



ISTITUTO G. CAPORALE
TERAMO

Risultati preliminari di uno studio condotto sulla prevalenza del *Campylobacter* nella filiera di produzione di carne avicola



Laboratorio Nazionale di Riferimento per *Campylobacter*

Dr.ssa Gabriella Di Serafino

Teramo, 12 dicembre 2012

DIRETTIVA 2003/99/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO

del 17 novembre 2003

sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici, recante modifica della decisione 90/424/CEE del Consiglio e che abroga la direttiva 92/117/CEE del Consiglio

12.12.2003 IT Gazzetta ufficiale dell'Unione europea

DIRETTIVA 2003/99/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 17 novembre 2003

sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici, recante modifica della decisione 90/424/CEE del Consiglio e che abroga la direttiva 92/117/CEE del Consiglio

IL PARLAMENTO EUROPEO E IL CONSIGLIO DELL'UNIONE EUROPEA,

visto il trattato che istituisce la Comunità europea, in particolare l'articolo 152, paragrafo 4, lettera b),

vista la proposta della Commissione (1),

visto il parere del Comitato economico e sociale europeo (2),

preca consultazione del Comitato delle regioni,

debbano secondo la procedura di cui all'articolo 251 del trattato (3),

considerando che:

(1) Gli animali vivi e gli alimenti di origine animale figurano nell'elenco di cui all'allegato I del trattato. L'allevamento del bestiame e l'importazione sul mercato di prodotti alimentari di origine animale costituiscono una fonte importante di reddito per gli agricoltori. L'attuazione di misure veterinarie miranti a elevare il livello di sanità pubblica e di salute degli animali nella Comunità contribuisce allo sviluppo razionale del settore agricolo.

(2) La protezione della salute umana e animale e la riduzione dell'incidenza o dell'importazione trasmissibili tra gli animali e l'uomo (zoonosi) è di importanza capitale.

(3) Le zoonosi trasmissibili attraverso gli alimenti, oltre a causare malattie nell'uomo, possono comportare perdite economiche per la produzione di alimenti e per l'industria degli alimenti.

(4) Costituiscono fonte di preoccupazione anche le zoonosi trasmesse da fonti diverse dagli alimenti, in particolare quelle trasmesse dagli animali selvatici e dagli animali di compagnia.

(5) La direttiva 92/117/CEE del Consiglio, del 17 dicembre 1992, riguardante le misure di protezione dalle zoonosi specifiche e la lotta contro agenti zoonotici specifici negli animali e nei prodotti di origine animale allo scopo di evitare focolai di infezioni e intossicazioni alimentari (4), prevedeva la creazione di un sistema di sorveglianza di talune zoonosi a livello sia nazionale che comunitario.

(1) GU C 304 E del 30.10.2001, pag. 250.

(2) GU C 94 del 18.4.2002, pag. 14.

(3) Fattore del Parlamento europeo del 15 maggio 2002 (GU C 180 E del 31.7.2001, pag. 163), posizione comune del Consiglio del 20 febbraio 2001 (GU C 90 E del 15.4.2001, pag. 5) e posizione del Parlamento europeo del 19 giugno 2001 (fase ancora pubblicata nella Gazzetta ufficiale).

(4) GU L 42 del 15.1.1993, pag. 38. Direttiva modificata da ultimo dal regolamento (CE) n. 306/2003 (GU L 122 del 16.5.2003, pag. 3).

(6) Con l'assistenza del laboratorio comunitario di riferimento per l'epidemiologia delle zoonosi la Commissione raccoglie annualmente dagli Stati membri i risultati della sorveglianza e li compila. Tali risultati sono stati pubblicati annualmente fin dal 1995 e costituiscono una base di valutazione dell'attuale situazione in materia di zoonosi ed agenti zoonotici. Tuttavia, i sistemi di raccolta dei dati non sono ancora armonizzati e non permettono perciò il raffronto tra gli Stati membri.

(7) Altre disposizioni legislative comunitarie disciplinano la sorveglianza e il controllo determinate zoonosi nelle popolazioni animali. In particolare, la direttiva 64/432/CEE del Consiglio, del 26 giugno 1964, relativa ai problemi di salute degli animali che interessano gli scambi transcomunitari di animali delle specie bovina e suina (compresa la tubercolosi dei bovini e la brucellosi bovina), e la direttiva 91/68/CEE del Consiglio, del 28 gennaio 1991, relativa alle condizioni di polizia sanitaria da applicare negli scambi intracomunitari di ormi e caproni (5), tratta la brucellosi degli ormi e dei caproni. La presente direttiva non dovrebbe creare inutili duplicazioni dei requisiti vigenti.

(8) Inoltre, un futuro regolamento del Parlamento europeo e del Consiglio sull'igiene dei prodotti alimentari dovrebbe contemplare elementi specifici in materia di prevenzione, controllo e sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici, nonché requisiti specifici riguardanti la qualità microbiologica degli alimenti.

(9) A norma della direttiva 92/117/CEE occorre raccogliere i dati relativi alle infezioni provocate dalle zoonosi nell'uomo. Lo scopo della decisione n. 2119/98/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 24 settembre 1998, che istituisce una rete di sorveglianza epidemiologica e di controllo delle malattie trasmissibili nella Comunità (6), è di rafforzare le disposizioni in materia di raccolta di tali dati e contribuire al miglioramento della prevenzione e del controllo delle malattie trasmissibili nella Comunità.

(10) Per stabilire le tendenze e le fonti delle zoonosi è necessario raccogliere i dati sulle incidenze di zoonosi e agenti zoonotici negli animali, negli alimenti, nei mangimi e nell'uomo.

(1) GU L21 del 29.7.1994, pag. 1977. Direttiva modificata da ultimo dal regolamento (CE) n. 1226/2002 della Commissione (GU L 179 del 8.7.2002, pag. 13).

(2) GU L 44 del 19.2.1991, pag. 19. Direttiva modificata da ultimo dalla decisione 2001/708/CE della Commissione (GU L 258 del 10.10.2001, pag. 11).

(3) GU L 268 del 1.10.1988, pag. 1.

1. Lo scopo della presente direttiva è quello di garantire un'adeguata sorveglianza delle zoonosi, degli agenti zoonotici e della resistenza agli antimicrobici ad essi correlata e un'adeguata indagine epidemiologica dei focolai di tossinfezione alimentare, per consentire di raccogliere nella Comunità le informazioni necessarie ad una valutazione delle relative tendenze e fonti.

