

PRESENZA DI CAMPYLOBACTER SPP. NELLA CARNE DI POLLAME MACELLATA IN ROMAGNA.**M. Cocchi, P. Massi, G.Tosi, M. Tamba.***Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna.*Parole chiave: *Campylobacter spp.*, pollame, prevalenza.**Survey of the incidence of *Campylobacter spp.* infection in poultry meat in Emilia Romagna.**Key words: *Campylobacter spp.*, Poultry meat, Prevalence.

Summary: *Campylobacteriosis* has become recognised as a major cause of human enteritis in many developed countries. A survey about *Campylobacter spp.* isolated from poultry meat in Emilia Romagna was performed.

Correspondence: Monia Cocchi – Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna – Sezione di Forlì – Via Marchini 1 – 47100 Forlì. Email: forli@bs.izs.it.

Introduzione

Le tossinfezioni alimentari sostenute da *Campylobacter spp.* (in particolar modo *Campylobacter jejuni* e *Campylobacter coli*) costituiscono una delle cause più frequenti di enterite nell'Uomo. Diverse sono le fonti di infezione: consumo di latte crudo, acqua contaminata, carne di volatili, di suino e di bovino, contatto con feci infette di animali d'affezione (5). Fra di esse sia il consumo di carne di pollame cotta poco e/o in modo inadeguato, sia la sua erronea manipolazione costituiscono il principale serbatoio di infezione per l'Uomo (1). L'infezione sostenuta da *Campylobacter spp.* da luogo ad una enterite acuta, solitamente autolimitante, caratterizzata da febbre alta e persistente, diarrea (inizialmente acquosa e successivamente sanguinolenta) e violenti crampi addominali. Essa può dare luogo, inoltre, a complicazioni sia a livello intestinale (pancreatite, colecistite ed emorragie del tratto gastro-intestinale) sia a livello extra-intestinale, solitamente rare. Fra di esse ricordiamo la sindrome di *Guillain - Barré* e la sindrome di *Miller Fisher*, neuropatie acute immuno-mediate, oltre alla sindrome emolitico-uremica (1; 2). Scopo del presente studio è stato verificare l'esistenza di una contaminazione da *Campylobacter spp.* nella carne di pollame macellata in E. Romagna.

Materiali e metodi

La ricerca è stata effettuata nel periodo 1° gennaio – 31 luglio 2001 su busti di *broilers* e/o sulle parti di questi (cosce, sovracosce e petto) prelevati, alla fine della catena di macellazione o lungo la catena di lavorazione (prima dell'imballaggio), dai servizi Veterinari dell'A.S.L. di Forlì, Cesena e Rimini. I campioni, dopo essere stati prelevati sterilmente, sono stati messi in appositi sacchetti e conferiti, alla temperatura di 4°C al laboratorio della Sezione Diagnostica di Forlì dell'IZSLER. Una volta giunto in laboratorio, ogni campione è stato sottoposto all'isolamento ed identificazione dei *Campylobacter*, secondo lo schema qui di seguito indicato. 25 g muscolo+225 ml di *Campylobacter Enrichment broth (BHI+ Campylobacter Growth Supplement e Modified Karmali Selective Supplement, Oxoid)*, preparato presso la Sezione di Forlì, incubato a temperatura di 42°C per 48 ore; isolamento effettuato inoculando i seguenti terreni:

Skirrow agar (SK) - preparato presso la Sezione di Brescia -; *Karmali agar* (KA) e *Preston agar* (PR), - entrambi preparati presso la Sezione di Forlì-, posti in termostato a 42°C, in microaerofilia (*BBL Campy Pouch Microaerophilic System. Becton Dickinson*) per 24- 72 ore. Trascorso tale periodo, le colonie sospette sono state isolate su *Agar Sangue* (fornito dalla Sezione di Brescia), incubato in microaerofilia per 24-72 ore a 37°C. Al termine di detto periodo, le colonie emolitiche sono state sottoposte a colorazione di *Gram* e test della catalasi e, successivamente, solo le colonie *Gram* negative, con caratteristica morfologia e catalasi + sono state sottoposte a prove di identificazione di genere (idrolisi del sodio ippurato, sensibilità all'acido nalidixico e alla cefalotina - secondo metodo Kirby-Bauer, usando dischetti da 30 µg della *Oxoid*, nel primo caso e *BBL* nel secondo caso -, *Api Campy -Bio Merieux*-).

Il numero totale dei campioni esaminati è stato pari a 70; di questi 37 erano campioni di muscolo con pelle e 33 senza pelle.

Per quanto riguarda l'analisi statistica approntata al fine di verificare se la presenza della pelle possa essere considerata come fattore di rischio si è utilizzato l'*Odds Ratio* (OR), parametro che permette di indicare quante volte è più alta la probabilità di presenza di *Campylobacter spp.* in campioni di muscolo con pelle, rispetto a quelli senza pelle. Inoltre, il confronto fra gli esiti ottenuti con i diversi terreni selettivi è stato effettuato tramite il metodo statistico del χ^2 secondo *Mc Nemar* per campioni non indipendenti.

Risultati

Riportati nelle tabelle 1 e 2 e in figura 1.

