

VALUTAZIONE DELLA CONTAMINAZIONE DA *SALMONELLA* SPP. LUNGO LA FILIERA PRODUTTIVA IN CINQUE ALLEVAMENTI SUINI DEL CENTRO ITALIA

OCCURENCE OF SALMONELLA SPP. IN FIVE FARROW TO FINISH PIG HERDS IN CENTRAL ITALY

D'AVINO N.¹, CUCCO L.¹, CIUTI F.¹, ORTENZI R.¹, PANICCIA' M.¹, PEZZOTTI G.¹, STAFFOLANI M.¹, MAGISTRALI C.F.¹

1 Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia, Italy;

Parole chiave: *Salmonella*, suino, filiera

Key words: *Salmonella*, swine, production chain

Riassunto. Il presente lavoro descrive i risultati di un'indagine sulla diffusione di *Salmonella* spp. condotta all'interno di cinque aziende a ciclo chiuso di dimensioni medio piccole del centro Italia. Il campionamento è stato effettuato lungo la filiera produttiva, dalla produzione primaria fino alla carne fresca. In tutte le aziende è stato isolato almeno uno stipte di *Salmonella* in uno dei diversi comparti della filiera: in particolare, sono stati isolate *S. Derby* nelle scrofe in gestazione, *S. Rissen* nelle stalle di sosta, variante monofasica di *Salmonella* Typhimuirum (*S. 4,(5),12:i:-*) nei suini all'ingrasso, nei linfonodi e nel contenuto intestinale al macello e nella carne. Le percentuali di positività riscontrate risultano tuttavia tendenzialmente inferiori rispetto ai dati ottenuti nel corso di indagini svolte recentemente dall'EFSA. Una giustificazione di questi risultati potrebbe trovarsi nel contenimento di alcuni fattori di rischio in grado di amplificare la contaminazione da *Salmonella* nelle fasi terminali della filiera, quali la durata e le modalità di trasporto e la gestione della sosta.

Abstract. The present work describes results of a survey carried in five small- medium size pig farms in central Italy, in order to determine the occurrence of *Salmonella* throughout the production chain. Samples have been collected from live animals on farms, during transport and lairage and at slaughterhouse, up to raw meat. At least one isolate of *Salmonella* has been isolated in each farm. In respect to serotypes, *S. Derby* was isolated from gestating sows, *S. Rissen* from lairage, *S. enterica* serovar 4,(5),12:i:- from finishers, intestinal contents and lymph nodes at slaughter and meat. Taken as a whole, the proportion of positives appear lower compared to what described in literature and in the results of the EFSA survey. This feature could be justified with the lower impact of those risk factors that influence *Salmonella* contamination in the last steps of the production chain, such as transport and lairage.

INTRODUZIONE

La salmonellosi viene tuttora considerata come una delle più importanti zoonosi trasmesse attraverso gli alimenti: la carne suina, dopo le uova e la carne di pollo, viene considerata come una delle più importanti fonti di contaminazione per l'uomo. La prevalenza di *Salmonella* spp. è stata indagata nel 2007 in uno studio effettuato dall'EFSA, attraverso l'esame colturale di linfonodi al macello, rilevando una percentuale di positivi pari al 10.3% in Europa e 16.5% in Italia; in uno studio successivo, è stata valutata la prevalenza di questo agente in allevamenti di produzione e riproduzione. Sono quindi state prese