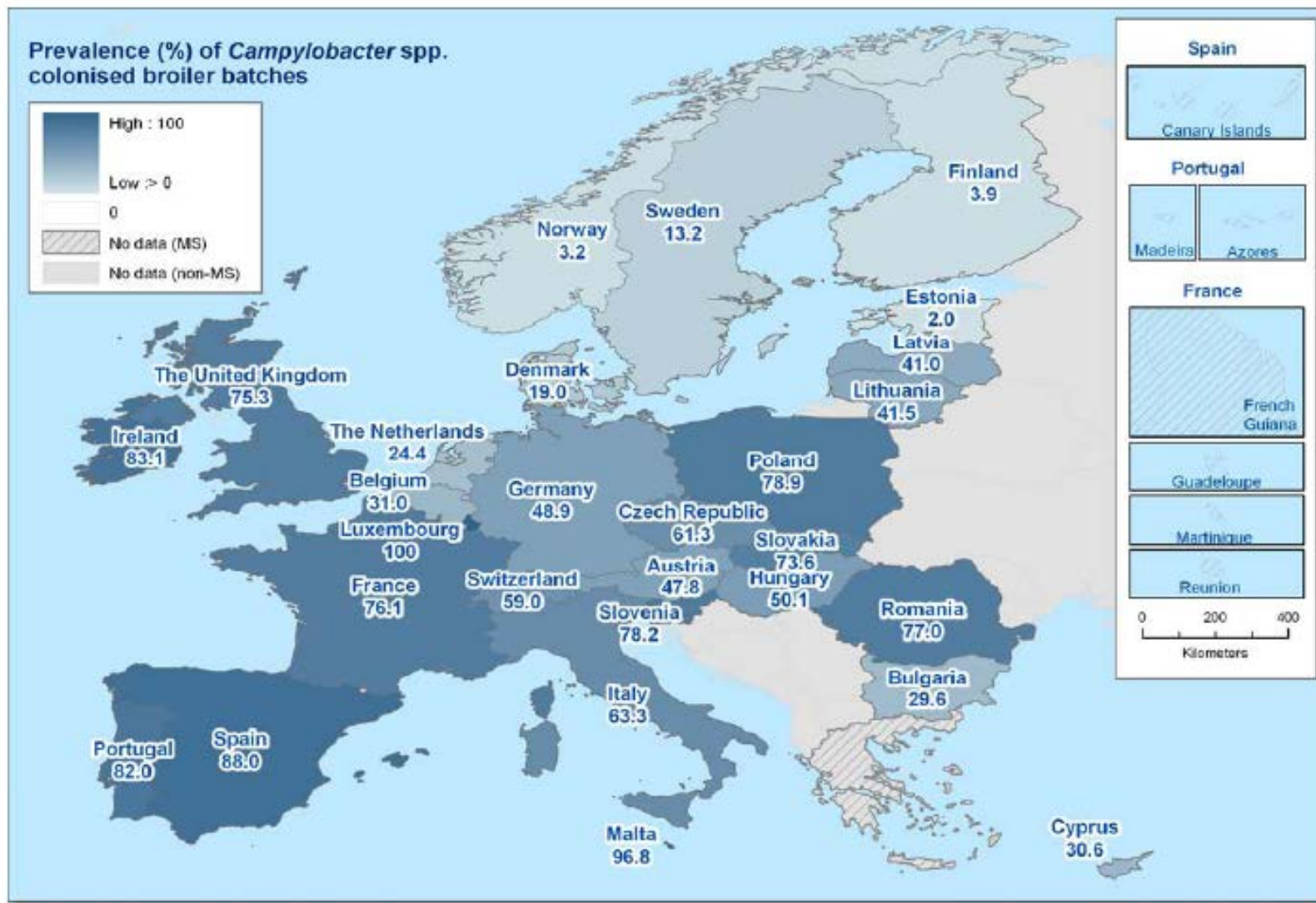
ALLEGATO I

A. Zoonosi ed agenti zoonotici da sottoporre a sorveglianza

- Brucellosi e relativi agenti zoonotici
- **Campilobatteriosi e relativi agenti zoonotici**
- Echinococcosi e relativi agenti zoonotici
- Listeriosi e relativi agenti zoonotici
- Salmonellosi e relativi agenti zoonotici
- Trichinellosi e relativi agenti zoonotici
- Tubercolosi causata da *Mycobacterium bovis*
- *Escherichia coli* che produce verocitotossine



Prevalenza del *Campylobacter* nei polli da carne in UE, 2008.



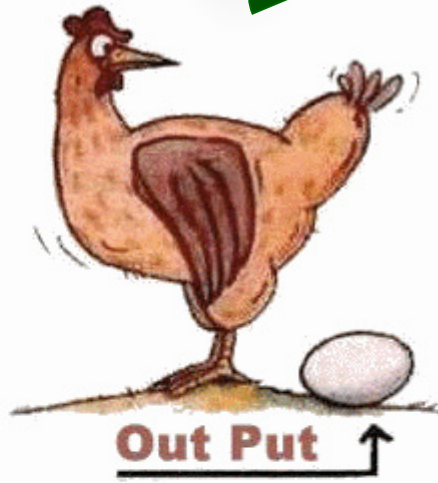
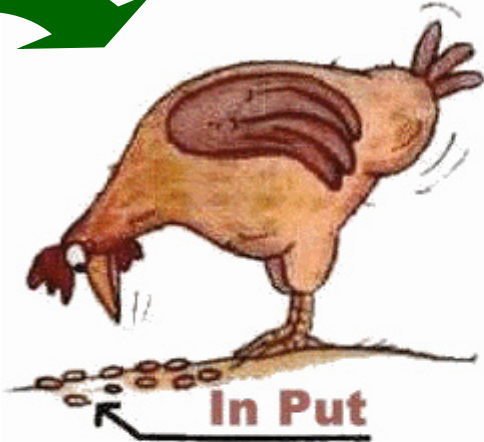
Il *Campylobacter* nella filiera avicola....

- ▶ Lack of evidence for vertical transmission of *Campylobacter* spp. in chickens (Callicott et al., 2006).
- ▶ Recovery of *Campylobacter* from commercial broiler hatchery trayliners (Byrd et al., 2007).
- ▶ Occurrence and genotypes of *Campylobacter* in broiler flocks, other farm animals, and the environment during several rearing periods on selected poultry farms (Zweifel et al., 2008).
- ▶ Farm and environmental distribution of *Campylobacter* in broiler flocks (Thakur et al., 2012).
- ▶ Longitudinal molecular epidemiological study of Thermophilic *Campylobacter* on one conventional broiler chicken farm (Ridley et al., 2010).
- ▶ Prevalence and risk factors for *Campylobacter* spp. contamination of broiler chicken carcasses at the slaughterhouse (Hue et al., 2010).

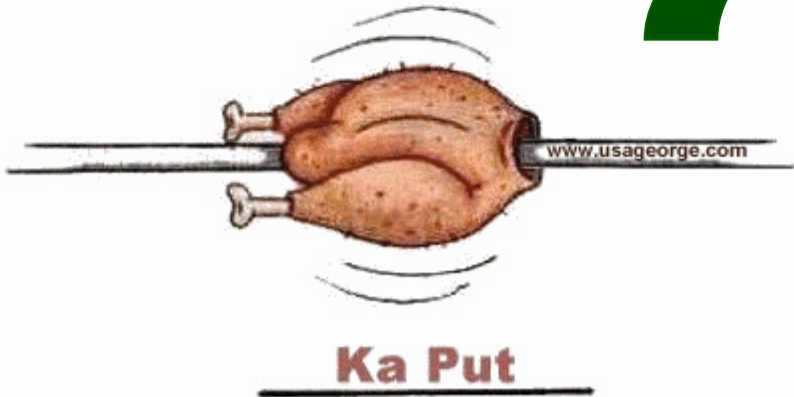


Chicken Lifestyle

Allevamento



Incubatoio



Mattatoio



Campionamento

- ▶ 2 allevamenti
- ▶ 8 cicli di campionamento: 2 per stagione
- ▶ Per ogni stagione è stato effettuato un ciclo per ciascun allevamento





Prelievo campioni all'incubatoio

► Ingresso uova:

- 30 uova;
- tamponi ambientali (rack, canaline).

► Sala incubazione:

- tamponi ambientali (pavimento, parete, pale ventola).

► Sala schiusa:

- tamponi ambientali (pavimento, parete, pale ventola, canaline).

► Sala lavorazione pulcini:

- 30 uova non schiuse;
- tamponi ambientali (giostra sessaggio, giostra vaccinazione, nastro, macchina vaccinazione, fondo scatole).





Prelievo campioni in allevamento

► 15 giorni prima dell'accasamento:

- Alphitobius diaperinus;
- tamponi ambientali (beverini, mangiatoie, pale ventola, pavimento).

► Accasamento:

- tamponi ambientali (contenitori di trasporto);
- mangime starter

► 30 giorni dall'accasamento:

- pollina;
- tamponi ambientali (beverini, mangiatoie, pale ventola);
- mangime di accrescimento;
- acqua di lago.

► Uscita:

- tamponi cloacali (effettuati su 50 polli);
- mangime di finissaggio.





Prelievo campioni al mattatoio

► 35 polli:

- cute post deiugulazione;
- cute post spennatura;
- cute post eviscerazione;
- intestini ciechi;
- cute post lavaggio;
- cute post raffreddamento.

► Tamponi ambientali:

- guidovie;
- macchina spennatrice;
- macchina evisceratrice;
- macchina di lavaggio;
- tunnel di raffreddamento.

