

# STUDIO SULLA PREVALENZA DELLA SALMONELLA ISOLATA DA MATRICI DI ORIGINE AVICOLA IN TRE ANNI DI ATTIVITÀ DIAGNOSTICA (2007, 2008, 2009)

Fiorentini L.<sup>1</sup>, Tosi G.<sup>1</sup>, Taddei R.<sup>1</sup>, Massi P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Sezione Diagnostica di Forlì

## Abstract

The risk of contamination of avian products with *Salmonella spp.* is well known to the international scientific community. The present study is aimed at evaluating the actual significance of this issue in avian farms. To this purpose, the prevalence of the different serotypes of *Salmonella spp.* isolated from avian specimens during three years of diagnostic activities has been assessed.

## Riassunto

Il rischio di contaminazione dei prodotti avicoli da parte di *Salmonella spp.* è noto alla comunità scientifica internazionale. Il seguente studio valuta la prevalenza dei vari sierotipi di *Salmonella* isolati da diverse matrici di origine avicola in tre anni di attività diagnostica, al fine di definire la reale portata del problema negli allevamenti.

## Introduzione

La sicurezza biologica dei prodotti di origine animale è un aspetto che da sempre interessa il consumatore. Anche la Comunità Europea, con l'emanazione del Regolamento CE 2160/2003 (1), relativo al "Controllo della *Salmonella* e di altri agenti zoonotici specifici presenti negli alimenti", pone in primo piano l'importante ruolo del pollame quale responsabile della trasmissione all'uomo di microrganismi patogeni. *Salmonella enterica* è ritenuta responsabile di molti casi di zoonosi di origine aviaria (2), nonostante i sistemi di raccolta dei dati epidemiologici, spesso basati sulla sorveglianza passiva, tendano a sottostimare l'incidenza dei casi d'infezione umana.

Attualmente, le misure di controllo previste, sono rappresentate dalla presenza di adeguati piani che prevedono autocontrolli aziendali e controlli ufficiali, atti a garantire il rispetto delle principali misure di biosicurezza ed igiene ed escludere la presenza di eventuali infezioni salmonellari negli allevamenti.

In tale ottica, l'obiettivo primario di questo studio, è quello di valutare la prevalenza della *Salmonella* isolata da campioni di origine avicola negli anni 2007, 2008, 2009 ed individuare le matrici maggiormente incriminate nei diversi casi di positività.

## Materiali e metodi

Venivano raccolti ed analizzati i risultati di tre anni di attività diagnostica svolta presso i laboratori della Sezione di Forlì dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna (IZSLER). Tali risultati riguardavano le indagini microbiologiche per *Salmonella* condotte a partire da diversi campioni,

tutti prelevati in allevamenti avicoli. Le analisi microbiologiche seguivano diversi protocolli sotto riportati:

- 1) Prearricchimento in terreno liquido non selettivo (Acqua Peptonata Tamponata - Buffered Peptone Water), inoculato con il campione in esame. Arricchimento in terreno liquido selettivo (Brodo Rappaport-Vassiliadis) inoculato con la coltura in pre-arricchimento. Isolamento su terreno solido selettivo (Hektoen Enteric Agar) seminato dal precedente arricchimento. Selezione e trapianto di colonie sospette. Identificazione biochimica e sierologica delle colonie trapiantate (3,4,5).
- 2) Prearricchimento in terreno liquido non selettivo (Acqua Peptonata Tamponata - Buffered Peptone Water), inoculato con il campione in esame. Arricchimento in terreno selettivo semisolido (Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis). Isolamento su piastra (Xilose Lysine Deoxycholate agar e Brilliant Green Agar). Selezione e trapianto di colonie sospette. Identificazione biochimica e sierologica delle colonie trapiantate (6,7,8).
- 3) Prearricchimento in terreno liquido non selettivo (Acqua Peptonata Tamponata - Buffered Peptone Water), arricchimento in terreno liquido selettivo (Rappaport Vassiliadis con soja, Muller-Kauffmann con tetrathionato e novobiocina), isolamento su piastra (Xylose lysine deoxycholate agar e Brilliant Green Agar). Selezione e trapianto di colonie sospette. Identificazione biochimica e sierologica delle colonie trapiantate (6,8,9).

