



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI AGRONOMIA, ANIMALI, ALIMENTI, RISORSE
NATURALI E AMBIENTE

DIPARTIMENTO DI BIOMEDICINA COMPARATA E ALIMENTAZIONE

Corso di Laurea *Triennale* in
Scienze e Tecnologie Animali

**Biosicurezza e presenza di *Salmonella* *Infantis* in
allevamenti intensivi di polli (*Gallus gallus*) e tacchini
(*Meleagris gallopavo*) da carne in Nord Italia**

Relatore: Prof.ssa ALESSANDRA PICCIRILLO

Correlatore: Dr.ssa ROBERTA FONTANA

Dr.ssa GIUDITTA TILLI

Laureanda: SILVIA ZECCAGNO

matricola N. 1220908

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

INDICE

ABSTRACT.....	1
1. PREMESSA.....	2
2. SALMONELLA.....	5
2.1 Caratteristiche microbiologiche.....	5
2.1.1 Caratteristiche biochimiche.....	5
2.1.2 Caratteristiche colturali.....	6
2.2 Tassonomia.....	7
2.2.1 Classificazione secondo Kauffmann-white.....	8
2.2.2 Classificazione secondo Le Minor.....	8
2.3 Variabilità antigenica e sierotipizzazione.....	9
2.4 Focus su <i>S. Infantis</i>	10
3. SALMONELLOSI.....	11
3.1 Recettività.....	11
3.1.1 Serbatoi animali.....	12
3.1.2 Vie di trasmissione.....	12
3.2 Infezione nel pollame.....	15
3.2.1 Manifestazioni cliniche e lesioni anatomo-patologiche.....	15
3.2.2 Fattori di rischio.....	21
3.3 Infezione nell'uomo.....	25
3.3.1 Manifestazioni cliniche.....	26
3.3.2 Vie di trasmissione.....	26
4. FILIERA AVICOLA ITALIANA.....	30
5. SORVEGLIANZA A LIVELLO EUROPEO.....	34
5.1 Cenni sulla legislazione Europea.....	36
5.2 Programmi di sorveglianza.....	38
5.3 Focus su <i>S. Infantis</i>	40
6. PROFILASSI E CONTROLLO NELLA FILIERA AVICOLA ITALIANA.....	43

6.1 Profilassi Sanitaria.....	43
6.2 Profilassi Vaccinale.....	45
6.3 Piani di Controllo.....	47
7. OBIETTIVI DELLO STUDIO.....	51
8. MATERIALI E METODI.....	52
8.1 Area di Studio.....	52
8.2 Raccolta dei dati.....	52
8.3 Analisi dei dati.....	54
9. RISULTATI E DISCUSSIONE.....	56
10. CONCLUSIONI.....	76
11. BIBLIOGRAFIA.....	78
12. ALLEGATI.....	85

ABSTRACT

Salmonella is a pathogen of clinical relevance for both human and animal health. Different serotypes are recognized according to the extent of the infection range. It is possible to recognize serotypes that benefit from a wide range of hosts (both human and animal) and other strictly species-specific. Those serotypes are found to be either ubiquitous because of their adaption (wide range of hosts) or recognizing only one host ("host-restricted") respectively.

The main route of transmission of *Salmonella* is oro-fecal, and the most frequent sources of contamination are direct or indirect contact with and between infected animals, contaminated environment, and consumption of contaminated food of plant and animal origin. The food vehicles most commonly implicated in human salmonellosis cases are primarily poultry meat, followed by pork and beef, as well as related by-products. In this perspective, *S. Infantis* is an emerging serotype not only nationally but throughout Europe, and among the target serotypes, it appears to be the most common in poultry meat. In order to avoid, or at least reduce, the incidence of salmonellosis in poultry, it's essential to ensure high standards of hygiene and sanitation on farms, and to do so, precise biosecurity guidelines must be implemented.

The aim of this study was to investigate the presence of *S. Infantis* in a sample of both broiler and turkey farms in northern Italy. Thus, to assess whether there might be a link between the presence of *S. Infantis* and the biosecurity measures implemented in the same farm sample, as well as whether their implementation could help preventing and monitoring *Salmonella* infections.

To answer the research question, the biosecurity checklists provided by the Ministry of Health covering the three-year period 2019-2021 were examined to assess the presence of the proper implementation of biosecurity requirements useful to prevent *Salmonella* occurrence in poultry farms.

