

VALUTAZIONE DEL LIVELLO DI CONTAMINAZIONE BATTERICA IN UOVA ED EMBRIONI DI POLLO PRESSO UN INCUBATOIO INDUSTRIALE

Casadio M.¹, Massi P.², Tosi G.², Fiorentini L.², Taddei R.², Bolognesi P.G.³, Catelli E.³

¹ *Medico Veterinario - Russi (RA).*

² *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna Sezione Diagnostica di Forlì.*

³ *Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Alma Mater Studiorum, Ozzano Emilia (BO).*

Summary

Infectious problems are a constant threat to the poultry industry. The hatchery represents a critical point in this respect. It combines all the conditions (temperature, moisture and organic matters) allowing the development of several pathogens that can affect the chicks health and performances. The present study aims to measure and identify bacterial contaminations in different sites within a broiler hatchery.

INTRODUZIONE

Le malattie batteriche continuano a provocare rilevanti perdite economiche nella produzione avicola industriale. Carenze igienico-sanitarie a livello di allevamento si amplificano in maniera esponenziale nell'incubatoio. I fornitori delle uova giocano pertanto un ruolo chiave a tale riguardo. A ciò si aggiunge l'effetto amplificatore dell'incubatoio. La moltiplicazione batterica viene infatti favorita dalle condizioni fisico-chimiche dell'incubazione, condizioni che esaltano la natura di "pabulum ottimale" per il loro sviluppo che è l'uovo. Nella fase di schiusa ciò è favorito oltre che da umidità elevata e calore, anche dalla presenza di materiale organico (meconio, piumino e gusci) e dalla ventilazione vorticoso. La popolazione microbica presente in incubatoio viene trasferita tramite i pulcini all'allevamento di destinazione. Si può quindi ritenere che l'allevamento dei riproduttori, l'incubatoio e l'allevamento di destinazione, pur essendo geograficamente distanti tra loro, siano strettamente correlati dal punto di vista microbiologico (Barnes et al., 1980).

Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare il grado di inquinamento batterico di uova di pollo nelle diverse fasi dell'incubazione, dall'arrivo alla schiusa, in un incubatoio industriale.

MATERIALI E METODI

Campionamento

Il campionamento delle uova è stato effettuato presso un incubatoio della Romagna. Questa azienda incuba esclusivamente uova di polli da carne. La sua capacità produttiva è di circa 1.280.000 uova, mentre la produzione settimanale è di circa 320.000 pulcini. Vengono utilizzate incubatrici a caricamento continuo. Il campionamento è stato effettuato nel periodo agosto-ottobre, raccogliendo in totale 1200 uova di diversa provenienza (italiana ed estera). Presso l'incubatoio, nei giorni dell'arrivo (bi-settimanale) sono state prelevate 20 uova tenendole distinte per fornitore e scegliendole tra le più sporche. Il campionamento è stato eseguito al momento dell'arrivo dei

camion, durante lo scarico.

Sono state campionate 20 partite di uova in arrivo e queste ultime sono state seguite fino alla schiusa. Dopo la schiusa, da ciascuna partita campionata all'arrivo venivano prelevate 40 uova: 20 non schiuse con guscio integro ed altre 20 non schiuse con guscio parzialmente beccato.

Prove di laboratorio

Le 20 uova in arrivo per ogni fornitore, suddivise in 2 pool da 10 uova ciascuno, venivano sottoposte a lavaggio del guscio per le seguenti determinazioni: *Salmonella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ed altre specie batteriche eventualmente presenti.