in considerazione diverse strategie d'intervento per contenere la contaminazione da *Salmonella* spp. nei prodotti di origine suina, da applicare in diversi momenti della filiera. Ai fini della circolazione di *Salmonella* spp., essa è stata suddivisa in grandi fasi: la fase di produzione primaria, la fase di trasporto e di permanenza nelle stalle di sosta, e la macellazione e lavorazione del prodotto. Nella produzione primaria, l'infezione può essere introdotta attraverso varie fonti, sia dirette che indirette, tra cui le principali sono gli animali, ad esempio le scrofette da rimonta, e l'alimento. All'interno degli allevamenti, l'infezione viene generalmente contratta dai suini dopo la messa a terra; essa viene quindi perpetuata come conseguenza di una contaminazione ambientale. Inoltre, è noto come le infezioni contratte durante il trasporto e nelle stalle di sosta siano particolarmente a rischio per la successiva contaminazione della carcassa; infatti durante queste fasi si realizza un aumento della escrezione batterica e quindi una cross-contaminazione tra partite diverse di suini (Schmidt, 2004). Infatti, è stato dimostrato come *Salmonella* spp. sia in grado di infettare i suini in un tempo inferiore alle due ore (Hurd, 2001). Pratiche igieniche non corrette durante le fasi di macellazione e trasformazione contribuiscono ulteriormente ad una contaminazione finale del prodotto. Questo quadro è ulteriormente complicato dalla struttura diversificata della filiera del suino nella Comunità Europea.

Scopo di questo lavoro è stato quindi quello di valutare con metodica semi-quantitativa la presenza di *Salmonella* spp. lungo la filiera suina. L'indagine è stata svolta in allevamenti a ciclo chiuso dell'Italia centrale, con un numero di scrofe inferiore a 500, che conferivano ad un macello di piccole dimensioni e che commercializzavano in ambito regionale.

MATERIALI E METODI

Allevamenti:

Per questo lavoro sono stati selezionati cinque allevamenti a ciclo chiuso, localizzati in Italia centrale; tutte le aziende selezionate presentavano le seguenti caratteristiche: presenza di riproduttori in azienda, impiego di un macello di proprietà o di dimensioni limitate e commercializzazione dei prodotti in ambito regionale.

Tabella 1: *caratteristiche degli allevamenti campionati- riproduzione*

Table 1: *Management system of the sampled herds - breeders*

	Numero di scrofe	Gestione a bande	Rimonta	AI/AO: sale parto	Pavimentazione Gestazione	AI/AO gestazione	Svezamento (età in gg)
1	130	no	Esterna	sì	Parzialmente grigliata	no	27-28
2	220	no	Interna	sì	Parzialmente grigliata	no	28
3	450	sì	Interna	sì	Parzialmente grigliata	no	28
4	175	no	Interna	no	Parzialmente grigliata	no	22
5	160	no	Interna	sì	Pieno	Sì	21-28

Tabella 2: *caratteristiche degli allevamenti campionati- magronaggio e ingrasso*
Table 2: *management system of the sampled herds - growers and finishers*

	Suini da altri fornitori	Magronaggio distinto	Ingrasso separato	AI/AO ingrasso	Pavimentazione Ingrasso	Impiego pellet	Fonte alimento
1	no	no	Si	No	Parzialmente grigliato	Si	Esterna
2	sì	sì	sì	no	Grigliato	Si	Interna
3	sì	no	sì	sì	Parzialmente grigliato	No	Interna
4	no	sì	sì	no	Parzialmente grigliato	No	Esterna
5	no	sì	sì	sì	Parzialmente grigliato	No	Esterna

Tabella 3: *caratteristiche degli allevamenti campionati: trasporto e macellazione*
Table 3: *Management system of the sampled herds - transport, lairage and slaughter*

	Tempo medio per trasporto (minuti)	Uso di mezzo proprio	Procedure di disinfezione mezzo	Permanenza in stalle di sosta in media (ore)	Numero suini macellati/ settimana in media	Macellazione di altre specie	Rivendita aziendale
1	20-25	sì	sì	48	300	Si (bovini, ovini)	sì
2	20-40	sì	sì	48	100	Si (bovini, equini, ovini)	no
3	30-60	sì	sì	24-48	200-300	Si (bovini, ovini)	sì
4	20	sì	sì	24	150	no	sì
5	120	no		24	38	no	no

Campionamento:

Per determinare il numero di campioni si è tenuto conto della prevalenza attesa nelle singole fasi, desunta da indagini EFSA o dalla bibliografia, con intervallo di confidenza del 95% ed un livello di errore del 10%. Per i riproduttori, la prevalenza attesa considerata è stata del 2% (Magistrali, 2009), per l'ingrasso e le carcasse del 5% (EFSA, 2009), per i linfonodi del 16% (EFSA, 2009), per il contenuto intestinale del 28% (Magistrali, 2005) e, infine, per la carne del 3% (EFSA, 2009).