## **Risultati**

I risultati sono riportati nelle tabelle e nei grafici.

## **Conclusioni**

La *Salmonella* è un germe ubiquitario, quindi difficile da eradicare. La profilassi diretta ed indiretta, la sorveglianza ed il monitoraggio, consentono di evidenziare settori critici e di seguire nel tempo l'evoluzione delle infezioni e dei sierotipi circolanti più prevalenti e maggiormente coinvolti nei casi d'infezione umana.

In tre anni di attività dei laboratori di Forlì dell'IZSLER, venivano condotte, a partire da campioni di origine avicola, oltre 30000 indagini microbiologiche per *Salmonella* di cui 1113 (3,6%) conferimenti risultavano positivi.

### Sierotipi maggiormente prevalenti:

anno 2009 *S. livingstone*, *S. Kentucky*, *S. muenchen*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis* e *S. bredeney*

anno 2008 *S. hadar*, *S. enteritidis*, *S. muenchen*, *S. bredeney*, *S. montevideo* e *S. livingstone*

anno 2007 *S. enteritidis*, *S. hadar*, *S. bredeney*, *S. typhimurium*, *S. virchow*, *S. muenchen*

### Matrici maggiormente incriminate:

anno 2009 polvere, materia prima (soja), meconio e mangime

anno 2008 visceri, materia prima (soja), acqua di abbeverata, piumino e polvere

anno 2007 visceri, materia prima (soja), polvere e sovrascarpe

I risultati portano a sottolineare come le materie prime siano importanti fonti di contaminazione spesso correlate epidemiologicamente nei casi d'infezione negli animali.

Per concludere, è noto come l'introduzione di *Salmonelle* in allevamento possa avvenire attraverso animali infetti, contatto con animali selvatici e domestici, ma soprattutto per contaminazione ambientale. Da ciò si deduce come acqua e mangime rappresentino un'importante fonte di contaminazione. Le misure preventive per evitare la loro contaminazione sono rappresentate dal controllo delle materie prime e dall'applicazione di rigide misure igieniche durante la loro preparazione. L'efficacia dei controlli, inoltre, non può prescindere da una corretta identificazione degli animali infetti. Un approccio valido è quello di eseguire costanti monitoraggi attraverso accurati prelievi e controlli microbiologici.

### **Bibliografia**

- 1) Regolamento (CE) N. 2160/2003 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 17 novembre 2003 sul controllo della Salmonella e di altri agenti zoonotici specifici presenti negli alimenti (GU L325 del 12/12/2003 pag. 1-15)
- 2) "The Community Summary Report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008"
- 3) The American Association of Avian Pathologists: "A laboratory Manual For The Isolation and Identification of Avian Pathogens" – third edition- 1989
- 4) G.R. Carter, J.R. Cole: "Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Microbiology and Micology – fifth edition- 1990
- 5) O.I.E. : "Manual of Standards for Diagnostic Tests And Vaccines" – fifth edition- 2004
- 6) ISO 6579:2002 "Microbiology of Food and Animal Feeding Stuff- Horizontal method for the detection of Salmonella spp. " Tecnical corrigendum 1:2004
- 7) ISO 6579:2002/Amd 1:Annex D: Detection of Salmonella spp. in animal faeces and in environmental samples from the primary production stage (2007)
- 8) Zavanella M. Tipizzare le salmonelle. Brescia: Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche; 2001
- 9) ISO 6579:2002 "Microbiology of Food and Animal Feeding Stuff- Horizontal method for the detection of Salmonella spp" (2002)