Dopo il lavaggio le stesse uova venivano prese in esame singolarmente per analizzarne il tuorlo per la ricerca di *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ed altre specie batteriche eventualmente presenti. Il tuorlo veniva poi analizzato in pool (rispettando l'ordine di quelli fatti per i gusci) per ricercare *Salmonella spp.* Dopo la schiusa sono state campionate 20 uova (non schiuse e beccate) e altre 20 (non beccate). Solo queste ultime venivano suddivise in due pool da 10 uova ciascuno e sottoposte al lavaggio del guscio per le seguenti determinazioni: *Salmonella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ed altre specie batteriche eventualmente presenti. Dopo il lavaggio, le stesse uova venivano prese in esame singolarmente, per la determinazione di *Salmonella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ed altre specie batteriche eventualmente presenti nel sacco vitellino. Quest'ultimo procedimento veniva ripetuto sulle uova beccate. Per la ricerca di *Salmonella spp.* è stato applicato il metodo ISO 6579:2002/AMD1:2007 che prevede le seguenti fasi: pre-arricchimento in terreno liquido non selettivo (acqua peptonata tamponata) e incubazione a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ per 18 ± 2 ore; arricchimento in terreno selettivo semisolido (MSRV) e incubazione a $41,5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ per 24-48 ore; isolamento su piastra (XLD agar e BGA) e incubazione a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ per 24 ± 3 ore; prove di identificazione biochimica e sierologica. Per la ricerca di *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* veniva eseguita una semina diretta su Hektoen Enteric Agar (incubazione a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ per 24-48 ore).

RISULTATI

I risultati della prove sono riassunti nei grafici 1, 2, 3 e 4. Ricerca *Salmonella spp.*: *Salmonella livingstone* veniva isolata dal sacco vitellino di due pool (su 40 analizzati) di uova non schiuse beccate.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La ricerca, condotta su 20 partite di uova da cova, di diversa provenienza, seguite dall'arrivo in incubatoio sino alla schiusa, ha evidenziato una prevalenza di *Enterobacteriaceae* e, tra queste, principalmente di *Escherichia coli*. Quest'ultimo è stato isolato nel 3% dei tuorli, nel 22% dei sacchi vitellini delle uova non beccate e nel 88% di quelle beccate. Questi risultati confermano il ruolo di *Escherichia coli* come principale contaminante batterico dell'incubatoio (Chmielowiec-Korzeniowska *et al.*, 2007). I risultati della presente indagine riportano percentuali piuttosto elevate se paragonate con dati analoghi presenti in bibliografia (Reid *et al.*, 1961) che segnalano una prevalenza di *E. coli* in embrioni morti del 19%.

Altri batteri appartenenti alle *Enterobacteriaceae* sono stati isolati in percentuale inferiore rispetto a *E. coli* e quasi sempre associati ad esso. In particolare sono

stati isolati: *Salmonella livingstone*, *Citrobacter spp.* (*C. koseri*, *C. amalonaticus*), *Enterobacter agglomerans*, *Proteus mirabilis*, *Serratia liquefaciens* e *Providencia alcalifaciens*.

In questa ricerca è stata isolata *Salmonella livingstone* in 2 pool di sacchi vitellini prelevati da uova beccate. Si tratta di un sierotipo di *Salmonella spp.* considerato di minore importanza patogena e, per questo motivo, non considerato nei piani di controllo dell'infezione da *Salmonella spp.* attualmente in vigore nel nostro paese nelle differenti tipologie di produzione avicola. Il riscontro di salmonelle cosiddette "minori" e, soprattutto, la loro persistenza nel tempo nell'incubatoio può tuttavia rappresentare un importante indicatore di contaminazione ambientale, rendendo così necessaria l'implementazione delle misure di biosicurezza.

Pseudomonas aeruginosa è stato isolato nella misura dell'1% nei tuorli e del 4% nei sacchi vitellini delle uova beccate (di cui il 3,5% associato a *E. coli*). La contaminazione dovuta a questo batterio, al momento della schiusa, è risultata quindi scarsa se paragonata ai pochi lavori pubblicati in merito. Ad esempio Reid *et al.* (1961), infatti, esaminando 189 embrioni morti, hanno riscontrato la presenza di *Pseudomonas spp.* nel 6,87% di essi, mentre Barbour *et al.* (1985), esaminando 111 embrioni morti, hanno isolato *Pseudomonas spp.* nel 14,4% di essi. E' da rilevare come l'incubatoio possa esercitare un effetto amplificatore della contaminazione batterica. Dai risultati dello studio emerge infatti un incremento dell'infezione da *Escherichia coli*, nel periodo "arrivo-schiusa" dal 10 al 100% e da *Pseudomonas aeruginosa* dal 5 al 15%. L'infezione del sacco vitellino (onfalite) e, nei casi più gravi, la diffusione setticemica può causare perdite rilevanti nei primi giorni di vita del pulcino.