In ciascun allevamento sono stati eseguiti i seguenti prelievi: feci dal reparto riproduzione (scrofe in sala parto e in gestazione, n=23) e dall'ingrasso a circa 1 mese dalla macellazione (n=27). Le feci, circa 25 grammi, sono state prelevate individualmente, conservate a temperatura di refrigerazione e conferite per l'analisi entro 4 ore dal prelievo. Sono stati quindi effettuati prelievi dai camion destinati al trasporto dopo pulizia e disinfezione, dalle stalle di sosta, sempre prima che fossero introdotti gli animali, e dalle strutture del macello. Gli animali da cui sono stati effettuati i prelievi al macello appartenevano agli stessi gruppi campionati all'ingrasso.

Per i prelievi ambientali sono state utilizzate spugne pre-umidificate con acqua peptonata tamponata (Sponge bags, Solar Biologicals Inc) (almeno 5 prelievi da diversi punti per ciascun ambiente). Anche questi campioni sono stati mantenuti a temperatura di refrigerazione e conferiti entro 4 ore dal prelievo al laboratorio di analisi.

Dai suini al macello sono stati campionati i linfonodi ileocecali (n=25), il contenuto intestinale (n=30) e le carcasse (n=18). Le carcasse sono state campionate tramite l'impiego di spugnette pre-umidificate con acqua peptonata tamponata (Sponge bags, Solar Biologicals Inc). Infine, sono stati prelevati 9 campioni di carnetta (carne fresca da destinare alla lavorazione degli insaccati). Tutti i campioni sono stati mantenuti a temperatura di refrigerazione e conferiti entro 4 ore circa dal prelievo al laboratorio di analisi.

Nell'allevamento 1 sono state effettuate due serie complete di campioni; nell'allevamento 3, dove erano presenti tre strutture destinate all'ingrasso, il prelievo relativo a questa fase è stato svolto in tutti e tre i capannoni.

Esami colturali:

Per la metodica semiquantitativa, si è seguita la procedura proposta da Wales et al. (2006): in breve, sono state pesati 10 g di feci e a queste sono stati aggiunti 90 ml di acqua peptonata tamponata. Questa prima diluizione, è stata usata come diluizione 0, e successivamente sono state effettuate altre 7 diluizioni, in base 10, aggiungendo 1 ml della diluizione precedente a 9 ml di acqua peptonata. Tutte le diluizioni, da 0 a -7, sono state successivamente incubate a $37^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ per 18 ± 3 h. Dopo l'incubazione, 0,1 ml delle diluizioni 0, -1 e -2, sono state seminate su Modified Semisolid Rappaport Vassiliadis (Biokar Diagnostics), addizionato con novobiocina allo 0.01%, e incubate a $41,5^{\circ}\text{C}$ per 24-48 ore, mentre le diluizioni dalla -3 alla -7 sono state mantenute a $+4^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$. Crescite opache lontano dal sito di inoculo su MSR/V sono state considerate sospette e di conseguenza seminate su terreni solidi selettivi, Xylose Lysine Deoxycolate agar (Biolife) e Chromogenic *Salmonella* Agar (Bio-Rad), e incubate a 37°C for 24 - 48 ore. Le colonie sospette sono state quindi confermate biochimicamente (Api Rapid 20E, Biomerieux) e sierologicamente (*Salmonella* test sera omnivalent/polyvalent, Siemens).