**Tabella 1.** Salmonelle 2007.

<b>ANNO 2007</b>		
<b>N. TOT ANALISI PER SALMONELLA: 9224</b>		
<b>N TOT. POSITIVI e % di positività: 284 (3%)</b>		
<b>TIPO DI MATRICE</b>	<b>TOTALE ANALIZZATE</b>	<b>TOTALI POSITIVE PER SALMONELLA (%) DI POSITIVITA'</b>
visceri	44	8 (18)
materia prima (soja)	35	5 (14)
polvere	136	14 (10)
sovrascarpe	67	7 (10)
paglia	14	1 (7)
piumino	658	30 (5)
feci	1579	7 (5)
tamponi	570	21 (4)
carcasse	2288	75 (3)
meconio	119	3 (3)
pulcini 1g.	527	9 (2)
fondi scatola	419	9 (2)
lettiera	44	1 (2)
acqua di abbeverata	58	1 (2)
mangime	426	7 (2)
uova embrionate	368	3 (1)
residui di inc.	1916	16 (1)
<b>SIEROTIPO TOTALE POSITIVI (% DI PREVALENZA) sul totale analisi <i>Salmonella</i></b>	<b>MATRICE D'ISOLAMENTO</b>	<b>N° MATRICI POSITIVE</b>
<b>S. enteritidis 40 (0,4)</b>	Carcasse	24
	Feci	4
	Visceri	4
	Tamponi	2
	Residui inc.	2
	Sovrascarpe	2
	Polvere	1
	Fondi scatola	1

<p><b>S. hadar</b> 39 (0,4)</p>	<p>Feci Carcasse Sovrascarpe Piumino Residui inc. Pulcini 1g. Tamponi Fondi scatola Lettiera</p>	<p>18 7 4 3 2 2 1 1 1</p>
<p><b>S. bredeney</b> 35 (0,4)</p>	<p>Carcasse Piumino Feci Polvere Residui inc. Fondi scatola Tamponi</p>	<p>10 9 9 4 1 1 1</p>
<p><b>S. typhimurium</b> 27 (0,3)</p>	<p>Carcasse Feci Polvere Residui inc. Piumino Acqua abbev. Mangime Meconio visceri</p>	<p>11 7 2 2 1 1 1 1 1</p>
<p><b>S. virchow</b> 23 (0,2)</p>	<p>Piumino Carcasse Feci Tamponi Pulcini 1g. Residui inc. Fondi scatola</p>	<p>8 3 3 3 2 2 2</p>
<p><b>S. muenchen</b> 22 (0,2)</p>	<p>Feci Carcasse Piumino Pulcini 1g. Polvere Tamponi Paglia</p>	<p>8 4 3 2 2 2 1</p>
<p><b>S. livingstone</b> 21 (0,2)</p>	<p>Residui inc. Tamponi Carcasse Feci Pulcini 1g. Piumino Fondi scatola</p>	<p>6 5 4 2 2 1 1</p>

<b>S. newport</b> 13 (0,1)	feci Polvere Carcasse Residui inc. piumino	6 3 2 1 1
<b>S.heidelberg</b> 9 (0,1)	Piumino Tamponi Pulcini 1g. Meconio Visceri Feci Fondi scatola	2 2 1 1 1 1 1
<b>S. corvallis</b> 9 (0,1)	Tamponi Uova embrionate Fondi scatola feci	5 2 1 1
<b>S. blockley</b> 5 (0,05)	carcasse	5
<b>S.isangi</b> 5	Mangime Feci Uova embrionate	2 2 1
<b>S.kentucky</b> 5 (0,05)	Polvere Feci carcasse	2 2 1
<b>S. saintpaul</b> 4 (0,04)	Carcasse Feci tamponi	2 1 1
<b>S. mbandaka</b> 3 (0,03)	Sovrascarpe Materia prima (soja) feci	1 1 1
<b>S. kedougou</b> 3 (0,03)	Materia prima (soja) mangima	2 1
<b>S. indiana</b> 3 (0,03)	Visceri carcasse	2 1
<b>S. senftenberg</b> 3 (0,03)	Tamponi Feci meconio	1 1 1

