marca X rimane associato significativamente con la malattia**
 - **OR_{adj} indefinito, 95% CI 7.1-infinito**



Pazienti associati al succo d'arancia marca X

- 73/95 (83%) pazienti hanno bevuto succo d'arancia
- Informazioni sulla marca disponibili per 72(99%)
- 37 (52%) pazienti da 12 stati hanno bevuto succo di marca X



Indagine di laboratorio PulseNet

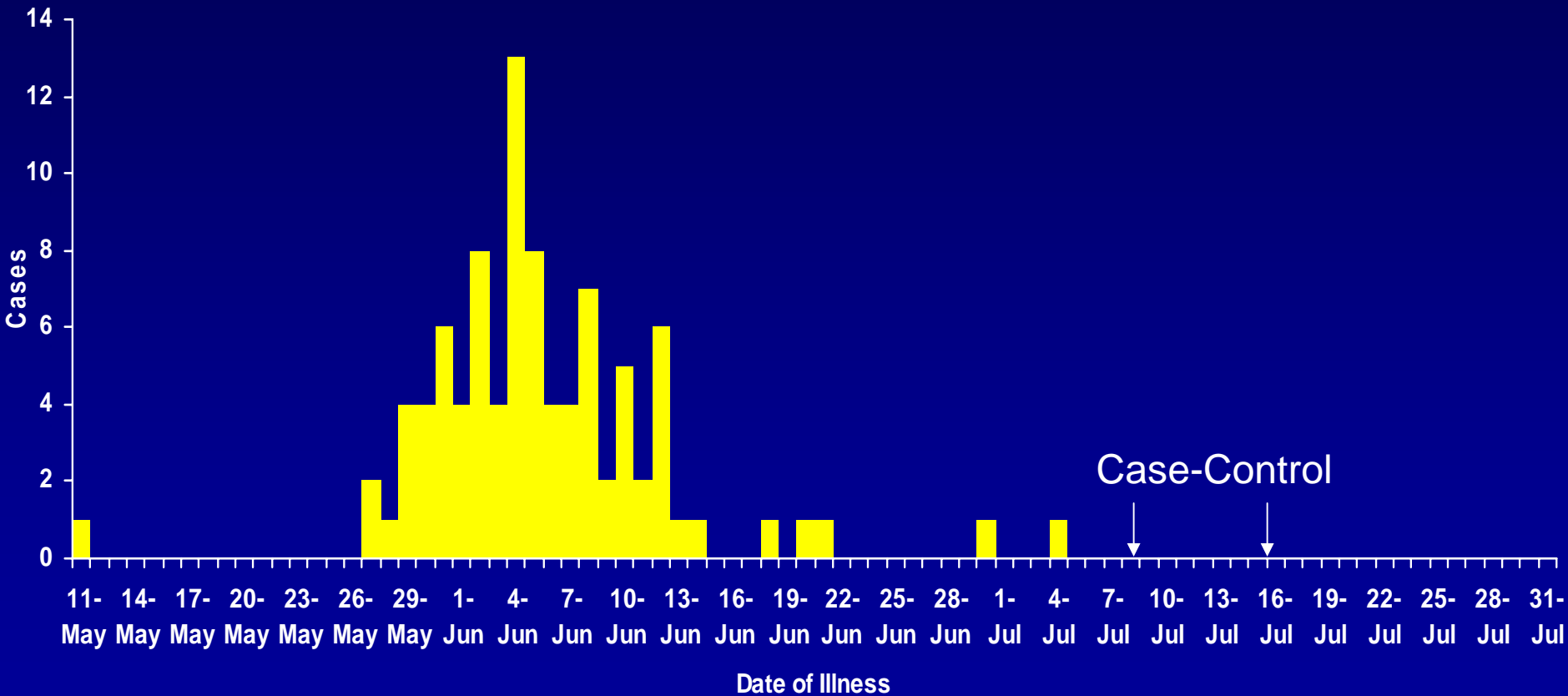
- Sottotipo di *Salmonella* Typhimurium pattern *Xbal* numero JPX001.0178
 - 0.4% dal database nazionale PulseNet dal 1996-2005
- *BlnI* pattern numero JPXA26.0186 mai trovato in precedenza
- Questo pattern di epidemia di *Salmonella* Typhimurium limitato a due enzimi era del tutto nuovo per il database PulseNet