Se un campione risultava positivo per una delle tre diluizioni (0, -1, -2), venivano esaminate tutte le diluizioni effettuate, fino alla -7, seminando l'acqua peptonata mantenuta a refrigerazione su MSR/V, come sopra descritto.

L'interpretazione dei risultati semiquantitativi è stata effettuata sulla base di quanto descritto da Wales (2006); in breve, veniva valutata la diluizione maggiore in grado di dare luogo a crescita, e a questa aggiunto 1; questo valore numerico veniva designato 'QS score'. Il calcolo delle UFC/g⁻¹ era quindi calcolato come intervallo tra due concentrazioni, in base a quanto segue:

$$\text{Quantità di } \textit{Salmonella} \text{ (UFC/g}^{-1}\text{)} = 10^{(\text{QS}_{\text{score}} - 2)} - 10^{(\text{QS}_{\text{score}} - 1)}$$

Caratterizzazione sierologica e antibiogramma:

Almeno un isolato da ciascuna diluizione positiva è stato tipizzato sierologicamente

sulla base dello schema di Kauffmann – White (Popoff, 2003). Il saggio di sensibilità agli antimicrobici è stato eseguito sugli isolati di *Salmonella* (variante monofasica di *Salmonella* Typhimurium (S. 4,(5),12:i:-) ed è stato effettuato con la tecnica della diffusione in agar secondo le linee guida CSLI (2002, 2007) , utilizzando dischetti antimicrobici del commercio (OXOID). Sono stati saggiati 16 antibiotici alle seguenti concentrazioni: Ampicillina (A) 10, Cloramfenicolo (C) 30, Streptomina (S) 10, Sulfonamidi (Su) 300, Tetraciclina (T) 30, Acido nalidixico (Nal) 30, Cefotaxime (Ctx) 30, Ciprofloxacina (Cip) 5, Gentamicina (Gm) 10, Kanamicina (Kan) 30, Amoxicillina-acido clavulanico (Amc) 30, Trimethoprim-Sulfametossazolo (Sxt) 1.25/23.75, Cefalotina (Kf) 30, Colistina (Cl) 10, Enrofloxacin (Enr) 5 e Ceftazidime (CAZ) 30.

Pulsed field gel electrophoresis (PFGE):

Gli isolati provenienti da una stessa azienda e appartenenti da un medesimo sierotipo, vale a dire i ceppi di *Salmonella* 4; [5], 12:i-, sono stati caratterizzati mediante Pulsed field gel electrophoresis, sulla base del protocollo Pulse-Net-Europe, come altrove descritto (Peters, 2003) . Sono stati caratterizzati con questa metodica un isolato proveniente dall'ingrasso e uno dal contenuto intestinale al macello provenienti dai suini dell'allevamento 3, e 10 isolati provenienti da suini dell'allevamento 5, di cui due dall'ingrasso, tre dai linfonodi e cinque dal prodotto finito. In breve, i ceppi di *Salmonella* sono stati coltivati su piastre di Tryptic Soy Agar (TSA) *overnight* a 37°C, quindi sono stati risospesi in 1 ml di cell suspension buffer (CSB: 100mM TRIS, 100mM EDTA, pH 8) e portati ad una densità ottica di 0,5-0,6 a 600nm. Proteinasi K (8 U) (Invitrogen, 20mg/ml, 400 U) e 500 µl of agarosio (Certified Megabase Agarose, BIO-RAD) disciolti in tampone TE al 2% (TRIS 10mM, EDTA 1.0mM, pH 8.0) e raffreddati a 55°C, sono stati quindi aggiunti a 500 µl della sospensione batterica. La mix è stata successivamente distribuita in Plug molds (BIO-RAD) e raffreddata.