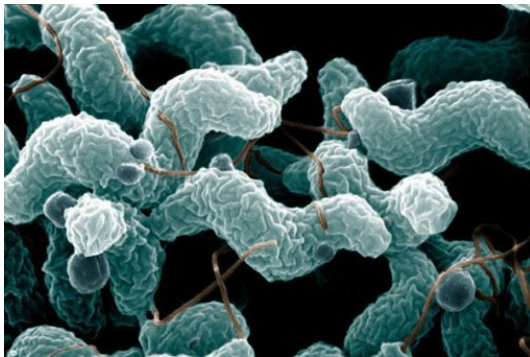


Metodi

Totale campioni: 2145



Ricerca *Campylobacter* spp. (ISO 10272-1:2006)



- Cute e intestini ciechi: numerazione *Campylobacter* spp. (ISO 10272-2:2006).
- Real-Time PCR: effettuata dai brodi di arricchimento.

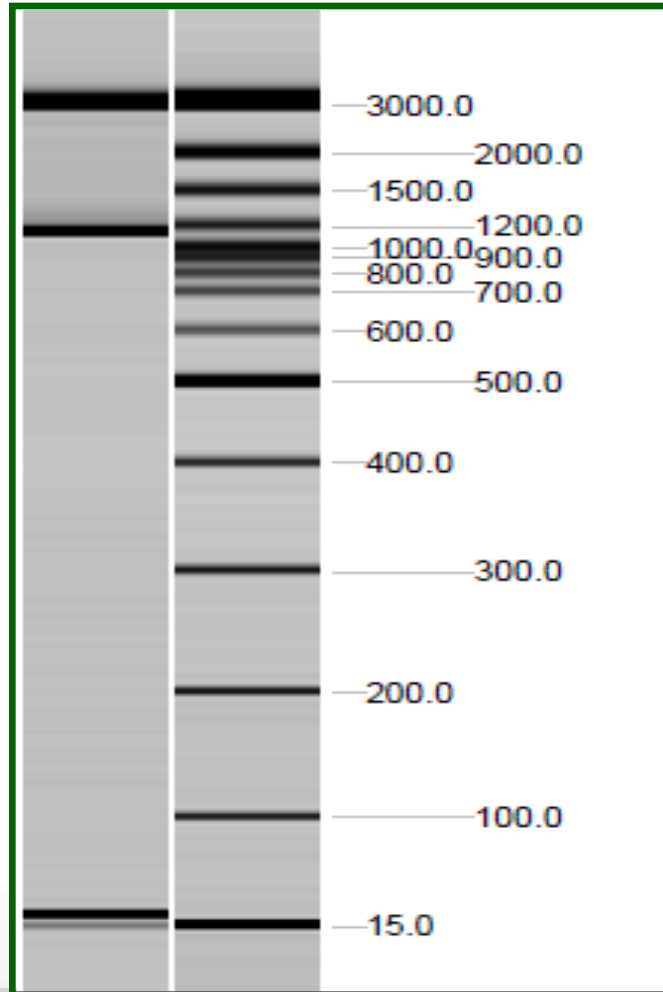
Numerazione *Campylobacter*

		Cute post deiug.	Cute post spenn.	Cute post evisc.	Cute post lavag.	Cute post refrig.	Ciechi
Allevamento A	I ciclo	$10^3 - 10^5$	<10	$10^2 - 10^3$	10^2	$10^2 - 10^4$	$10^2 - 10^7$
	IV ciclo	$10^3 - 10^4$	$10^2 - 10^3$	$10^2 - 10^4$	10^2	$10^2 - 10^3$	$10^3 - 10^7$
	V ciclo	$10^3 - 10^4$	$10^2 - 10^3$	$10^2 - 10^3$	$10^2 - 10^3$	$10^2 - 10^3$	10^3
	VII ciclo	$10^3 - 10^5$	$10^1 - 10^3$	$10^1 - 10^4$	$10^2 - 10^3$	$10^2 - 10^3$	$10^3 - 10^7$
Allevamento B	II ciclo	$10^3 - 10^8$	<10	$10^2 - 10^3$	10^2	$10^2 - 10^3$	$10^3 - 10^8$
	III ciclo	$10^1 - 10^6$	$<10 - 10^2$	$10^2 - 10^3$	10^2	$10^2 - 10^3$	$10^1 - 10^6$
	VI ciclo	$10^1 - 10^4$	$10^2 - 10^3$	$10^2 - 10^3$	$10^2 - 10^3$	10^3	$10^3 - 10^6$
	VIII ciclo	$10^3 - 10^6$	<10	$10^2 - 10^3$	10^2	$10^2 - 10^4$	$10^4 - 10^8$

Metodi

PCR gene 16S rRNA: famiglia delle *Campylobacteriaceae*

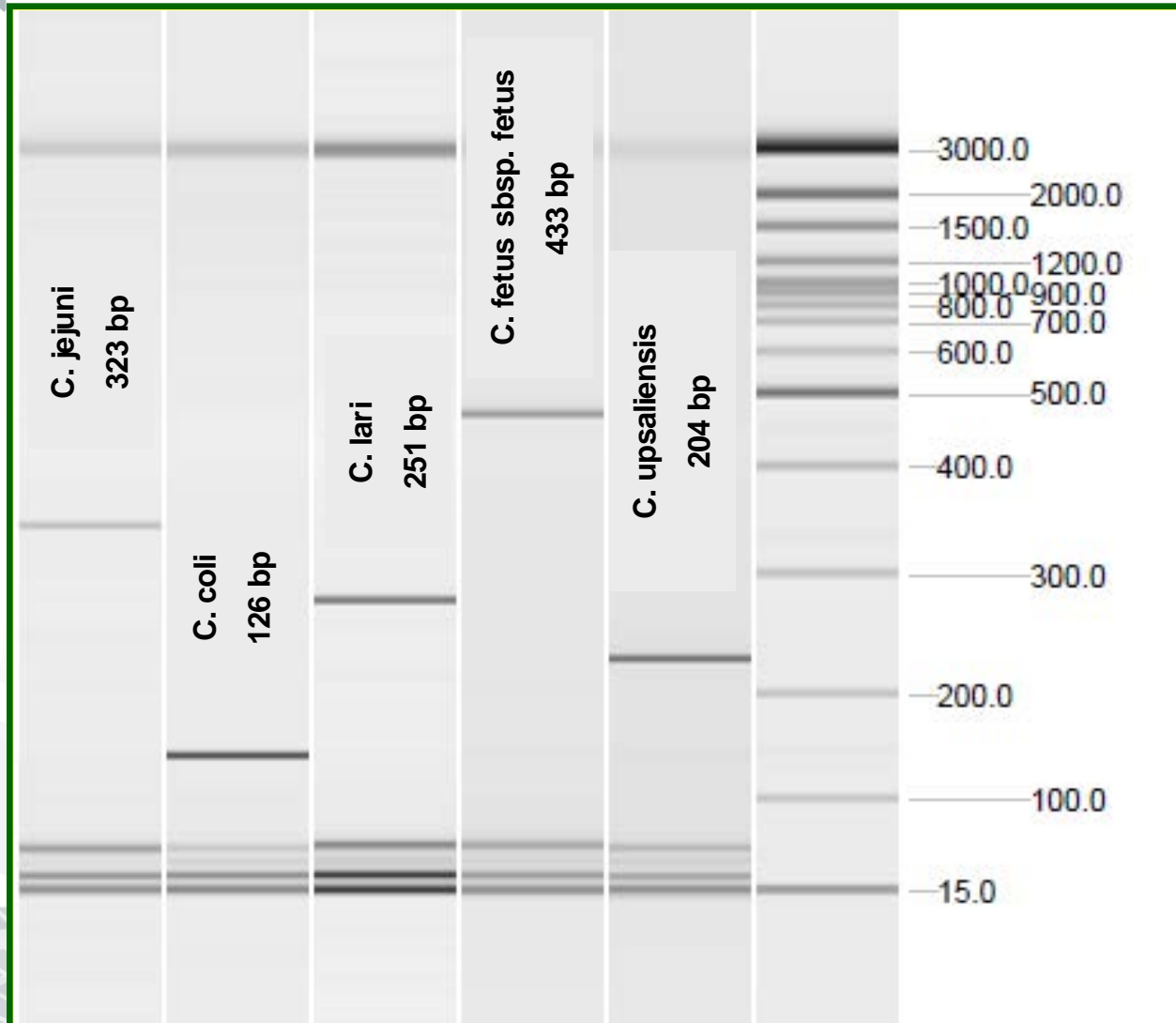
16S
1125 bp



- Campylobacter
- Helicobacter
- Arcobacter

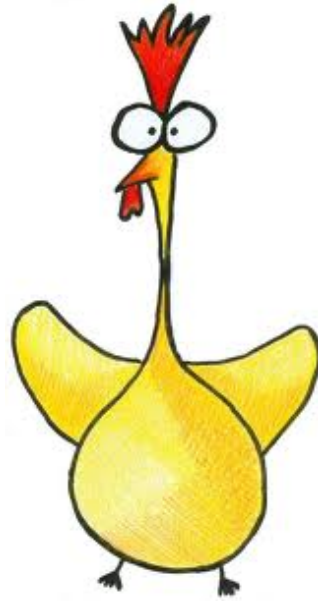
Metodi

PCR multiplex: identificativa delle diverse specie di *Campylobacter* termotolleranti