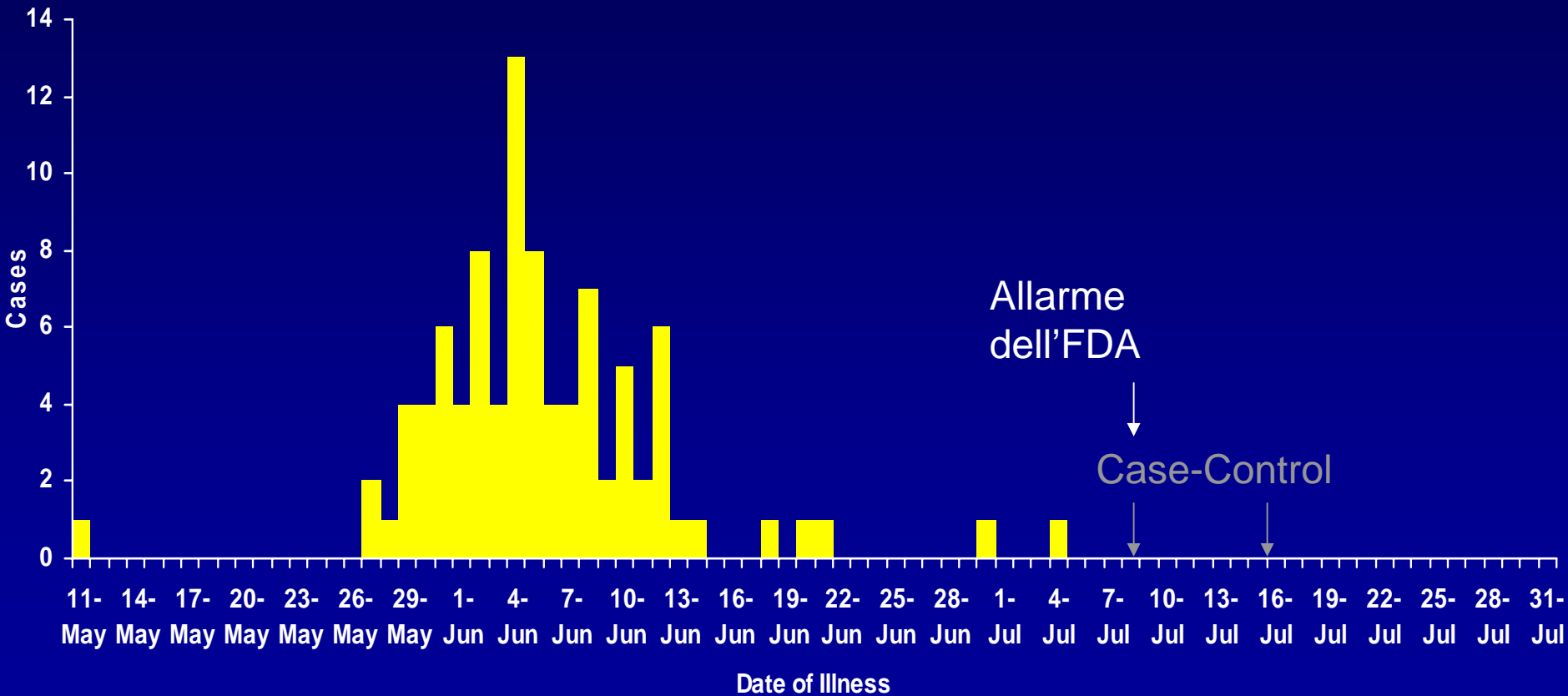
Indagine di laboratorio

- **Quattro isolati del ceppo dell'epidemia sensibile agli agenti antimicrobici standard**
- **Quattro campioni di succo d'arancia erano negativi alla *Salmonella***
 - **contenitori mai aperti di succo non pastorizzato della Compagnia X da altri pazienti o aziende**