CAPITOLO 1

PREMESSA

La *Salmonella* è un patogeno di importanza medica rilevante per la salute e il benessere sia dell'uomo che degli animali. L'incidenza della salmonellosi rappresenta un rilevante problema per la salute e la produttività animale a livello globale, oltre che di sanità pubblica, specie per i paesi industrializzati.

I batteri del genere *Salmonella* appartengono alla famiglia delle *Enterobacteriaceae*, e sono microrganismi bastoncellari, asporigeni, Gram-negativi, aerobi-anaerobi facoltativi, generalmente mobili. Secondo gli schemi di classificazione di Kauffmann-White e Le Minor, il genere *Salmonella* si suddivide in due specie: *Salmonella bongori* e *Salmonella enterica*, a sua volta suddivisa in sei sottospecie e comprendente oltre 2.600 sierotipi diversi. I diversi sierotipi si caratterizzano in base alla capacità di dare vita al contagio e in funzione al numero e tipo di ospiti che possono infettare. Con tale premessa, si possono riconoscere sierotipi che godono di una vasta gamma di ospiti, sia uomo che animali, e risultano ubiquitari (ad esempio, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis* etc.); altri sierotipi più specifici colpiscono invece un numero ristretto di ospiti, essendo adattati ad essi (ad esempio, *S. Dublin* nei bovini, *S. Choleraesuis* nei suini, etc.), anche se non è inusuale che possano infettare l'uomo e un numero limitato di altre specie animali; vi sono infine sierotipi strettamente specie-specifici che riconoscono un solo ospite d'infezione (ad esempio, *S. Typhi* e *Paratyphi* nell'uomo, *S. Gallinarum* nei polli, *S. Typhisuis* nei suini, etc.) (Le Minor, 1991; Stevens *et al.*, 2009). Le salmonellosi nell'uomo e negli animali possono essere inoltre classificate in due gruppi: febbre enterica o tifoide e salmonellosi non tifoide (Langridge *et al.*, 2009). La malattia può manifestarsi in diversi modi: febbre enterica, gastroenterite, infezione extraintestinale, batteriemia e se cronicizza, esita nello stato di portatore.

In relazione al sierotipo, tra tutte le specie e categorie animali che possono contrarre la *Salmonella*, un ruolo chiave è rivestito dalle specie avicole e la loro importanza dipende principalmente dall'elevata consistenza e diffusione su larga scala, che oltre alla velocità con la quale l'infezione si manifesta e propaga. I sierotipi di *Salmonella* più comunemente associati al pollame sono *Salmonella enterica* sottospecie *enterica* sierotipo Enteritidis, Typhimurium (compresa la variante monofasica), Infantis, Hadar, Heidelberg, Seftemberg, Mbandaka e Kentucky (Morningstar-Shaw *et al.*, 2012). Gli avicoli possono acquisire la *Salmonella* da fonti ambientali, vettori animali (roditori, insetti, contatto diretto tra soggetti infetti e/o non infetti per trasmissione orizzontale, per trasmissione discendente attraverso le uova), mangime, etc. Le infezioni non tifoidee non sembrano causare una sintomatologia marcata,