Questi blocchetti di agar sono stati quindi sottoposti a lisi in tampone Clysis B (TRIS 50mM, EDTA 50mM, Sarkosyl 1%, pH 8), addizionati con 3U di Proteinasi K, e incubati per due ore a 55°C in bagnomaria con agitazione continua. Dopo la lisi, i campioni sono stati lavati (10' a 55°C in agitazione continua) due volte con 5 ml di acqua distillata e tre volte impiegando 5 ml di tampone TE. La restrizione del DNA batterico è stata eseguita impiegando enzima XbaI (Promega)(50 U, a 37°C per 18 ore); solo per *Salmonella* Hadar, è stata condotta una seconda digestione impiegando l'enzima BlnI (Amersham Biosciences), come sopra descritto.

L'elettroforesi è stata effettuata con il sistema Chef Mapper XA (BIO-RAD), in gel di agarosio al 1% e in tampone TBE 0,5X (TRIS 50mM, Acido borico 50mM, EDTA 0.5mM) per 22 ore a 14°C, 6V/cm, switch time da 2s a 64s e angolo 120°. Come riferimento sono stati utilizzati ceppi di *Salmonella* Braenderup H9812 e *Salmonella* Senftenberg. Dopo la corsa, il gel è stato colorato con Bromuro di Etidio (0.4 µg/ml) per 10', lavato in acqua distillata per 30' e fotografato con un transilluminatore a UV. Le immagini ottenute sono state successivamente elaborate utilizzando il programma BIONUMERICS (v. 4.61, Applied Math, Sint-Martens-Latem, Belgio).

RISULTATI

In tabella 4 vengono indicati i risultati relativi agli esami batteriologici selettivi per *Salmonella*, distinti sulla base del punto di origine lungo la filiera. I risultati sono espressi come numero di positivi sul totale dei campioni esaminati; viene inoltre indicato il sierotipo di appartenenza. In un caso, vale a dire in un campione di contenuto intestinale proveniente dall'allevamento numero 3, sono stati isolati due diversi sierotipi di *Salmonella* (variante monofasica di *Salmonella* Typhimurium (S. 4,(5),12:i:-) e *Salmonella* 0:50).

Tabella 4: esiti degli esami batteriologici (numero di campioni positivi/ campioni prelevati) e sierotipo di *Salmonella*

Table 4: results of bacteriological tests (number of positives/ tested samples) and serotypes of *Salmonella*

	Produzione primaria (pre-harvest)		Trasporto, stalle di sosta e mattatoio (harvest)			Macellazione e lavorazione del prodotto (post-harvest)			
	Scrofe	Ingrasso	Trasporto	Stalle di sosta	Mattatoio	Linfonodi	Intestino	Carcasse	Carne fresca
1	1/46 S. Derby	0/54	0/10	0/10	0/10	0/48	0/48	0/36	0/25
2	0/23	0/27	0/5	1/5 S. Rissen	0/5	0/24	0/24	0/18	0/9
3	3/25 S. Derby	0/78	0/5	0/5	0/5	0/24	0/24	0/24	0/9
4	0/23	1/27 S. 4; [5], 12:i-	0/5	0/5	0/5	0/24	3/24 S. 4; [5], 12:i-; S. 0:50	0/24	0/25
5	0/23	1/27 S. 4; [5], 12:i-	0/5	0/5	0/5	3/24 S. 4; [5], 12:i-	0/30	0/24	1/1 S. 4; [5], 12:i-
Totale	4/140 (2,8%)	2/213 (0,9%)	0/30	1/30	0/30	3/144 (2,1%)	3/150 (2,0%)	0/116	1/69 (1,4%)

In Tabella 5 sono indicati i sierotipi di *Salmonella* isolati lungo la filiera nei cinque allevamenti campionati; sono inoltre riportati i valori di concentrazione riscontrati, ottenuti mediante metodica semi-quantitativa.