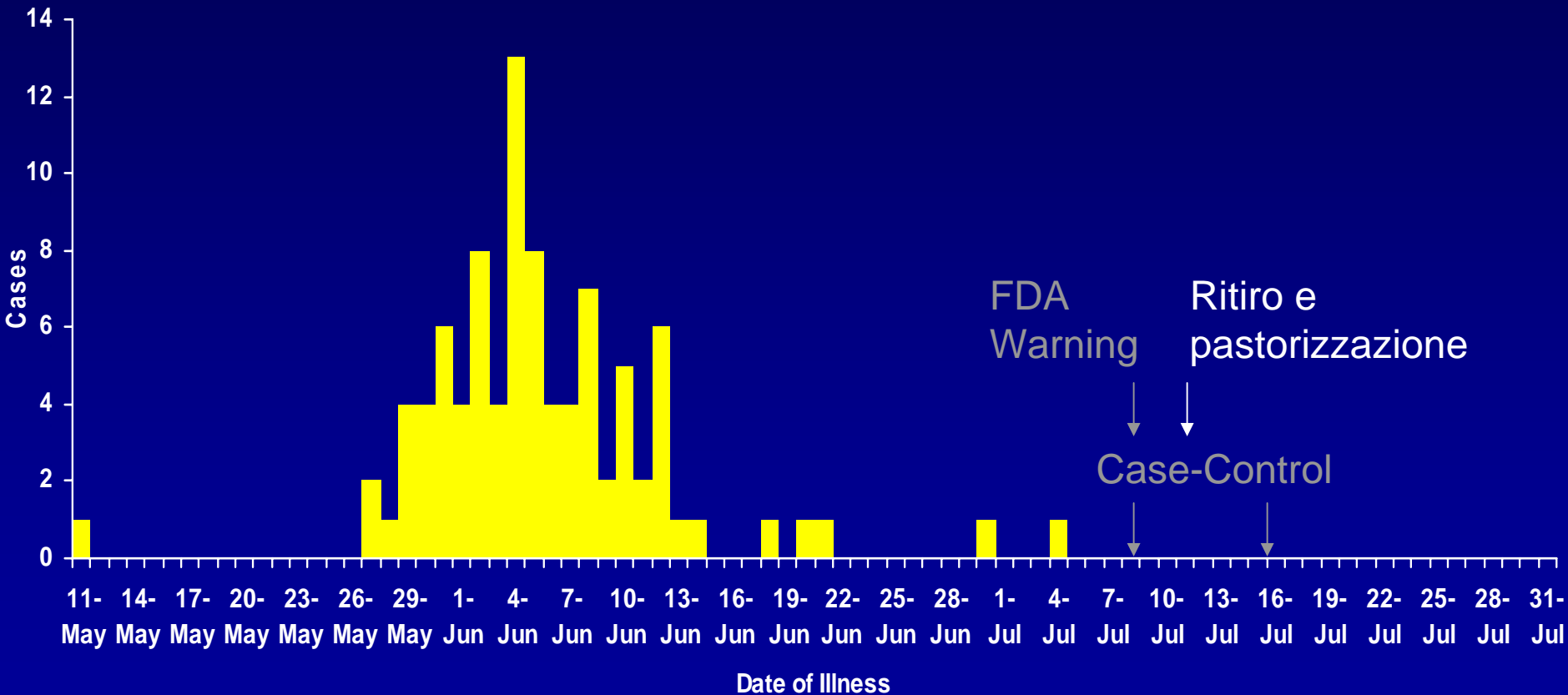
Indagine dell'FDA della Società X



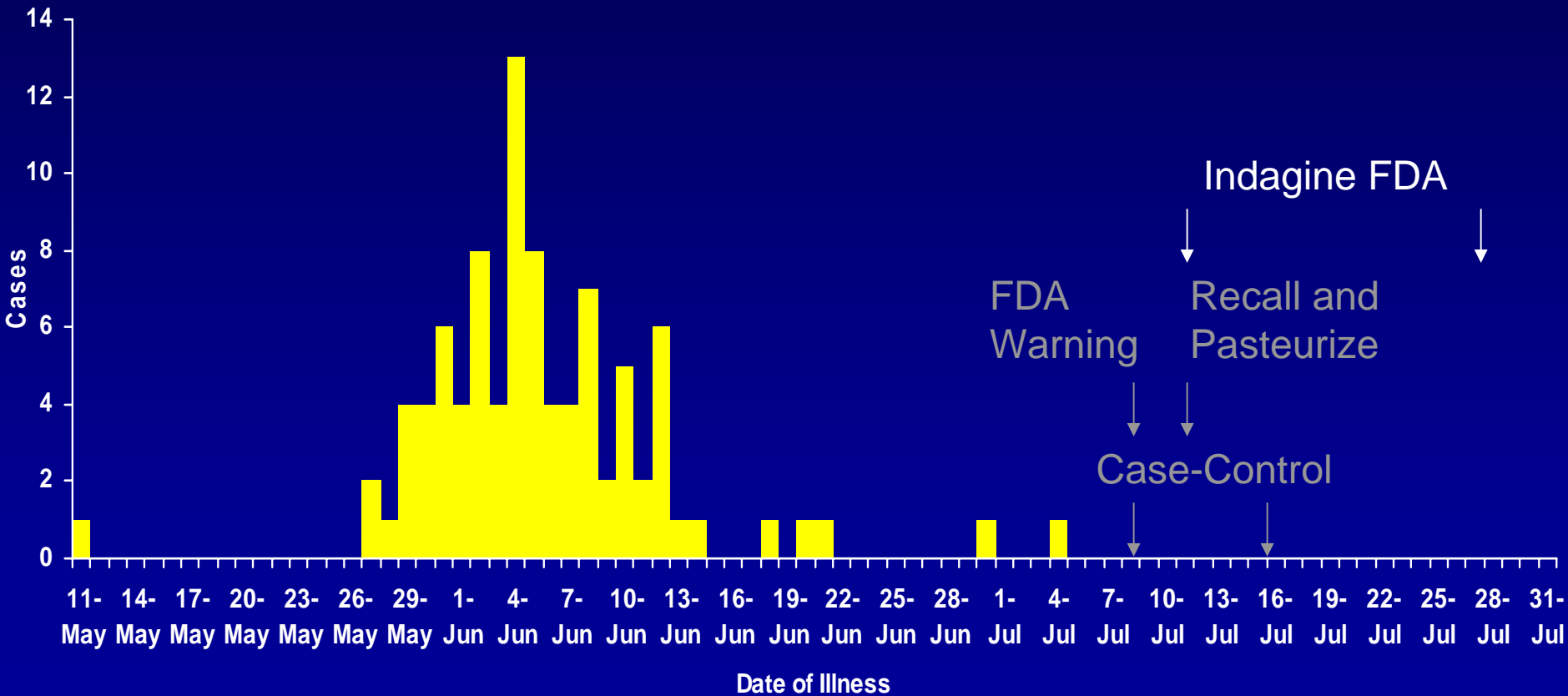
Indagine dell'FDA della Società X



Indagine dell'FDA della Società X



Indagine dell'FDA della Società X



Succo d'arancia marca X

- Etichettato come “spremuta fresca 100% naturale”
- Nessuna etichetta indicante trattamento o pastorizzazione per ridurre i patogeni
- Sito Web: “Spremuta da ordinare, mai succo concentrato, non pastorizzato”
- Distribuito a 31 stati e a Puerto Rico, internazionalmente a Canada, Francia e Giappone



Arance della Compagnia X



- **Ricevute**
 - **Direttamente dalla coltivazione**
 - **Ditta di imballaggio con magazzino refrigerato dove la frutta è raccolta, lavata e lucidata**
 - **Magazzino refrigerato della della Società X dove la frutta non viene né selezionata né lavata né lucidata**
- **Lavata con acqua normale e acqua igienizzata, spazzolata due volte e poi vaporizzata in un tubo**
- **Selezionata dopo la vaporizzazione**

* Per FDA report



Operazioni della Compagnia X

- **Subito dopo veniva estratto il succo**
- **Dopo l'estrazione era immediatamente portato a temperatura tra 28-30°C**
- **Il prodotto finale era spedito entro 72 ore**
 - Scadenza dopo 12-14
- **Pagina Web**
 - Pienamente conforme alle regole HACCP



Regole HACCP per i succhi



- **Sviluppate nel 2001, aggiornate tra 2002-2004**
- **Il succo e la buccia degli agrumi vanno sottoposti a pastorizzazione o altri metodi per raggiungere una riduzione del numero di microrganismi patogeni di 100,000 unità (5-log)**
 - **Si può usare una qualsiasi misura di controllo che abbia mostrato di ridurre il microrganismo ad almeno 5-log (ad es. alta pressione)**
 - **O si può usare un insieme di misure che abbiano come effetto di insieme una riduzione dei patogeni di 5-log**
- **Chi lavora il succo di agrumi può usare solamente trattamenti superficiali**
- **Chi lavora i succhi di altra frutta deve applicare al succo il trattamento per raggiungere i 5-log**