Dal confronto fra i risultati ottenuti con i tre terreni di arricchimento è emerso che il PR ha una sensibilità apparente del 96%, KA e SK una sensibilità del 60% e del 56%, rispettivamente. Confrontando i test a due a due mediante il calcolo del χ^2 modificato di *Mc Nemar* si è visto che PR ha una sensibilità significativamente superiore sia a KA ($\chi^2= 5.81$; $P= 0.012$) che a SK ($\chi^2= 6.75$; $P=0.006$). Dall'analisi condotta è emerso che la presenza di *Campylobacter* è legata alla presenza della pelle. Questo risultato è stato ottenuto valutando l'OR, che per la presenza della pelle è uguale a 14.67 (3.78-56.93, intervallo di confidenza 95%). Questo sta a significare che nel muscolo con pelle la probabilità di

isolare il batterio è 14.67 volte superiore rispetto al muscolo senza

Discussione

Questo studio ha messo in evidenza due elementi che vogliamo sottolineare: da un lato la pelle quale fattore di rischio nella contaminazione delle carcasse avicole e, dall'altro l'elevata sensibilità di PR, quale terreno di arricchimento.

Nel primo caso, diversi AA (3;4;6) hanno sottolineato il fatto che la contaminazione della pelle e delle piume contribuisce non solo ad inquinare la catena di macellazione, favorendo la diffusione del batterio anche a successive partite, ma anche far sì che l'elevato tasso di contaminazione costituisca fonte di contaminazione per i successivi impianti di lavorazione. Tutto questo, unito al mancato rispetto delle norme igieniche può contribuire ad innalzare la percentuale di positivi sino a valori molto elevati al momento della vendita (4;7).

Ne consegue così che il miglioramento delle misure di biosicurezza da un lato e il corretto maneggiamento della carne avicola anche in ambito casalingo possono contribuire ad un abbassamento dei casi di tossinfezione alimentare.

Per quanto riguarda, invece, l'uso dei tre diversi terreni di isolamento vi è da sottolineare l'elevata sensibilità di PR, che ha permesso di isolare *Campylobacter spp.* in casi in cui l'uso di uno solo degli altri terreni non lo avrebbe permesso. Questo ha fatto sì che la prevalenza da noi ottenuta (37.5%) si attesti su valori riscontrati da alcuni AA. (3;7), discostandosi profondamente da quelli riportati da Lo Schiavo *et al* (8), mettendo in luce, quindi la difficoltà che si può incontrare nell'iter di isolamento del germe.

Ringraziamenti

Si ringraziano per la preziosa collaborazione i sigg.ri A. Chiusi e S. Bussi, tecnici del laboratorio di batteriologia della Sezione IZS di Forlì.

Bibliografia

- 1) Allos B.M. (2001). *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. Clin. Infect. Dis. 32:1201-1206.
- 2) Ang C.W, De Klerk M.A, Endtz H.P, Jacobs B.C, Laman J.D, Van Der Mechè F.G.A, Van Doorn, P.A. (2001). Guillain-Barrè Syndrome and Miller Fisher Syndrome Associated *Campylobacter jejuni* Lipopolysaccharides induce Anti-GM₁ and Anti- GQ_{1b} Antibodies in rabbits. Infect. Immun. 69, 4: 2462-2469.
- 3) Berrang M.E, Buhr R.J and Cason J.A. (2000). *Campylobacter* Recovery from external and internal organs of commercial broiler carcass prior to scalding. Poult. Sci. 79: 286-290.
- 4) Berrang M.E, Ladely S.R and Buhr R.J.(2001) Presence and level of *Campylobacter*, *Coliforms*, *Escherichia coli* and total aerobic bacteria recovered from broiler parts with and without skin. J. Food Prot. 64,2:184-188.
- 5) Butzler J.P. and Oosterom J. (1991). *Campylobacter*: pathogenicity and significance in foods. Int. J. Food Microbiol. 12: 1-8.
- 6) Di Modugno G., Camarda A., Nasti R. (1997). Introduzione e propagazione del *Campylobacter jejuni* in allevamenti di *broilers*. Presenza del germe su cute e piumaggio prima della macellazione e possibile influenza sulla contaminazione di carni. La Selezione Veterinaria. 9: 757-767.

- 7) Kramer J.M, Frost J.A, Bolton F.J. and Wareing D.R.A. (2000). *Campylobacter* contamination of raw meat and poultry at retail sale: identification of multiple types and comparison with isolates from human infection. J. Food Prot. 63, 12: 1654-1659.
- 8) Lo Schiavo A, Minniti A, Panebianco A, Iannuzzi L. (1991). Isolamento di *Campylobacter jejuni* da polli totalmente eviscerati. Archivio Veterinario Italiano. 42, 1: 18-21.

Tabella 1: isolamento di *Campylobacter spp.*

Table 1: isolation of *Campylobacter spp.*

	Muscolo con pelle	Muscolo senza pelle	Totale isolamenti
C. jejuni	16	3	19
C.coli	6	-	6
Tot. isolamenti	22	3	25

Tabella 2: confronto fra SK, KA e PR.

Table 2: comparison between SK, KA and PR.

N. ceppo	Terreno di isolamento		
	SK	KA	PR
1	+	+	+
2	+	-	+
3	-	-	+
4	-	-	+
5	-	-	+
6	-	+	+
7	-	-	+
8	+	-	+
9	-	-	+
10	+	+	+
11	+	+	-
12	+	+	+
13	+	+	+
14	+	+	+
15	+	+	+
16	+	+	+
17	-	-	+
18	+	+	+
19	-	+	+
20	-	+	+
21	+	+	+
22	+	+	+
23	+	+	+
24	-	-	+
25	-	-	+
Tot. isolamenti	14	15	24

1,2; 4,5; 8;10,12,14-25: C. jejuni; 3,6,7,9,11,13: C. coli

Fig. 1: isolamento di *Campylobacter* spp. nel periodo gennaio-luglio 2001.
Fig.1: isolation of *Campylobacter* spp in the period January- July 2001.