Sphingomonas paucimobilis è stato isolato dal guscio delle uova in arrivo provenienti dal Portogallo, ma non alla schiusa. Ryan ed Adley (2010) riportano che questo batterio è stato isolato da acqua potabile e da campioni biologici umani.

Acinetobacter spp. (*A. calcoaceticus* e *A. lwoffii*) sono stati isolati alla schiusa, nell'1% delle uova non beccate e nel 3% di quelle beccate (di cui il 2% associato ad *E. coli*). Tali specie batteriche possono, sia pure raramente, provocare infezioni nel pollame adulto (Kaya *et al.*, 1989; Erganis *et al.*, 1988) con possibile localizzazione all'apparato riproduttore femminile (nel caso di *A. calcoaceticus*).

I risultati dello studio confermano come l'igiene dell'incubatoio e, in particolare, delle camere di schiusa rappresenti un fattore-chiave nella prevenzione delle principali infezioni batteriche del primo periodo di vita del pulcino.

BIBLIOGRAFIA

1. Barbour E.K., Nabbut N.H., Hinners S.W., Al-Nakhli H.M., 1985. *Reduction of bacterial infections in newly hatched chicks by the use of antimicrobial dips: preliminary approaches*. Veterinary Quarterly, 7(1):39-43.
2. Barnes E.M., Impey C.S., Cooper D.M., 1980. *Manipulation of the crop and intestinal flora of the newly hatched chick*. The American Journal of Clinical Nutrition, 33:2426-2433.
3. Chmielowiec-Korzeniowska A., Tymczyzna L., Skòrska C., Sitkowska J., Cholewa G., Dutkiewicz J., 2007. *Efficacy of a novel biofilter in hatchery sanitation : I. Removal of airborne bacteria, dust and endotoxin*. Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 14(1):141-150.
4. Erganis O., Corlu M., Kaya O., Ates M., 1988. *Isolation of Acinetobacter*

- calcoaceticus* from septicemic hens. Veterinary Records, **123**(14):374.
5. Kaya O., Ates M., Erganis O., Corlu M., Sanlioglu S., 1989. *Isolation of Acinetobacter lwoffii* from hens with septicemia. Journal of veterinary medicine B, **36**:157-158.
 6. Reid W. M., Maag T.A., Boyd F. M., Kleckner A.L., Schmittle S.C., 1961. *Embryo and baby chick mortality induced by a strain of Escherichia coli*. Poultry Science, **40**:1497-1502.
 7. Ryan M.P., Adley C.C., 2010. *Sphingomonas paucimobilis*: a persistent Gram-negative nosocomial infectious organism. The Journal of Hospital Infection, **75**(3):153-157.

Grafico 1. Risultati prove batteriologiche su uova in arrivo: lavaggio gusci (40 pool da 10 uova ciascuno).