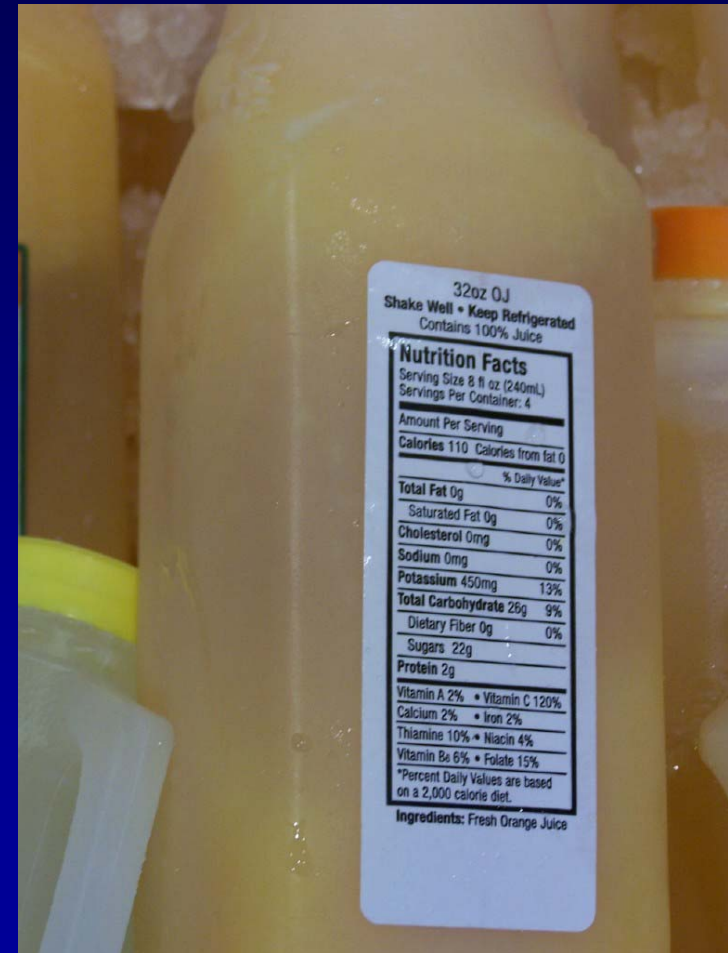
Indagine dell'FDA sulla società X

- Da gennaio a luglio 2005: ripetuta l'incidenza dei positivi ai test “Colicompleti” per *E.Coli* generico su spremute fresche di pompelmo, arancia e mandarino
 - Nessun metodo alternativo per raggiungere la riduzione a 5-log del patogeno
- La Società X non era conforme alle regole di igiene, registrazione e validazione richieste dall'HACCP



Indagine FDA del succo di frutta marca X

- Negativo per *Salmonella* Typhimurium
- Positivo per *Salmonella* Saintpaul (27 luglio, 2005)
 - CDC PulseNet Xbal pattern JN6X01.0030



Metodi di indagine per la *Salmonella* Saintpaul

- Richiesto ai laboratori di stato il PFGE per tutti gli isolati di *Salmonella* Saintpaul ricevuti dal 1° maggio 2005
- richiesto agli stati di intervistare i pazienti che rispondevano alla definizione di caso con un questionario standardizzato
- Definizione di caso *di Salmonella* Saintpaul:
 - Infezione da *Salmonella* Saintpaul
 - Isolato con PFGE il pattern trovato nel succo della società X per un enzima, CDC PulseNet *Xba*I pattern JN6X01.0030
 - Inizio sintomi dopo il 1° maggio 2005