Tabella 5: esiti delle tipizzazioni e rilevazioni semiquantitative nei campioni positivi

Table 5: serotypes and semi-quantitative determination in positive samples

Allevamento	Sierotipo	Origine	Identificativo Campioni	Concentrazione (in UFC/g)
1	<i>Derby</i>	Scrofe (gestazione)	21	10 ² -10 ³
2	<i>Rissen</i>	Stalle di sosta	9	1-10
3	<i>Derby</i>	Scrofe (gestazione)	16 19,22	1-10; 10 ⁶ -10 ⁷
4	4; [5], 12:i- 0:50	Ingrasso	8	10 ² -10 ³
		Intestino	15	10-10 ²
5	4; [5], 12:i- 4; [5], 12:i- 4; [5], 12:i-	Intestino	24 15,29	10-10 ² 10 ² -10 ³
		Ingrasso	11	10-10 ²
		Linfonodi	1,2,21	1-10
	4; [5], 12:i-	Carne	1	10-10 ²

Per quanto riguarda la sensibilità agli antimicrobici, tutti gli stipti saggiati di variante monofasica di *Salmonella* Typhimurium (S. 4,(5),12:i:-) hanno mostrato resistenza a ampicillina, streptomina, sulfonamidi e tetracicline; questo profilo di resistenza è conosciuto come resistotipo ASSuT.

L'analisi in PFGE ha permesso di evidenziare una percentuale di omologia dei ceppi superiore al 99%; gli isolati di *Salmonella* variante monofasica di *Salmonella* Typhimurium (S. 4,(5),12:i:-) possono quindi essere considerati identici.

DISCUSSIONE

In tutte e cinque le aziende sottoposte a campionamento è stata osservata almeno una positività per *Salmonella*, in allevamento, durante la fase di trasporto, durante la macellazione o nella carne fresca, a conferma di come l'infezione da *Salmonella* sia ampiamente diffusa nelle filiere suinicole italiane (EFSA, 2008; Merialdi, 2008).

Per quanto riguarda i sierotipi isolati, S. Derby, S. Rissen, e S. 4; [5], 12:i-, identificati nelle aziende oggetto di campionamento, sono tra i cinque isolati più frequenti nei suini italiani, in base a quanto emerso da un'indagine EFSA (2008). Nel corso di questo lavoro, S. Derby è stata isolata nel settore riproduttori, ed in particolare nelle scrofe in gestazione: questo dato non deve stupire: si tratta infatti del sierotipo prevalente nei riproduttori suini di tutta Europa (EFSA, 2009). Il sierotipo S. 4; [5], 12:i-, è stato invece riscontrato in due aziende, prima a livello di ingrasso e successivamente nel contenuto intestinale (allevamento 4), e nei linfonodi e nella carne fresca (allevamento 5), e tutti gli isolati si sono dimostrati appartenenti al medesimo pulso tipo in PFGE e al resistotipo ASSuT. Questo resistotipo, è stato segnalato negli ultimi dieci anni in Europa sia in casi di infezione da *Salmonella* spp. nell'uomo di origine alimentare, sia nei suini e nella carne suina (Hopkins, 2010) ed è considerato una variante di S. Typhimurium di particolare interesse da un punto di vista di sanità pubblica. Il pulsotipo evidenziato è inoltre simile al clone STMYXB079, in aumento recentemente tra le monofasiche (Dionisi, comunicazione personale).

Nonostante il rilievo di *Salmonella* in tutte le filiere campionate, i risultati ottenuti in termini di percentuali di positività sono sostanzialmente contenuti e non rispecchiano i livelli di prevalenza riscontrati in corso di indagini su larga scala condotte in Italia (DATI EFSA). Ad esempio, non sono state riscontrate carcasse positive per *Salmonella*, laddove il dato ufficiale europeo del 2008 (EFSA) riporta una media del 8,3%. Osservando poi i dati relativi all'isolamento di *Salmonella* nei linfonodi sono risultati positivi 3 linfonodi su 144, pari al 2% circa, percentuale molto lontana dal 16,5% rilevato dall'EFSA nel 2008 in Italia. Questi dati di prevalenza erano peraltro stati presi in considerazione per determinare la numerosità campionaria della presente indagine. Dal momento che i riscontri di positività si sono attestati su valori inferiori all'atteso, questo ha limitato le possibilità di effettuare valutazioni a posteriori sull'origine dei ceppi, basate sulla caratterizzazione sierologica o molecolare degli stessi.