<b>S. agona</b> <b>3</b> <b>(0,03)</b>	Feci Piumino Fondi scatola	1 1 1
<b>S. tennessee</b> <b>2</b> <b>(0,02)</b>	Materia prima (soja) mangime	1 1
<b>S. oranienburg</b> <b>2</b> <b>(0,02)</b>	Feci	2
<b>S. ferruc</b> <b>1</b> <b>(0,01)</b>	Tamponi	1
<b>S. grumpensis</b> <b>1</b>	Piumino	1
<b>S. guilford</b> <b>1</b> <b>(0,01)</b>	Feci	1
<b>S. london</b> <b>1</b> <b>(0,01)</b>	Carcasse	1
<b>S. havana</b> <b>1</b> <b>(0,01)</b>	Materia prima (soja)	1
<b>S. mishmarhaemek</b> <b>1</b> <b>(0,01)</b>	Mangime	1
<b>S. montevideo</b> <b>1</b> <b>(0,01)</b>	Mangime	1
<b>S. thompson</b> <b>1</b> <b>(0,01)</b>	Feci	1

**Tabella 2.** Salmonelle 2008.

<b>ANNO 2008</b>		
<b>N. TOT ANALISI PER SALMONELLA: 10331</b>		
<b>N TOT. POSITIVI e (% di positività): 375 (3,6%)</b>		
<b>TIPO DI MATRICE</b>	<b>TOTALE ANALIZZATE</b>	<b>TOTALI MATRICI POSITIVE PER SALMONELLA (%) DI POSITIVITA'</b>
Visceri	27	4 (27)
Materia prima	56	6 (11)
Acqua di abbeverata	9	1 (11)
Piumino	82	8 (10)
Polvere	101	9 (9)
Feci	2005	105 (5)
Gusci	903	41 (5)
Mangime	275	11 (4)
Carcasse	2238	65 (3)
Fondi scatola	439	13 (3)
Sovrascarpe	932	23 (3)
Uova embr.	372	11 (3)
Pulcini 1g.	429	11 (3)
Tamponi	664	21 (3)
Paglia	33	1 (1)
Residui inc.	1692	33 (2)
Meconio	74	1 (1)
<b>SIEROTIPO TOTALE POSITIVI (% DI PREVALENZA) sul totale analisi <i>Salmonella</i></b>	<b>MATRICE D'ISOLAMENTO</b>	<b>N° MATRICI POSITIVE</b>
<b>S. hadar 49 (0,5)</b>	Feci	12
	Carcasse	9
	Sovrascarpe	9
	Gusci	5
	Fondi scatola	5
	Residui incub.	4
	Uova embr.	2
	Pulcini 1g.	2
Tamponi	1	



<p><b>S. enteritidis</b> 44 (0,4)</p>	<p>Feci Carcasse Tamponi Uova embr. Visceri Pulcini 1g Fondi scatola Sovrascarpe Polvere</p>	<p>17 14 3 3 2 2 1 1 1</p>
<p><b>S. muenchen</b> 43 (0,4)</p>	<p>Feci Carcasse Gusci Tamponi Fondi scatola Residui inc. Polvere Acqua abbev. Mangime</p>	<p>15 9 8 3 3 2 1 1 1</p>
<p><b>S. bredeney</b> 41 (0,4)</p>	<p>Gusci Carcasse Feci Piumino Sovrascarpe Residui di inc. Mangime Paglia Tamponi Fondi scatola Pulcini 1g.</p>	<p>11 9 9 3 2 2 1 1 1 1 1</p>
<p><b>S. montevideo</b> 33 (0,3)</p>	<p>Carcasse Gusci Feci Uova embr. Residui inc. Sovrascarpe Pulcini 1g. Mangime Tamponi Fondi scatola</p>	<p>7 6 5 5 2 2 2 2 1 1</p>
<p><b>S. livingstone</b> 33 (0,3)</p>	<p>Residui inc. Tamponi Gusci Piumino Carcasse Fondi scatola Pulcini 1g Meconio Feci</p>	<p>10 6 4 3 3 2 2 1 1</p>