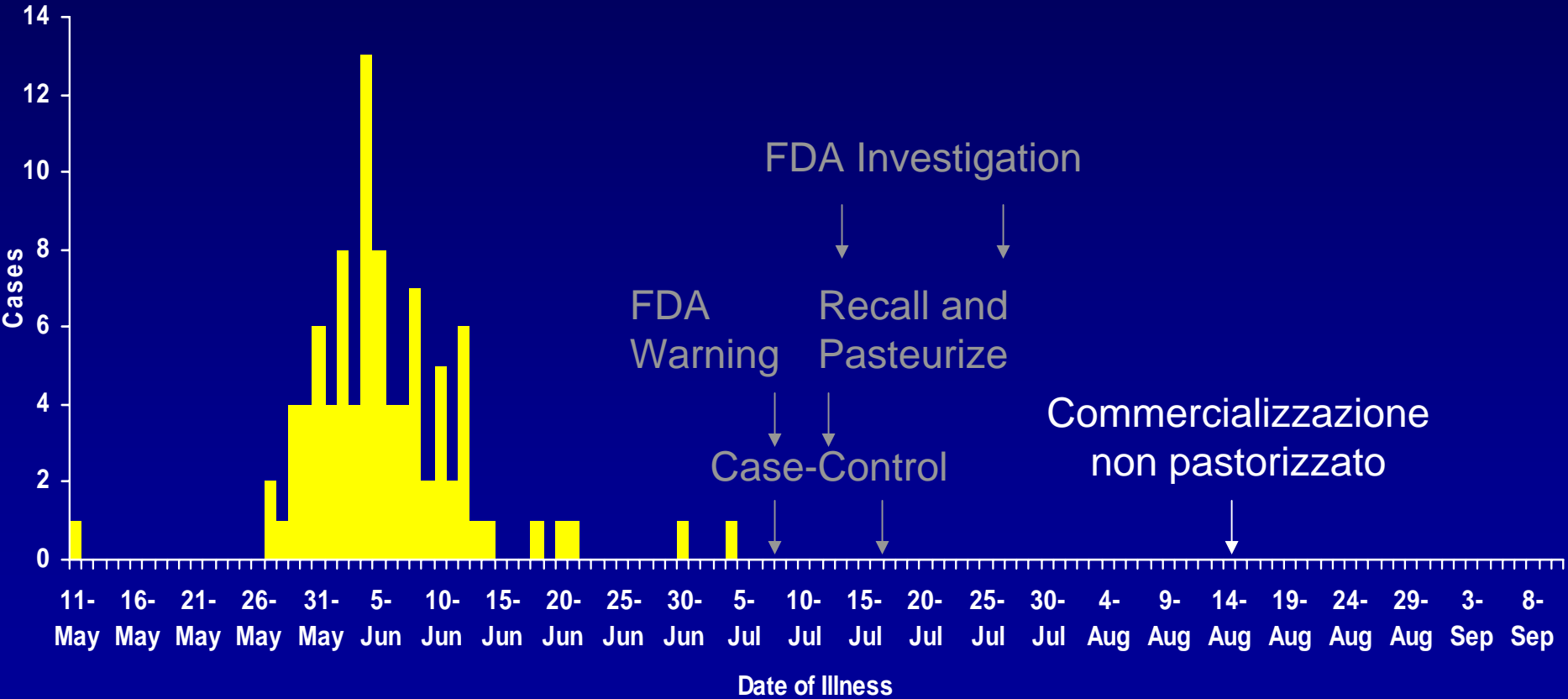


Salmonella Saintpaul: risultati dell'indagine

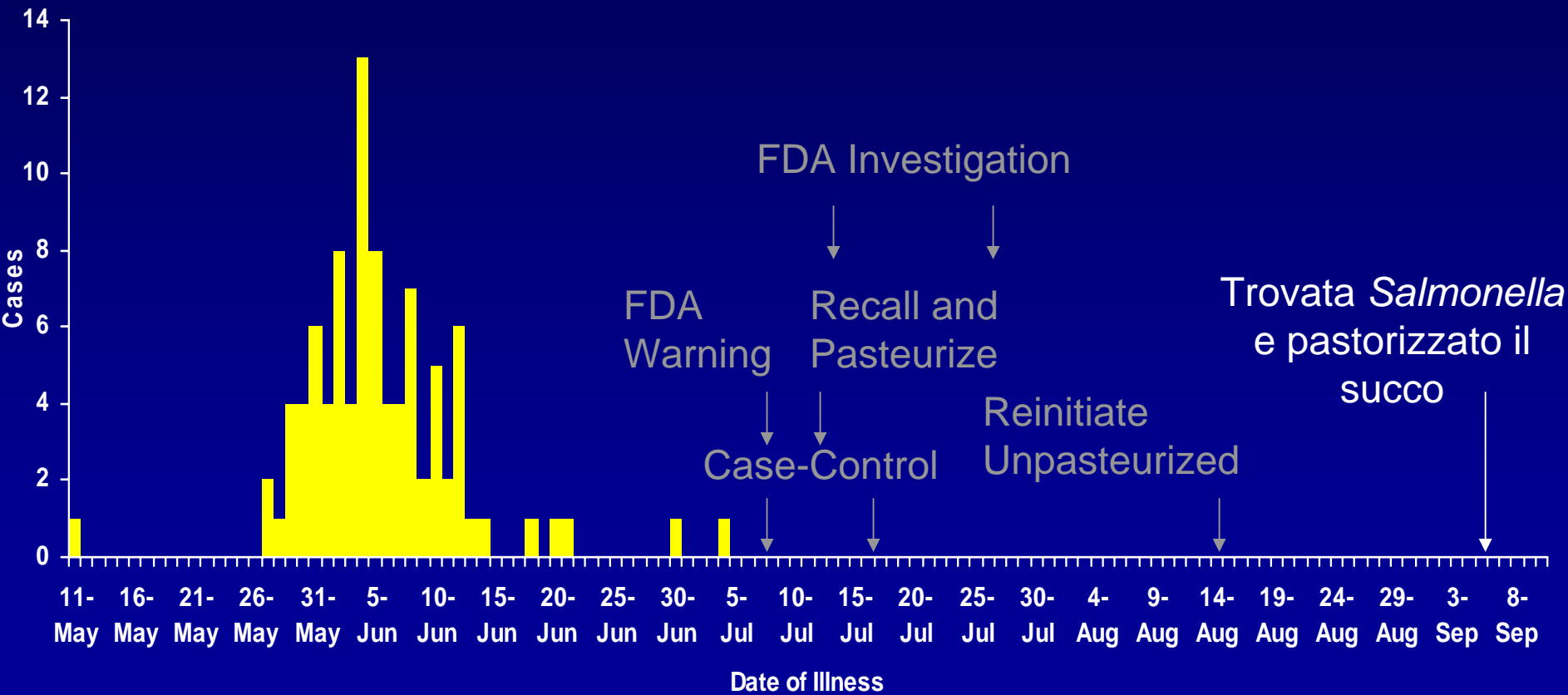
- **12 casi di *Salmonella* Saintpaul in 5 stati**
- **Informazione da 5 (42%) pazienti**
 - **Data di inizio sintomi dal 29 giugno al 7 settembre 2005**
 - **Età < 1- 7 anni (mediana 4 anni); 1 femmina**
 - **60% ha richiesto cure mediche, 20% ospedalizzato e nessun decesso**
 - **3 (60%) hanno bevuto succo d'arancia nella settimana precedente all'insorgere della malattia**
 - **1 riferisce di aver bevuto il succo di marca X**



Follow-up Società X



Follow-up Società X



Riassunto

- **Ampia epidemia multistato di *Salmonella* Typhimurium nel maggio e giugno del 2005**
 - Ceppo PFGE mai riscontrato in precedenza
- **Consumo di succo d'arancia; in particolare il succo non pastorizzato di marca X è stato associato con forza all'insorgere della malattia**
 - Prima epidemia associata con succo di arancia non pastorizzato dall'aggiornamento del regolamento HACCP
- **Pastorizzazione o altri trattamenti affidabili del succo d'arancia possono prevenire epidemie simili nel futuro**

Limiti

- Il PFGE è importante per l'indagine ma può causare qualche ritardo per gli accertamenti
- Nessuna informazione collegata alla dose-effetto
- Informazioni sulla marca incomplete

Conclusioni

- Il subtyping di routine per gli isolati di *Salmonella* è stata la chiave per identificare l'ampiezza dell'epidemia
 - la *Salmonella* Typhimurium è il serotipo più comune di *Salmonella*, quindi ulteriori differenziazioni con la PFGE ci hanno permesso di individuare l'epidemia
- Informazioni supplementari sull'esposizione a negozi e distributori è stata la chiave per la conferma dell'associazione ad una particolare marca di succo
 - La marca è stata venduta con nomi diversi
 - In ristoranti e resort venduta al bicchiere

Conclusioni

- **Il succo della Compagnia X reca evidenza di contaminazione batterica**
 - FDA ritrova *Salmonella* Saintpaul
 - La società X trova *E. coli* e *Salmonella*
- **Un paziente infetto da *S. Saintpaul* con lo stesso PFGE pattern del succo aveva bevuto il succo della Compagnia X**