Nonostante la presenza di *Salmonella* Rissen in uno dei mezzi di trasporto, non è stato possibile dimostrare casi di infezione durante il trasporto, o nelle stalle di sosta, come avvenuto in altri contesti (Magistrali, 2008). Questo rilievo può essere ricondotto ad alcune caratteristiche strutturali delle aziende soggette a campionamento: per questo lavoro sono state infatti selezionate aziende di dimensione limitata: in quattro allevamenti campionati venivano utilizzati camion aziendali per il trasporto, per i quali erano previste procedure di disinfezione. Negli stessi allevamenti il trasporto avveniva in tempi brevi, al di sotto delle 2 ore: questo potrebbe avere ridotto lo stress collegato e quindi la riattivazione di infezioni latenti. Anche le stalle di sosta hanno rivelato basse percentuali di contaminazione, legati probabilmente al limitato numero di animali macellati: infatti, solo in un caso *Salmonella* Rissen è stata individuata in un campione di questa origine. L'assenza di infezioni crociate

durante il trasporto e il periodo trascorso nelle stalle di sosta può rendere ragione del numero basso di linfonodi e contenuti intestinali riscontrati positivi, rispetto alla media nazionale rilevata dall'EFSA (2008). Questa considerazione appare avvalorata da un recente lavoro, dove si dimostra come isolamento di *Salmonella* nelle stalle di sosta sia in grado di aumentare di 13.5 volte e di 4 volte la probabilità di un riscontro positivo a livello di carcasse ed a livello di linfonodi rispettivamente (De Busser, 2011). D'altra parte, è stato più volte dimostrato come la presenza di contaminazioni e cross contaminazioni nelle ultime fasi della filiera, durante il trasporto, nelle stalle di sosta e al macello siano di particolare importanza nel determinare la contaminazione finale delle carcasse (Hurd, 2001; De Busser, 2011).

Le valutazioni in sistema semi-quantitativo, vedono livelli di escrezione fecale variabili da 1-10 ufc/g a 10^6 - 10^7 ufc/g; quest'ultimo valore è stato registrato in due scrofe in gestazione, in assenza di sintomatologia clinica indicativa di salmonellosi, e può essere giustificato con un'infezione recente (Baggesen, 1999). In generale, gli animali positivi hanno mostrato livelli di escrezione fecale tra 1 e 10^3 : questi valori sono compatibili con quanto descritto in letteratura (Hurd, 2001, Jensen, 2006; Baggesen, 1999). Infatti, nonostante siano disponibili pochi dati in merito alla entità delle escrezioni fecali di *Salmonella* in suini infettati naturalmente, è stato stimato un livello di circa 100 ufc/g, ad eccezione di casi di salmonellosi clinica o in prossimità del momento di infezione (EFSA, 2010), durante i quali tali valori tendono ad essere più elevati. I nostri risultati, con ridotti valori di contaminazione nei contenuti intestinali al macello, sembrerebbero confermare la scarsa incidenza di infezioni recenti nelle fasi finali della filiera.

CONCLUSIONI

I risultati hanno mostrato una bassa percentuale di infezione da *Salmonella* spp. nelle fasi terminali della filiera in suini provenienti da allevamenti di piccole-medie dimensioni. Alcuni fattori possono essere presi in considerazione per giustificare il dato ottenuto in queste realtà produttive, che potrebbero essere legati ad un numero contenuto di infezioni nelle fasi terminali della filiera, come l'impiego di mezzi di trasporto propri, l'invio a macelli a breve distanza dall'allevamento e di piccole dimensioni. Come sopra indicato, queste osservazioni necessitano di essere confermate da indagini mirate, che tengano conto di valori di prevalenza attesi inferiori a quelli riportati in bibliografia.