<b>S. typhimurium</b> 18 (0,2)	Carcasse Feci Gusci Visceri Polvere Mangime Residui inc.	7 4 2 2 1 1 1
<b>S. agona</b> 16 (0,2)	Feci Gusci Polvere Sovrascarpe Tamponi Residui inc.	8 3 2 1 1 1
<b>S.kenuchy</b> 14 (0,1)	Feci Carcasse Sovrascarpe Tamponi Polvere Uova embr. Materia prima (soja)	5 3 2 1 1 1 1
<b>S. Newport</b> 12 (0,1)	Feci Tamponi Sovrascarpe Polvere Carcasse Residui	5 2 2 1 1 1
<b>S. anatum</b> 7 (0,07)	Soprascarpe Residui inc. Feci Tamponi	3 2 1 1
<b>S. infantis</b> 6 (0,06)	Piumino Residui inc. Sovrascarpe Gusci	2 2 1 1
<b>S. schwarzengrund</b> 6 (0,06)	Feci gusci	5 1
<b>S. thompson</b> 6 (0,06)	Feci Carcasse Pulcini 1g.	4 1 1
<b>S. virchow</b> 6 (0,06)	Feci Carcasse tamponi	4 1 1

<b>S. kedougou</b> 5 (0,05)	Mangime Carcasse Materia prima (soja)	3 1 1
<b>S. braedenburg</b> 4 (0,04)	Residui inc. Carcasse	3 1
<b>S. derby</b> 4 (0,04)	Residui inc. Feci Pulcini 1g. Tamponi	1 1 1 1
<b>S. heidelberg</b> 4 (0,04)	Feci Carasse Polvere	2 1 1
<b>S. blockley</b> 3 (0,03)	Residui inc.	3
<b>S. saintpaul</b> 3 (0,03)	Feci Carcasse	2 1
<b>S. baenderup</b> 2 (0,02)	Feci	2
<b>S. london</b> 2 (0,02)	Residui inc. Carcasse	1 1
<b>S. mbandaka</b> 2 (0,02)	Mangime	2
<b>S. oranienburg</b> 2 (0,02)	Materia prima (soja)	2
<b>S. senftenberg</b> 2 (0,02)	Feci Mangime	1 1
<b>S. coeln</b> 1 (0,001)	Feci	1
<b>S. guarapiranga</b> 1 (0,001)	Materia prima (soja)	1

<b>S.indiana 1 (0,001)</b>	Residui inc.	1
<b>S. isangi 1 (0,001)</b>	Feci	1
<b>S.krefeld 1 (0,001)</b>	Carcasse	1
<b>S. moade 1 (0,001)</b>	Carcasse	1
<b>S. orion 1 (0,001)</b>	Materia prima (soja)	1
<b>S. umbilo 1 (0,001)</b>	Sovrascarpe	1
<b>S. yoruba 1 (0,001)</b>	Polvere	1

**Tabella 3.** Salmonelle 2009.

<b>ANNO 2009</b> <b>N. TOT ANALISI PER SALMONELLA: 11415</b> <b>N TOT. POSITIVI e (% di positività): 454 (4%)</b>		
TIPO DI MATRICE	TOTALE ANALIZZATE	TOTALI MATRICI POSITIVE PER SALMONELLA (%) DI POSITIVITA'
Polvere	76	12 (15)
Materia prima soja	85	10 (12)
Meconio	63	7 (11)
Mangime	218	15 (7)
Feci	2584	140 (5)
Visceri	58	3 (5)
Tamponi	685	34 (5)
Fondi scatola	386	18 (5)
Piumino	75	4 (5)
Gusci	1056	52 (5)
Carcasse	1460	44 (3)
Residui inc.	1471	47 (3)
Soprascarpe	2464	42 (2)
uova embr.	393	7 (2)
pulcini 1g.	341	7 (2)
<b>SIEROTIPO</b> <b>TOTALE POSITIVI</b> <b>(% DI PREVALENZA)</b> <b>sul totale analisi</b> <i>Salmonella</i>	MATRICE D'ISOLAMENTO	<b>N° MATRICI POSITIVE</b> <b>(% di positività rispetto</b> <b>al n. totale di matrici</b> <b>analizzate nel 2009)</b>
<b>S. Livingstone</b> <b>113</b> <b>(1)</b>	Residui inc. Gusci Sovrascarpe Meconio Uova embr. Fondi scatola Pulcini 1g. Tamponi Carcasse Piumino Feci Polvere Mangime Materia prima (soja)	39 26 8 7 7 6 5 4 3 3 2 1 1 1