Risultati

Positività:



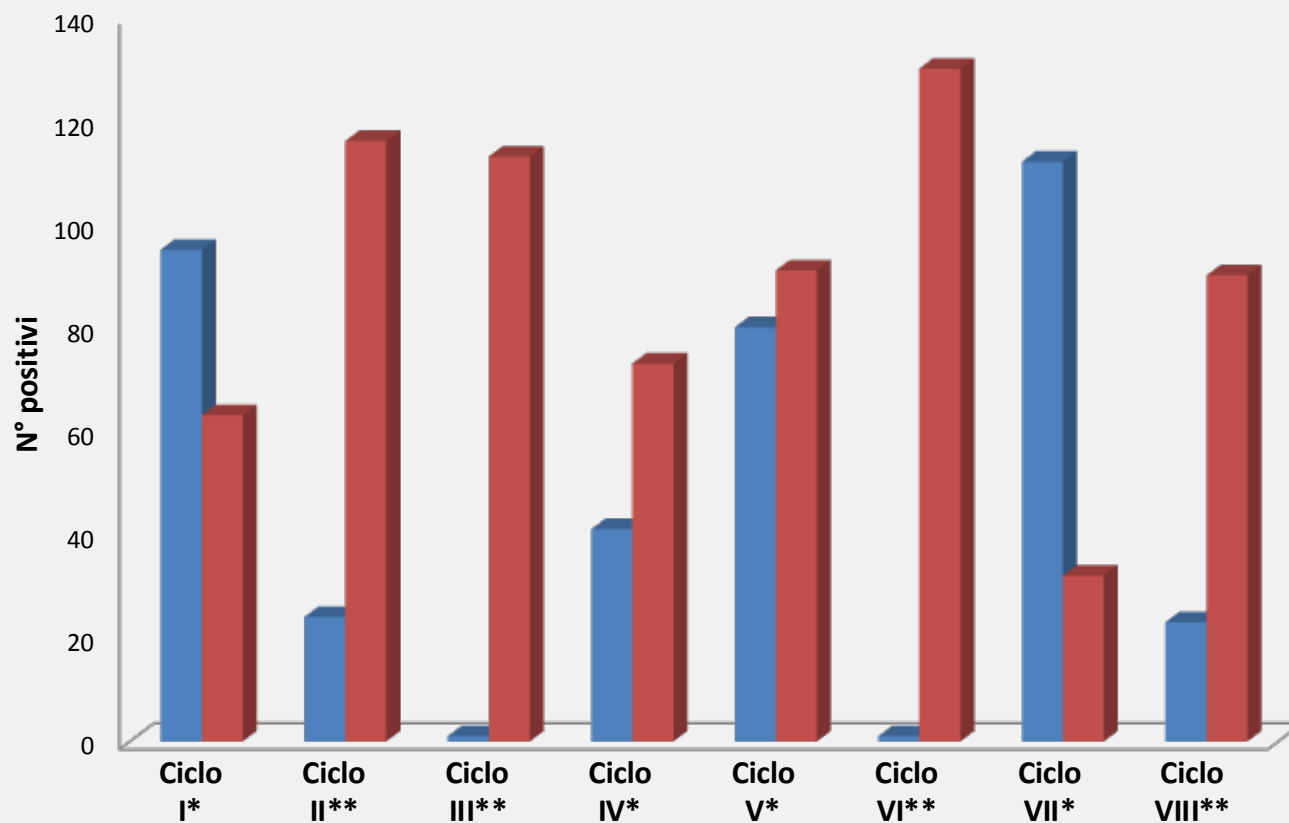
**Tamponi cloacali
polli in uscita
dall'allevamento**