BIBLIOGRAFIA

Anonymous. EN ISO 6579:2002/A1. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. – Amendment 1: Annex D: Detection of *Salmonella* spp. in animal faeces and in environmental samples from the primary production stage (ISO 6579/2002/Amd 1:2007). July 2007

Baggesen D.L. Wingstrand A., Carstensen B., Nielsen B., Aerestrup F.M. (1999). Effects of the antimicrobial growth promoter tylosin on subclinical infection of pigs with *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. AJVR 60: 1201-1206.

CLSI (ex NCCLS). January 2007, M100-S17. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, seventeenth informational supplement.

CLSI (ex NCCLS), 2002. M31-A2. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard.

EFSA (2008): Report of the task force on zoonosis data collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in slaughter pigS. Part A. The EFSA Journal, 135: 1-111.

EFSA (2009): Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in holdings with breeding pigs, in the EU, 2008. Part A. *Salmonella* prevalence estimate. EFSA Journal 2009; 7(12).

EFSA Panel on Biological Hazards; Scientific Opinion on a Quantitative Microbiological Risk Assessment of *Salmonella* in slaughter and breeder pig. EFSA Journal 2010; 8(4):1547.

De Busser E.V., Maes D., Houf K., Dewulf J., Imberechts H., Bertrand S., De Zutter L. (2011) Detection and characterization of *Salmonella* in lairage, on pig carcasses and intestines in five slaughterhouses. International Journal of Food Microbiology.

Hopkins K.L., Kirchner m., Gueraa B., Granier S.A., Lucarelli C., Porrero M.C., jakubczack A., Threlfall E.J., Mevius D.J. (2010) Multiresistant *Salmonella enterica* serovar 4, (5), 12:i- in Europe: a new pandemic strain? Eurosurveillance 15 (22). Available online: <http://www.eurosurveillance.org>.

Hurd H.S., Gailey J.K., McKean J.D., Rostagno M.H. (2001) Rapid infection in market-weight swine following exposure to *Salmonella* Typhimurium- contaminated environment. AJVR 62: 1194-1197.

Magistrali C., Dionisi A.M., de Curtis P., Cucco L., Vischi O., Scuota S., Zicavo A., Pezzotti G. (2008) Contamination of *Salmonella* in a pig finishing herd, from the arrival of the animals to the slaughterhouse. Research in Veterinary Science, 85: 204-207.

Magistrali C., D'Avino N., Ciuti F., Cucco L., Maresca C., Paniccà M., Scoccia E., Tentellini M., Pezzotti G. (2009) Reproductive cycle, number of parities and faecal *Salmonella* spp. excretion in sows: a longitudinal study. Proceedings of 8th International Symposium on Epidemiology and Control of foodborne pathogens in pork: 75-78.

Magistrali C., de Curtis P., Paniccà M., Cucco L., Pezzotti G., Fogliani A. (2005). An epidemiological survey on the prevalence of *Salmonella* in swine in Central Italy. Proceedings of 6th International Symposium on Epidemiology and Control of foodborne pathogens in pork: 243-245.

Meriardi G., Barigazzi G., Bonilauri P., Tittarelli C., Bonci M., d'Incau M., Dottori M. (2008). Longitudinal study of *Salmonella* infection in Italian farrow to finish swine herds. Zoonoses Public Health 55: 222-226.

Popoff M.Y., Bockenmuhl J., Gheesling L.L. (2003) supplement 2001 (no 45) to the Kauffmann- White Scheme. Research in Microbiology 154, 173-174.

Schmidt P.L., O'Connor A.M., McKean J.D., Hurs H.S. (2004) The association between cleaning and disinfection of lairage pens and the prevalence of *Salmonella enterica* in swine at harvest. Journal of Food Protection 67: 1384-1388.

Wales A., Breslin M., Davies R. (2006). Semiquantitative assessment of the distribution of *Salmonella* in the environment of caged layer flocks. Journal of Applied microbiology 10: 309-318.