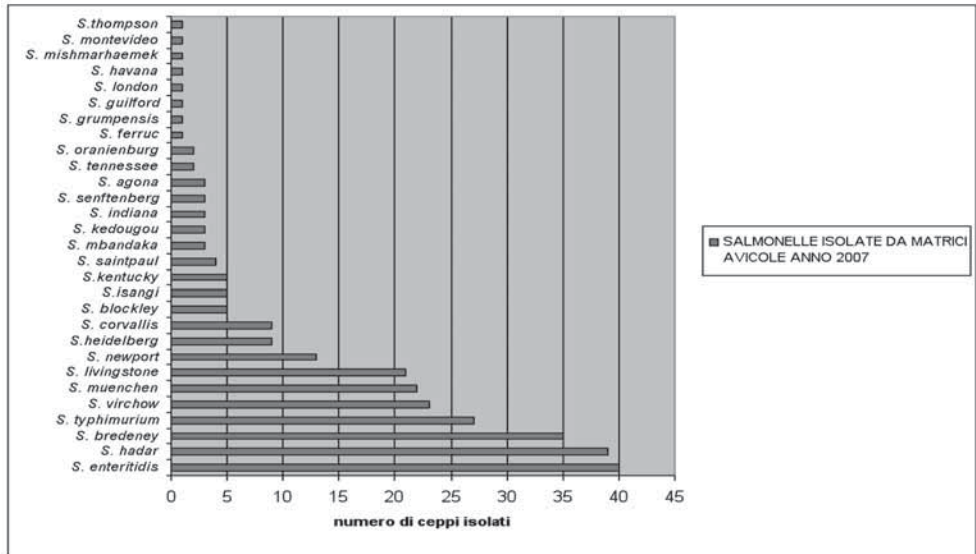
<b>S. Kentucky</b> <b>58</b> <b>(0,5)</b>	Feci Tamponi Polvere Sovrascarpe Fondi scatola Pulcini 1g. Mangime	38 10 4 3 1 1 1
<b>S. muenchen</b> <b>38</b> <b>(0,3)</b>	Feci Mangime Sovrascarpe Polvere Tamponi	23 9 3 2 1
<b>S. typhiurium</b> <b>36</b> <b>(0,3)</b>	Carcasse Residui inc. Tamponi Feci Visceri Gusci Materia prima (soja) Polvere	16 5 4 4 2 2 2 1
<b>S enteritidis</b> <b>32</b> <b>(0,3)</b>	Feci Sovrascarpe Gusci Tamponi Carcasse Polvere Pulcini 1g.	10 8 4 4 3 2 1
<b>S. bredeney</b> <b>27</b> <b>(0,2)</b>	Feci Carcasse Gusci Sovrascarpe Tamponi	15 6 4 1 1
<b>S. hadar</b> <b>19</b> <b>(0,2)</b>	Sovrascarpe Feci Carcasse Tamponi	12 4 2 1
<b>S. monteideo</b> <b>19</b> <b>(0,2)</b>	Gusci Feci Sovrascarpe Residui inc. Tamponi Carcasse Materia prima (soja)	5 5 3 2 2 1 1
<b>S. infantis</b> <b>16</b> <b>(0,1)</b>	Feci Sovrascarpe Gusci Materia prima (soja)	7 4 4 1