**Campioni
prelevati nelle
varie fasi di
macellazione**





Presenza del *Campylobacter* nei vari cicli di campionamento



* Allevamento A

** Allevamento B

■ Campylobacter coli

■ Campylobacter jejuni

Ciclo I*

Ciclo II**

Ciclo III**

Ciclo IV*

Ciclo V*

Ciclo VI**

Ciclo VII*

Ciclo VIII**

95

24

1

41

80

1

112

23

63

116

113

73

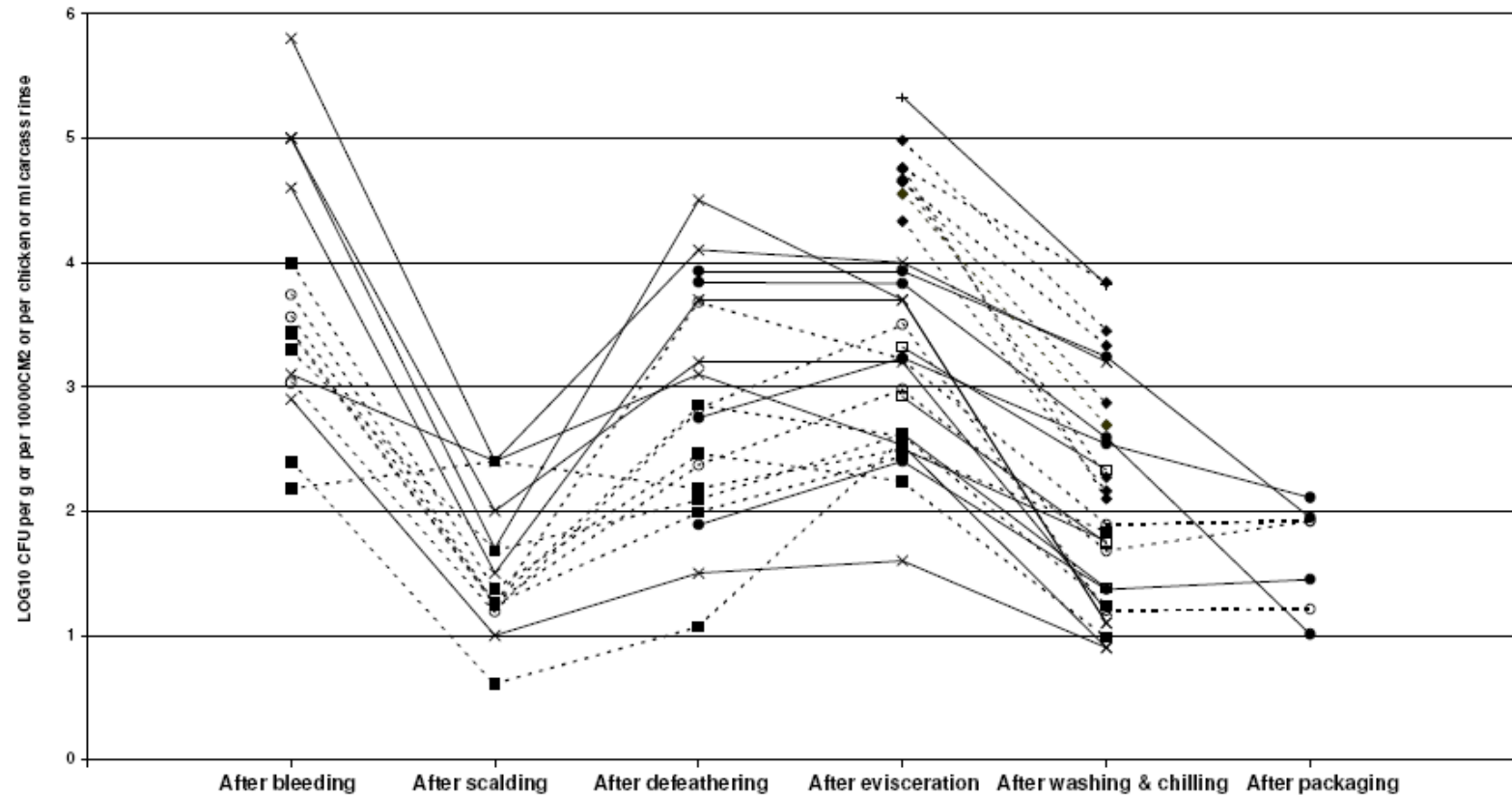
91

130

32

90

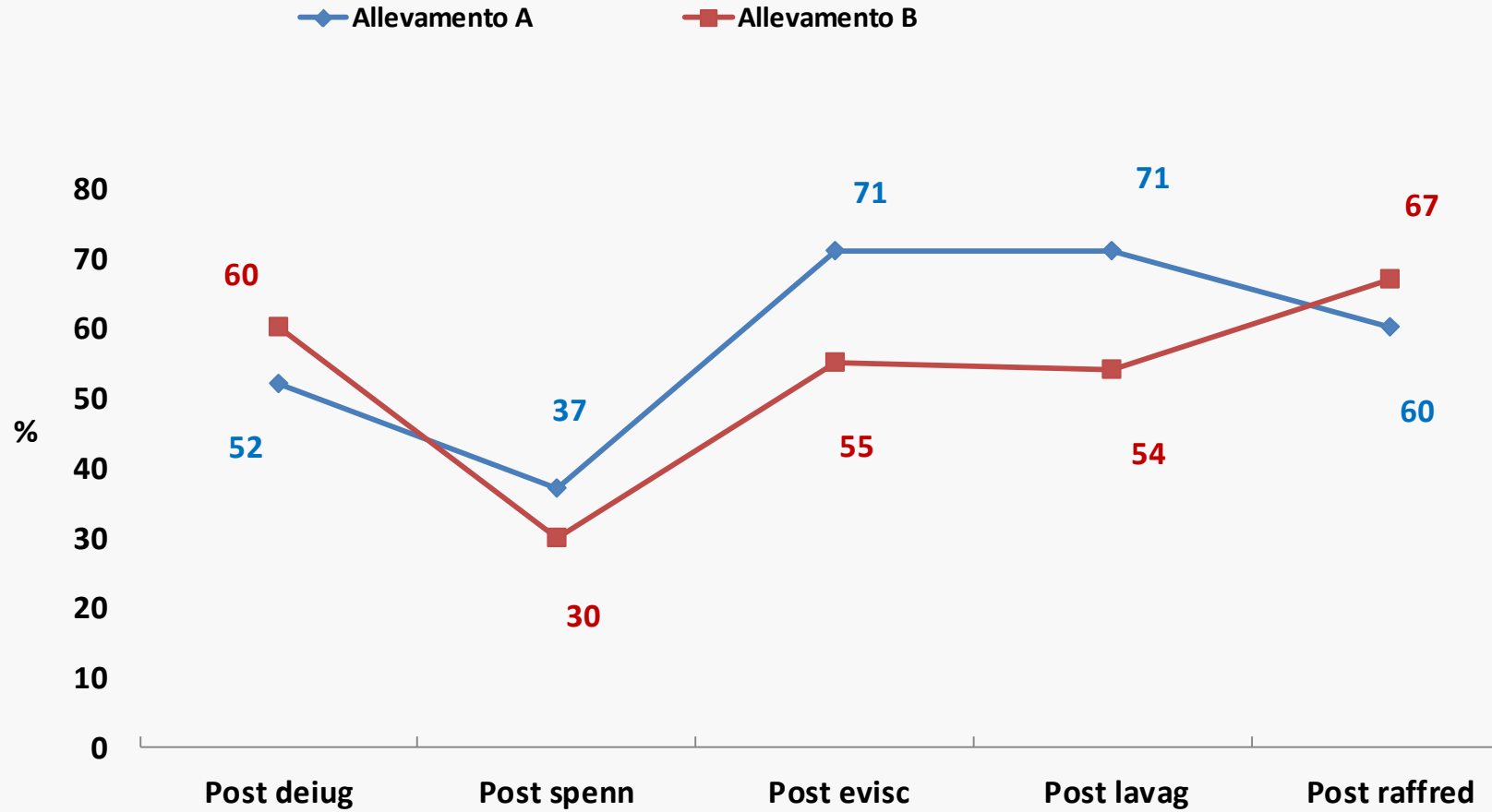
Contaminazione da *Campylobacter* sulle carcasse nelle varie fasi di macellazione.



KEY: ■, Oosterom et al., 1983b; □, Wempe et al., 1983; ○, Izat et al., 1988; +, Cason et al., 1997; x, Berrang and Dickens, 2000; ◆, Stern and Robach, 2003; ●, Rosenquist et al., 2006.