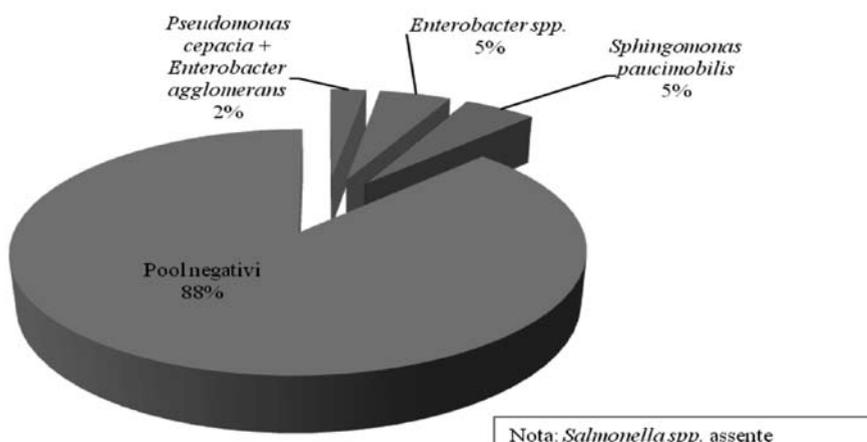


Grafico 2. Risultati prove batteriologiche su uova in arrivo: tuorlo (400 uova).

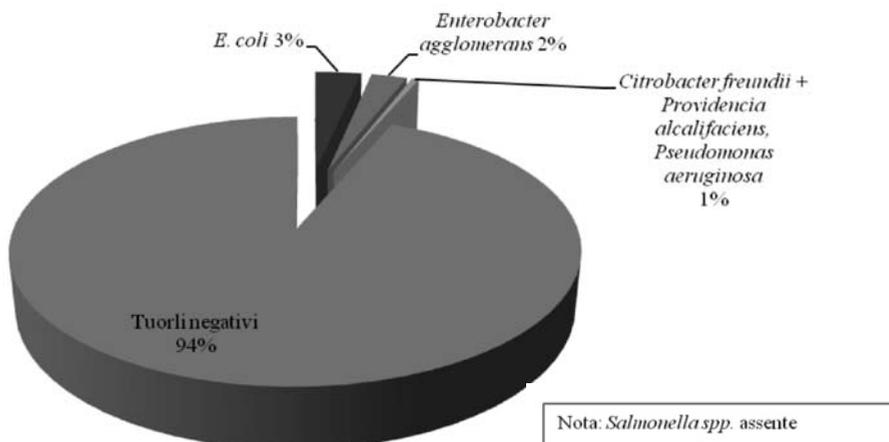


Grafico 3. Risultati prove batteriologiche dal sacco vitellino di uova non schiuse e non beccate (400 uova).

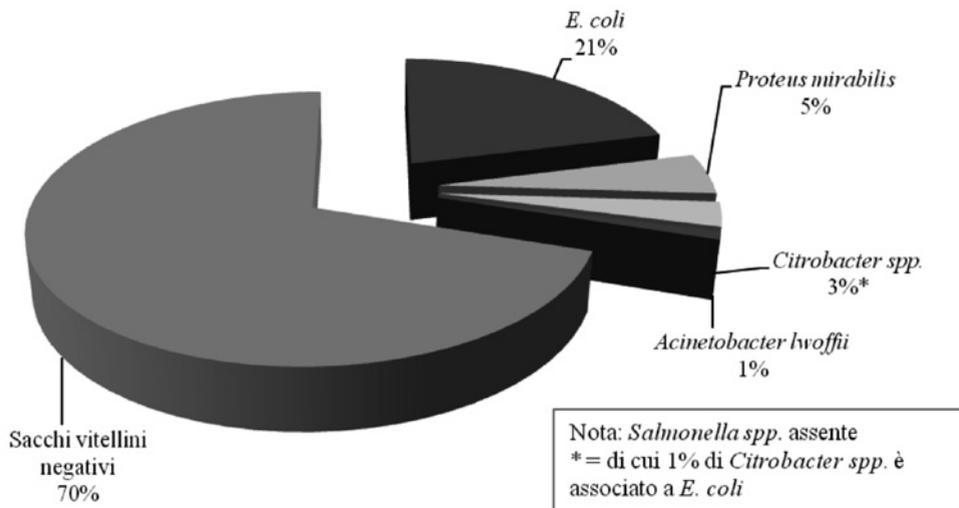


Grafico 4. Risultati prove batteriologiche dal sacco vitellino di uova non schiuse beccate (400 uova).