<b>S. mbandaka</b> 15 (0,1)	Feci Mangime Matera prima (soja) Carcasse Tamponi Gusci sovrascarpe	7 2 2 1 1 1 1
<b>S. agona</b> 9 (0,1)	Feci Carcasse Mangime sovrascarpe	4 2 2 1
<b>S.london</b> 9 (0,1)	carcasse	9
<b>S. heidelberg</b> 8 (0,1)	Feci Polvere carcasse	6 1 1
<b>S. Thompson</b> 8	Sovrascarpe Gusci	6 2
<b>S. braenderup</b> 4 (0,03)	Feci Tamponi	3 1
<b>S. coeln</b> 4 (0,03)	Coeln	4
<b>S. isangi</b> 4 (0,03)	Feci Sovrascarpe	2 2
<b>S. Newport</b> 4 (0,03)	Tamponi Sovrascarpe Residui inc.	2 1 1
<b>S. kottbus</b> 3 (0,02)	Gusci Tamponi	2 1
<b>S.schwarzengrund</b> 3 (0,02)	Matera prima (soja) Sovrascarpe	2 1
<b>S. senftenberg</b> 3 (0,02)	Fondi scatola Piumino Gusci	1 1 1

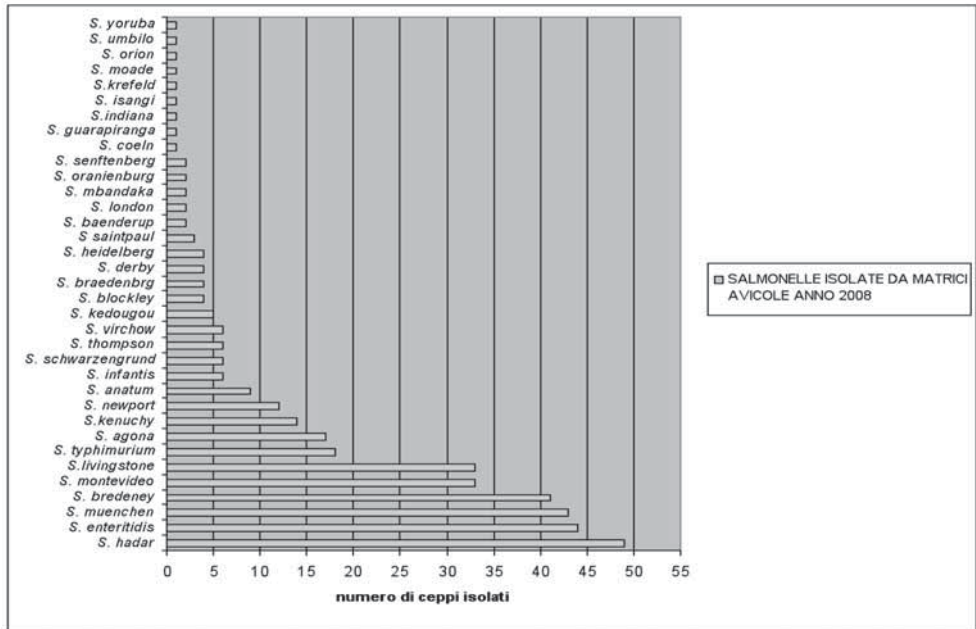
<b>S. virchow</b> 3 (0,02)	feci	3
<b>S. adabraka</b> 2 (0,02)	Feci Sovrascarpe	1 1
<b>S.corvallis</b> 2 (0,02)	Feci Polvere	1 1
<b>S. rissen</b> 2 (0,02)	Feci	2
<b>S. tennessee</b> 2 (0,02)	Feci Matera prima (soja)	1 1
<b>S.worthingtong</b> 2 (0,02)	Feci Polvere	1 1
<b>S. indiana</b> 1 (0,01)	Carcasse	1
<b>S. blockley</b> 1 (0,01)	Gusci	1
<b>S. cerro</b> 1 (0,01)	Polvere	1
<b>S. kedougou</b> 1 (0,01)	Matera prima (soja)	1
<b>S. muenster</b> 1 (0,01)	Feci	1
<b>S. oranienburg</b> 1 (0,01)	Matera prima (soja)	1
<b>S. saintpaul</b> 1 (0,01)	Visceri	1
<b>S. veneziana</b> 1 (0,01)	Tamponi	1
<b>S. wangata</b> 1 (0,01)	Tamponi	1



**Grafico 1.** *Salmonelle* isolate da matrici avicole anno 2007.



**Grafico 2.** *Salmonelle* isolate da matrici avicole anno 2008.



**Grafico 3.** *Salmonelle* isolate da matrici avicole anno 2009.