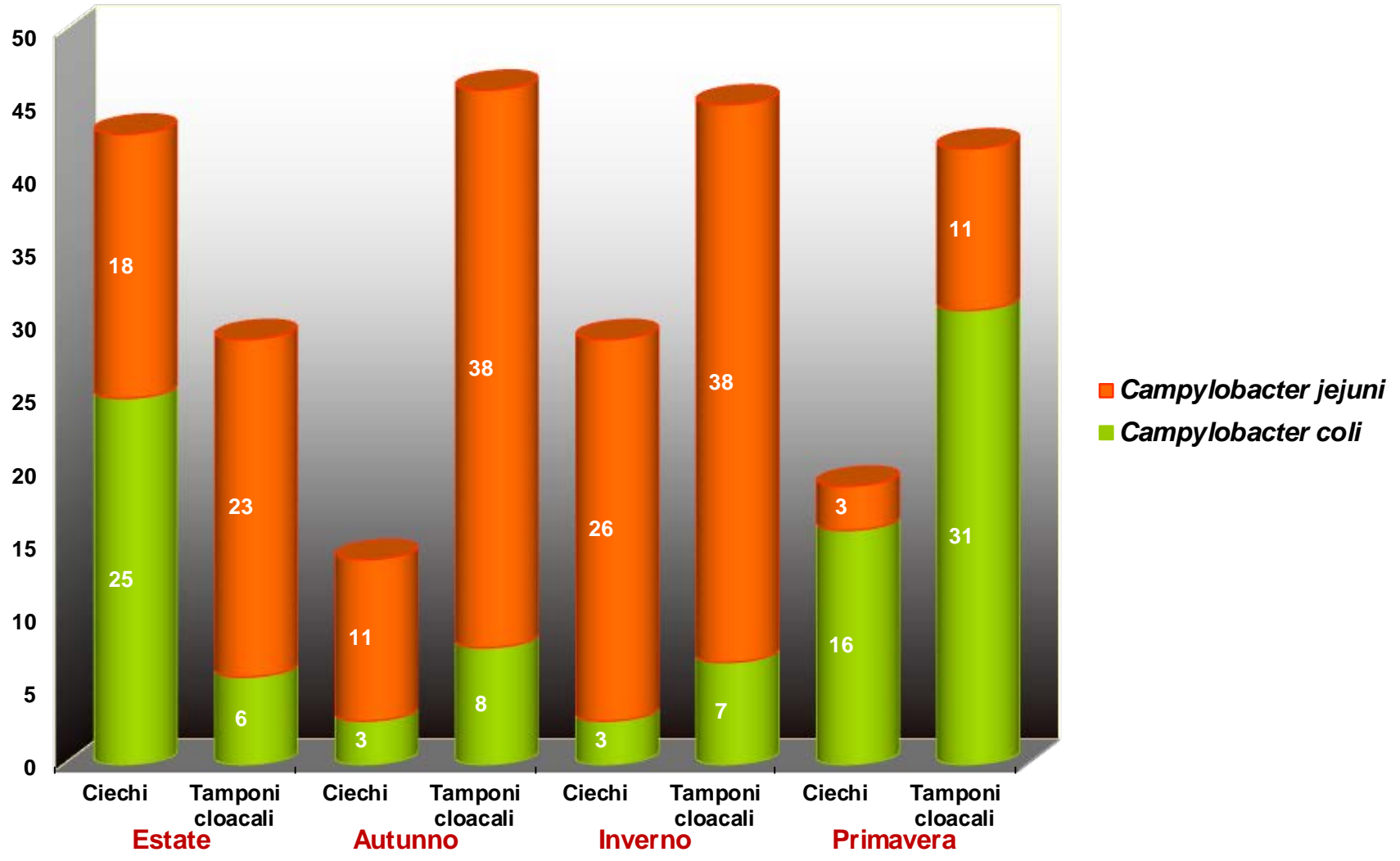


Prevalenze nelle varie fasi di macellazione



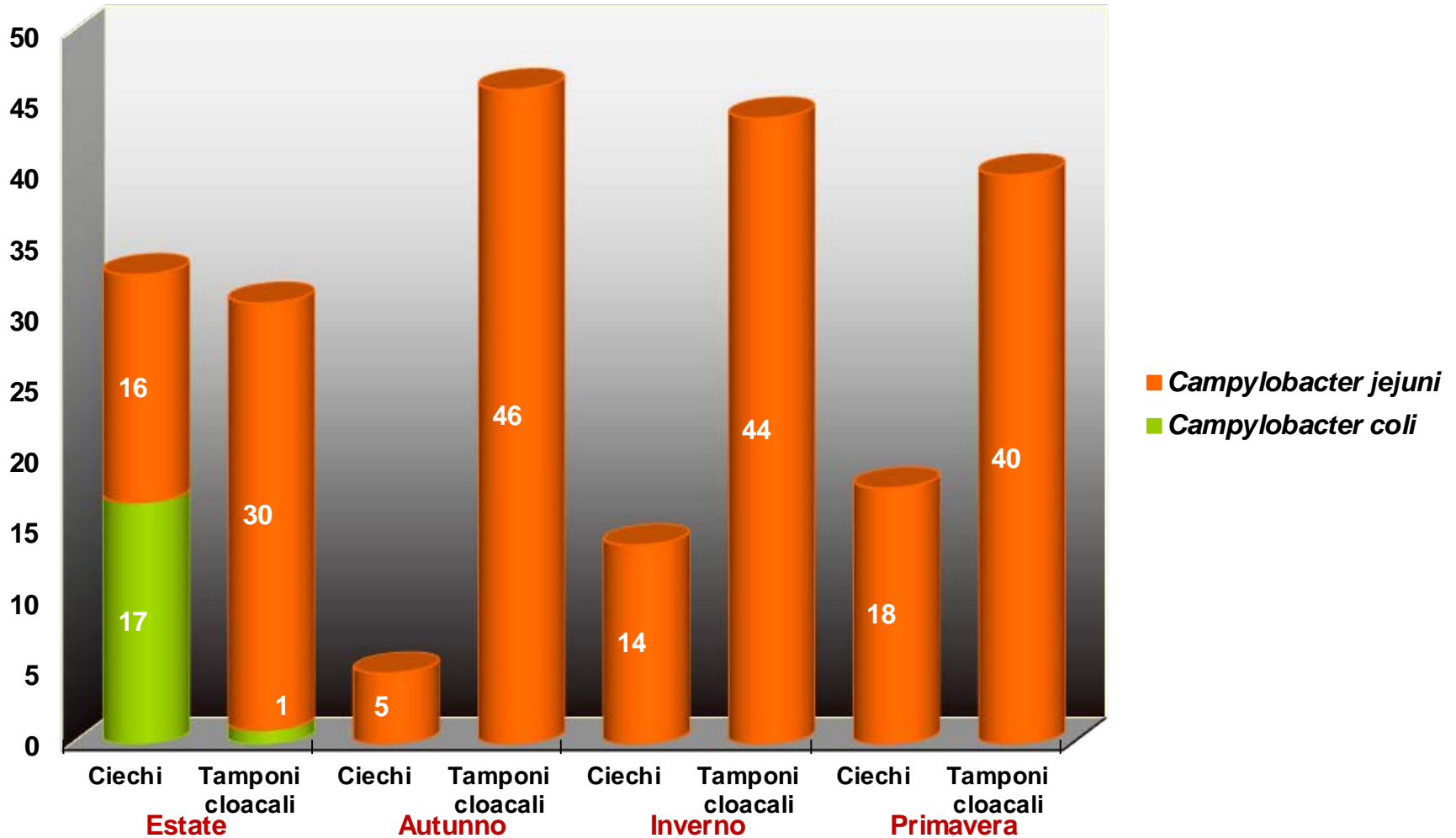


Distribuzione di *Campylobacter* in ciechi e tamponi cloacali (Allevamento A)





Distribuzione di *Campylobacter* in ciechi e tamponi cloacali (Allevamento B)



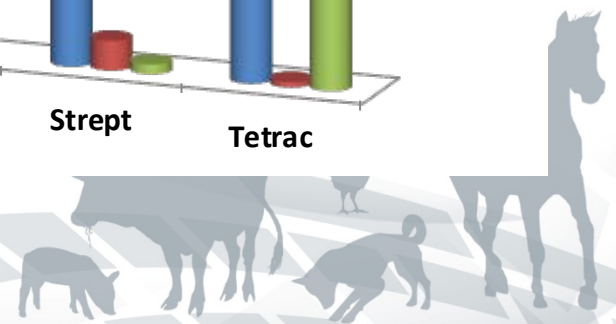
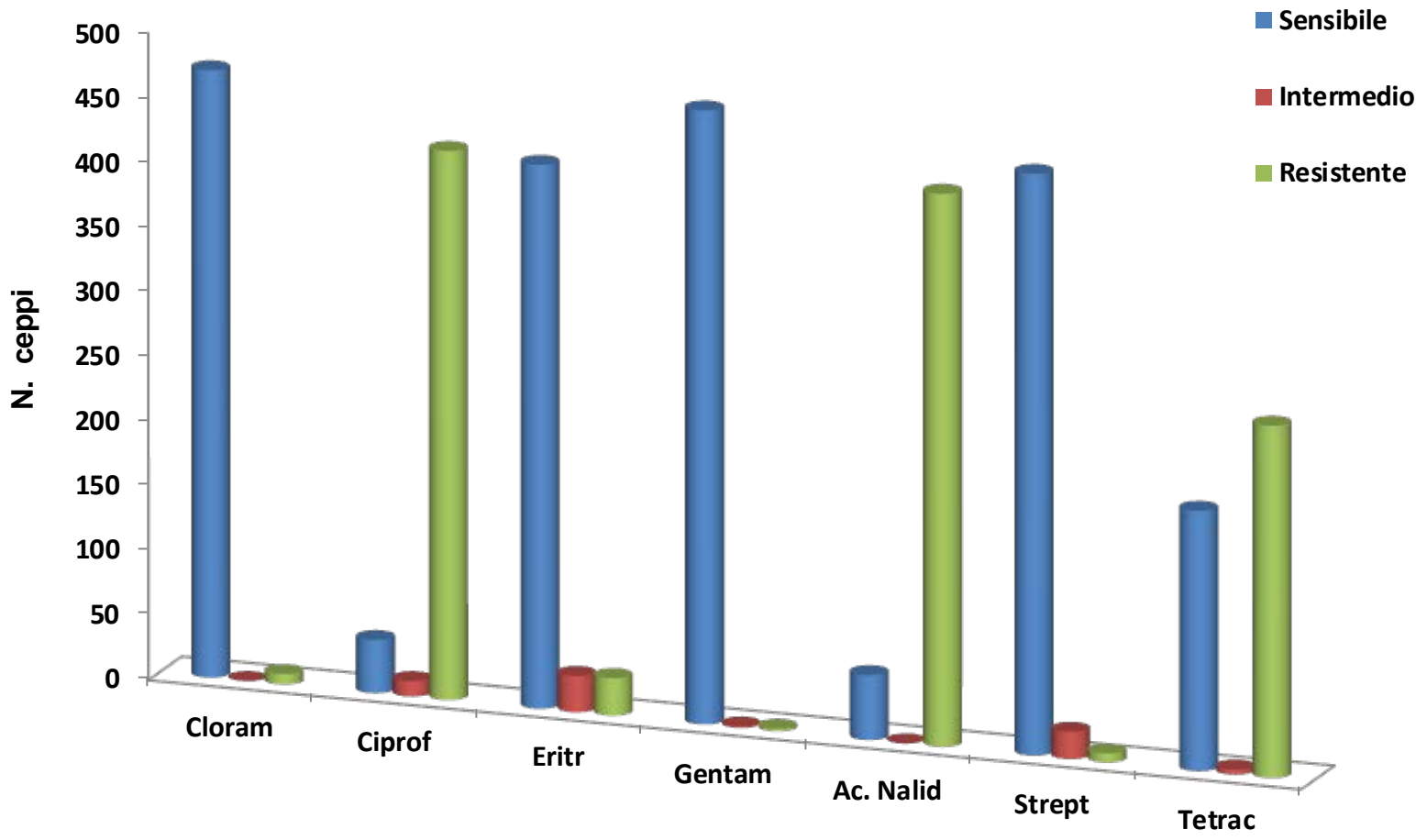
Tamponi ambientali effettuati al mattatoio