Conclusioni

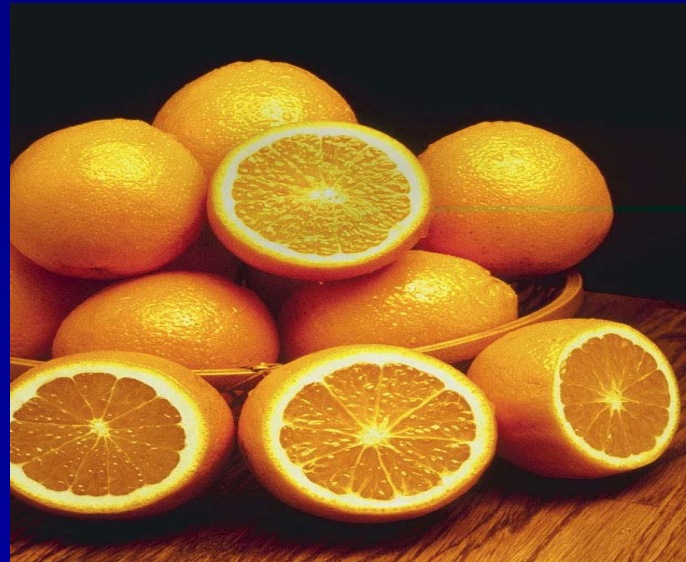
- **La Compagnia X non era conforme alle regole HACCP**
- **Non è chiaro come è avvenuta la contaminazione**
 - Frutta contaminata nei campi, sia sull'albero sia dopo essere caduta a terra
 - La *Salmonella* può aver resistito ai trattamenti sulla buccia
 - *Salmonella* può essere passata all'interno nella frutta danneggiata, nel qual caso un lavaggio esterno non l'avrebbe rimossa
 - Necessarie ulteriori ricerche per capire meglio come avviene la contaminazione degli agrumi

Raccomandazioni

- **I consumatori possono non essere al corrente di bere succo non pastorizzato**
 - **Bisogna migliorare le etichette indicando se il prodotto non è pastorizzato o indicando gli eventuali altri metodi a cui è stato sottoposto**
- **Bisogna rivedere le regole HACCP per i succhi**
 - **Le regole vanno cambiate?**
 - **Vanno raccomandati metodi specifici?**
 - **Le società hanno bisogno di linee guida?**

Ringraziamenti

- **Maine Bureau of Health (Eastern Region)**
 - Kathleen F. Gensheimer
 - Vicki Rea
- **Massachusetts Dept. of Public Health**
 - Erica Berl
 - Franny Elson
- **Michigan Dept. of Community Health**
 - Sally A. Bidol
 - Dana Esterle
- **New Hampshire Dept. of Health & Human Services**
 - Elizabeth R. Gagnon
 - Rachel Plotinsky
- **Ohio Dept. of Health**
 - Mysheika LeMaile-Williams
 - Ellen Salehi
- **Pennsylvania Dept. of Health**
 - Marshall P. Deasy III
 - Mária E. Moll
- **Food and Drug Administration**
 - Regional Florida Team
 - Clifford Purdy
- **Centers for Disease Control and Prevention, Foodborne and Diarrheal Disease Branch**
 - Liz Blanton
 - Chris Braden
 - Michael Hoekstra
 - Michael Lynch
 - Rob Tauxe
 - Jazmin Vojdani
 - Kristin Wilson
 - Rachel Woodruff
 - Patty Yu
- **CDC PulseNet**
 - Jana Lockett
 - Nehal Patel



Contact:

Seema Jain, MD

Epidemic Intelligence Service Officer

Foodborne and Diarrheal Diseases Branch

Centers for Disease Control and Prevention

1600 Clifton Road, MS A-38

Atlanta, GA 30333

Ph: 404-639-2206

Fax: 404-639-2205

Email: bwc8@cdc.gov



PulseNet Laboratory Investigation – May 1- December 6, 2005

- 232 isolates of *Salmonella* Typhimurium subtyped as *Xba*I pattern number JPX001.0178
 - 0.4% of the national PulseNet database from 1996-2005
- 198 isolates had available *Bln*I pattern numbers
 - 156 isolates subtyped as JPXA26.0186 and indistinguishable from the outbreak strain
 - *Bln*I enzyme pattern never previously seen
- This *Salmonella* Typhimurium outbreak pattern by two restriction enzymes was brand new to the PulseNet database