		Deiugulazione	Spennatura		Eviscerazione		Lavaggio		Raffreddamento	
		Guidovie	Macch. spenn.	Macch. taglia ano	Macch. eviscer.	Macch. dilata ali	Bocch. di lavaggio	Tunnel di lavaggio	Guidovie	Superfici appoggio
Estate	I* ciclo									
	II** ciclo									
Autunno	III** ciclo	<i>C. coli</i>								
	IV* ciclo			<i>C. coli</i>	<i>C. coli</i>		<i>C. coli</i>		<i>C. coli</i>	
Inverno	V* ciclo									
	VI** ciclo									
Primavera	VII* ciclo								<i>C. coli</i>	
	VIII** ciclo									

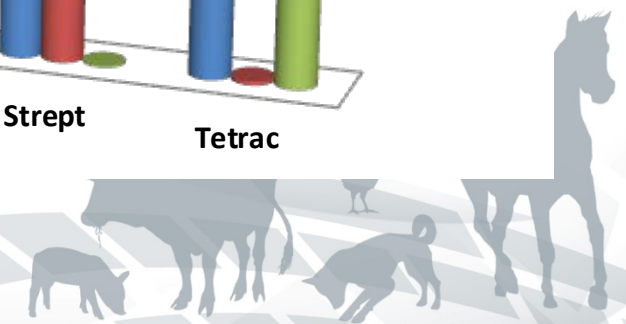
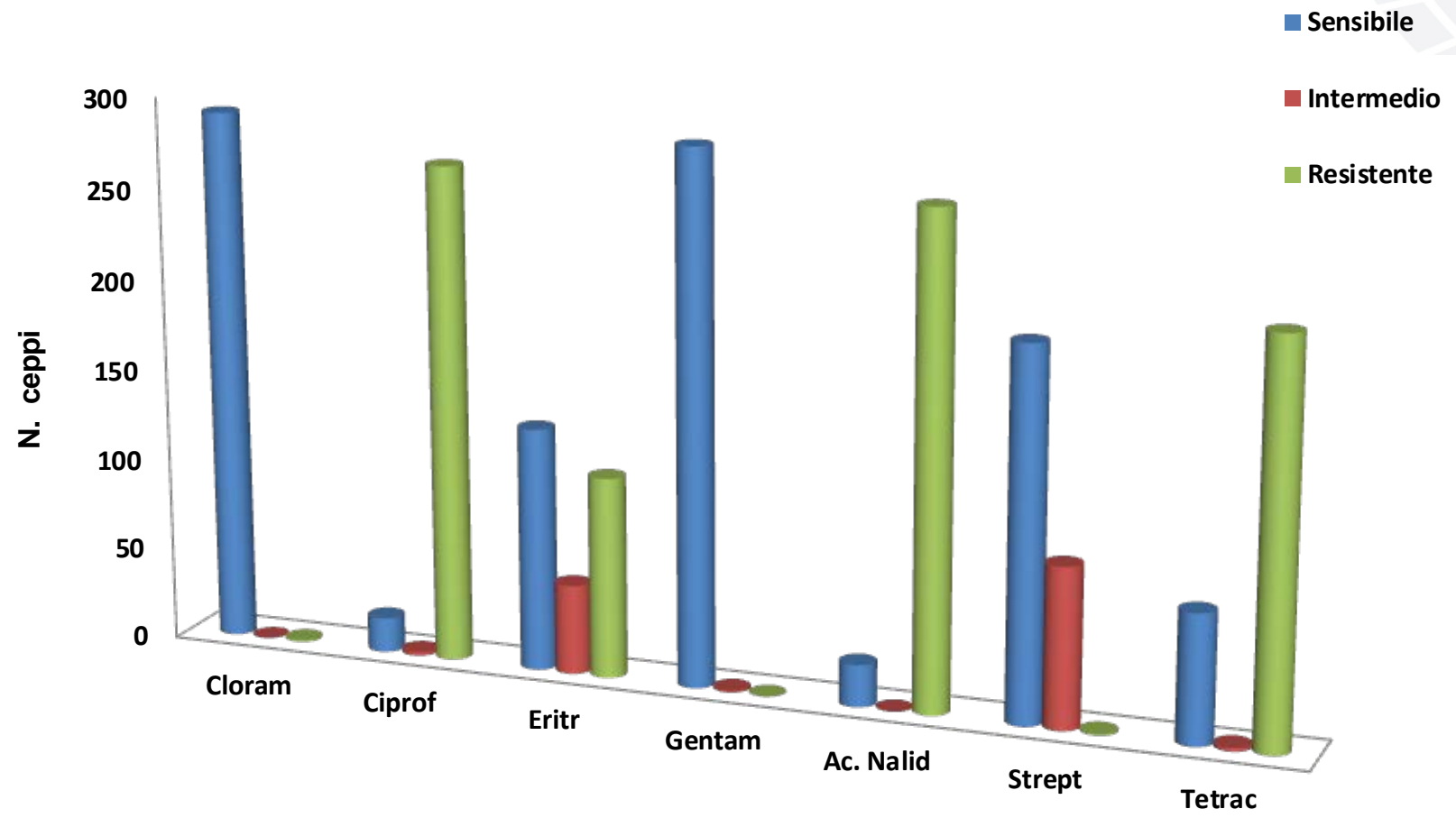
*allevamento A **allevamento B

Resistenza del *Campylobacter coli* negli impianti di macellazione (Solow et al., 2003; Oyarzabal et al., 2010.)

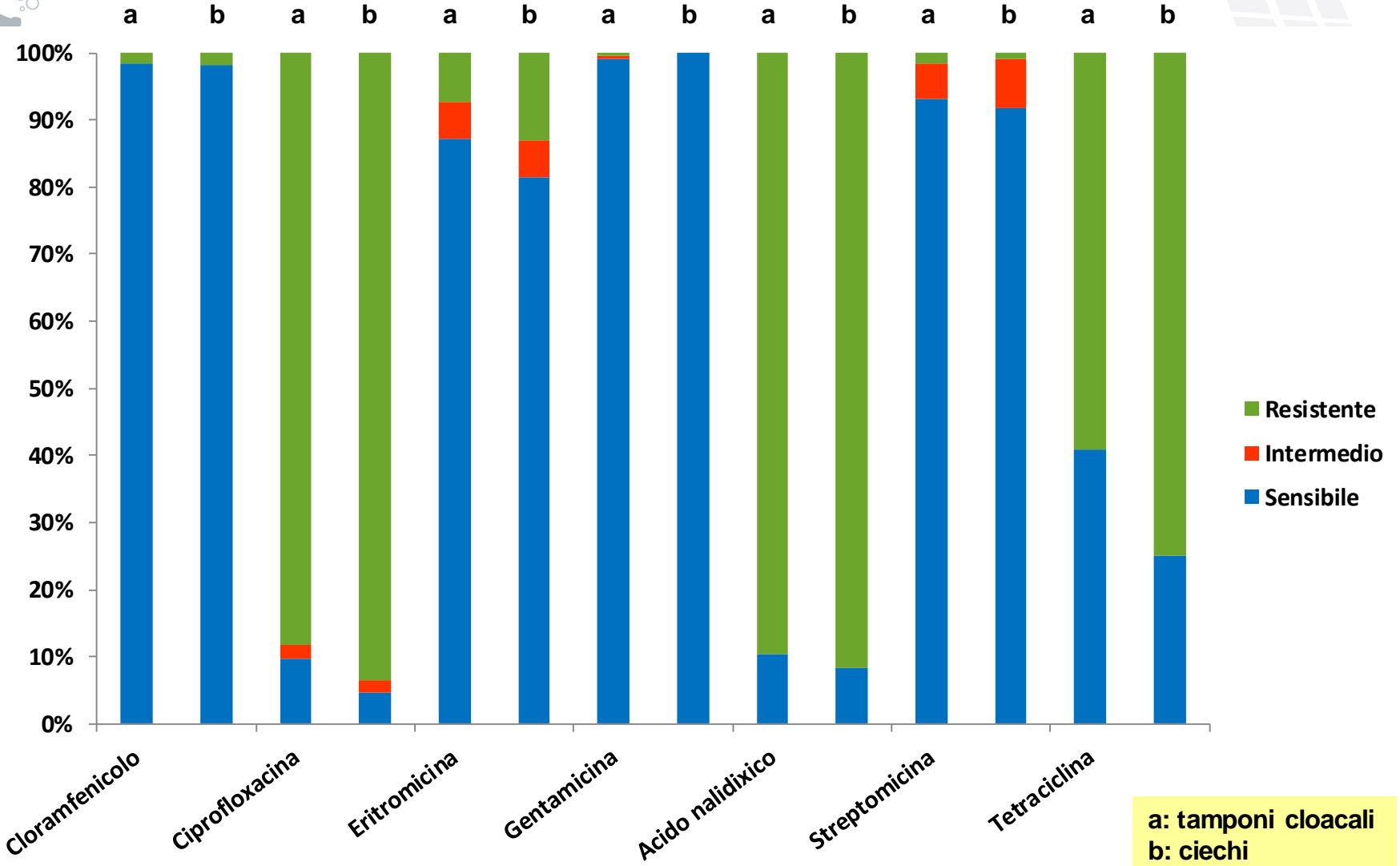
Andamento delle resistenze agli antibiotici nel *Campylobacter jejuni*



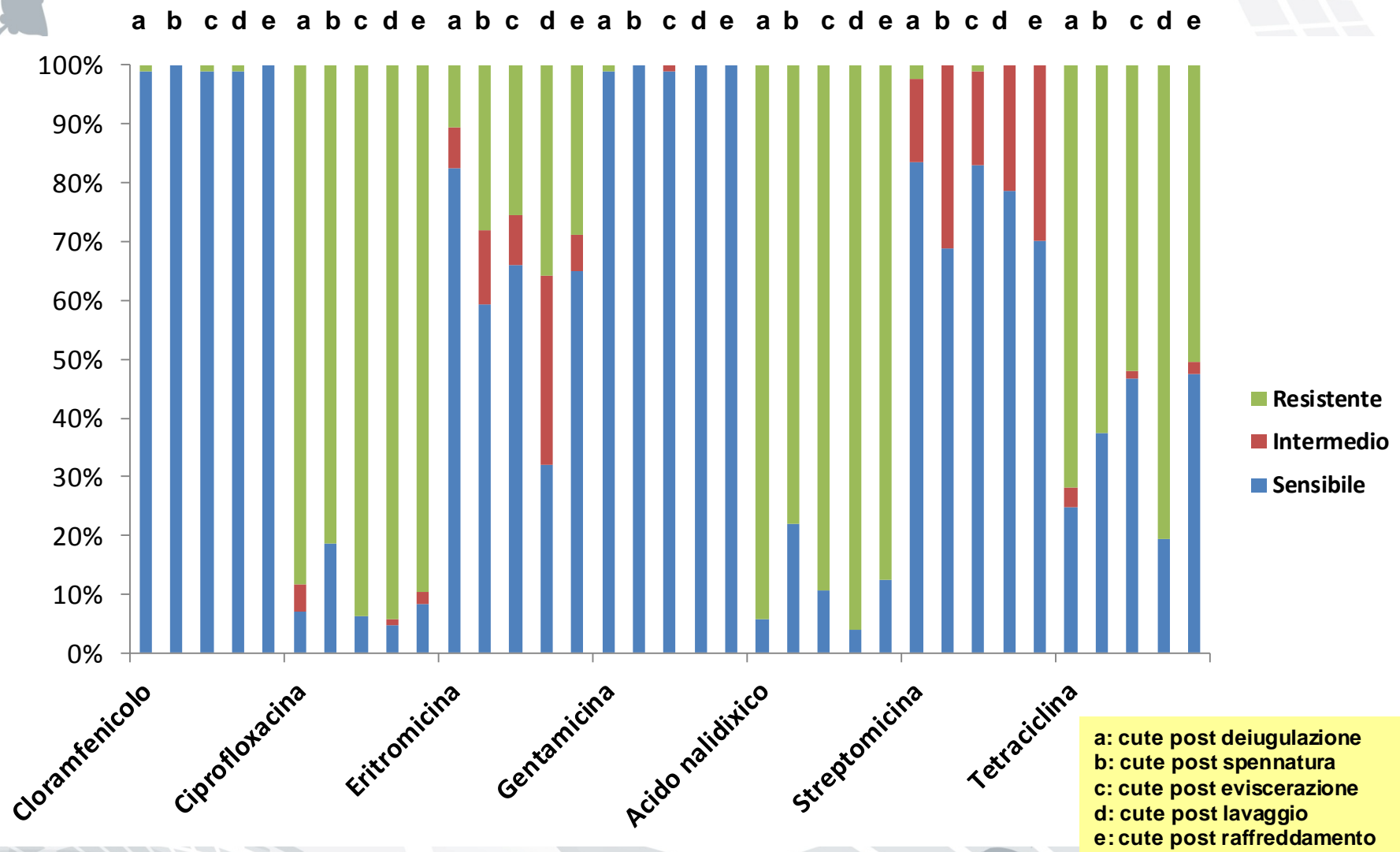
Andamento delle resistenze agli antibiotici nel *Campylobacter coli*



Confronto della resistenza agli antimicrobici in tamponi cloacali e ciechi



Confronto della resistenza agli antimicrobici nella cute



Sierotipizzazione

Campylobacter jejuni

Penner e Hennessy, 1980



Sierogruppo	Sierotipo	Numero ceppi (valore %)
A	HS: 1, 44	45 (11.8)
C	HS: 3	61 (15)
D	HS: 4, 13, 16, 43, 50	55 (14.5)
E	HS: 5	1 (0.3)
I	HS: 10	1 (0.3)
J	HS: 11	1 (0.3)
L	HS: 15	84 (21)
O	HS: 19	1 (0.3)
R	HS: 23,36,53	1 (0.3)
V	HS: 32	1 (0.3)
Y	HS: 37	1 (0.3)
Z4	HS: 45	1 (0.3)
Z5	HS: 52	25 (6.5)
Z6	HS: 55	30 (7.7)
Z7	HS: 57	1 (0.3)
NT	Non tipizzabile	66 (17.2)
NC	Non classificabile	7 (1.8)

.....in corso



PFGE
(Pulsed Field Gel Electrophoresis)

MLST
(MultiLocus Sequence Typing)



Caratterizzazione molecolare e studi epidemiologici sui ceppi di *Campylobacter* isolati



Conclusioni

- Esigenza di **indagare** in maniera puntuale nell'ambiente di allevamento in modo da poter individuare le **modalità di ingresso del *Campylobacter*** nella filiera.
- Analisi del rischio: esaminare e confrontare i dati ottenuti dallo studio al fine di **valutare i rischi associati alla presenza di questo patogeno** sia in allevamento che nell'impianto di macellazione.



ISTITUTO G. CAPORALE
TERAMO

**Grazie per
l'attenzione!**

Ringraziamenti:

Dr.ssa Elisabetta Di Giannatale

Dr.ssa Vincenza Prencipe

Alessandra Alessiani

Katiuscia Zilli

Tiziana Persiani

Silvana Salvatore

Maria Antonietta Pomanti

Ilenia Platone

Lorena Sacchini

Francesca Marotta

Giuliano Garofolo

Federico Di Fabio

Reparto di Igiene degli alimenti-Sede Centrale

Reparto di Igiene degli alimenti-Sezioni di Pescara e Campobasso

COVEPI