risultando generalmente asintomatiche; eventuali sintomi sono circoscritti a giovani (pulcini), mentre segni di malattia sono rari nei soggetti più adulti. Segni tipici di infezione da *Salmonella* nei pulcini includono stanchezza e sonnolenza, piume arruffate, brividi, affollamento vicino a fonti di calore, anoressia, emaciazione e patologie a carico del tratto gastrointestinale. Grazie alla frequente colonizzazione e all'elevato livello di escrezione nelle feci, sierotipi ubiquitari di *Salmonella* possono entrare nella catena alimentare e dare luogo ad episodi di salmonellosi nell'uomo: la *Salmonella* è infatti un patogeno che può essere trasmesso dagli animali all'uomo e tra i diversi serbatoi animali (animali selvatici, animali domestici destinati al consumo umano e non), i vettori principalmente implicati nel contagio umano sono proprio gli avicoli. Negli ultimi anni, le infezioni da *Salmonella* spp. hanno ricevuto una sempre più crescente attenzione su scala internazionale a causa del ruolo assunto nelle epidemie di origine alimentare nell'uomo, tanto da risultare la seconda zoonosi più comunemente segnalata nell'Unione Europea ("*One Health Zoonoses Report*", EFSA, 2020). Nell'uomo, il contagio avviene principalmente per via oro-fecale da fonti alimentari contaminate, o perché direttamente derivate da animali infetti o perché contaminate da soggetti infetti (persone o animali che non necessariamente presentano sintomi di malattia); seppur in minor misura, anche il contatto diretto con animali infetti può veicolare l'infezione da *Salmonella*. Secondo i dati rilevati dalla relazione "*One Health 2020*" sulle zoonosi dell'Unione Europea redatta dall'*European Food Safety Authority* (EFSA), negli ultimi anni si sta assistendo ad un aumento della presenza di *S. Infantis*: se *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e la sua variante monofasica rappresentano oltre il 70% dei sierotipi di *Salmonella* più comunemente dichiarati nell'uomo nell'Unione Europea, *S. Infantis* è il quarto sierotipo più frequentemente segnalato. Mentre il numero di isolati umani di *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* ha continuato a calare, *S. Infantis* ha dimostrato un considerevole aumento della frequenza, maggiormente riscontrata nei polli da carne, nei tacchini e nei suini, seguiti dai bovini, etc. (circa un 30% sul totale delle positività, a discapito di valori minori di altri sierotipi). Questa cospicua presenza di *S. Infantis*, l'ha reso uno dei sierotipi di *Salmonella* più frequentemente identificati non solo nell'Unione Europea, ma anche in altri Paesi come Australia, Nuova Zelanda, Argentina, Brasile, Canada, Giappone, etc. (Miller *et al.*, 2010).

A livello nazionale, per via dell'organizzazione della filiera avicola (integrazione verticale), la trasmissione della *Salmonella* risulta essere un fenomeno complesso e di difficile eradicazione, principalmente a causa dell'elevata persistenza ambientale. Questa situazione è ben rappresentata da *S. Infantis*, sierotipo emergente riscontrato in tutte le fasi del processo produttivo della filiera avicola ("*Salmonella Infantis in allevamenti di polli da carne: procedure di pulizia e disinfezione, una questione da esplorare*", IZSVE, 2021). In questo contesto, la biosicurezza è uno degli strumenti più

potenti per mitigare il rischio di introduzione e diffusione della *Salmonella* tra e all'interno degli allevamenti. In Italia, le misure di biosicurezza contribuiscono al mantenimento della salute e del benessere degli animali e alla protezione della salute dell'uomo, impedendo l'ingresso e la persistenza in allevamento di agenti zoonotici rilevanti per la salute pubblica. In quest'ottica, gli Stati membri dell'Unione Europea si impegnano nell'applicazione e nel far rispettare le Normative stabilite dall'Unione Europea in materia di biosicurezza, attraverso l'esecuzione di periodici controlli ufficiali basati su una valutazione dei rischi, i cui esiti vengono poi condivisi grazie all'esistenza di più reti di sorveglianza della *Salmonella* presenti a livello comunitario. In Italia, tali controlli vengono eseguiti dal personale dei Servizi Veterinari delle diverse Az. ULSS presenti sul territorio nazionale, e vengono realizzati in specifiche fasi del ciclo produttivo degli animali, sia durante le attività ordinarie che in situazioni emergenziali, in riferimento alle linee guida riportate nei Programmi Nazionali di Controllo della *Salmonella* (PNCS). Lo scopo dei PNCS è quello di garantire che vengano adottate misure adeguate ed efficaci di individuazione e controllo delle salmonelle responsabili di zoonosi. Oltre a questi, le misure di biosicurezza nell'ambito della prevenzione includono l'applicazione di idonee pratiche in materia d'igiene e procedure basate su principi dell'analisi del rischio e dei punti critici di controllo (pratiche HACCP), la compilazione dei piani di controllo aziendali della *Salmonella*, i protocolli di pulizia e disinfezione, etc. L'esito dei protocolli di prevenzione per il controllo sulla sicurezza animale e tutela della salute pubblica ha avuto un riscontro positivo in quest'ultimo decennio, registrando una tendenza in calo di *Salmonella* negli allevamenti intensivi di polli e tacchini da carne dell'Unione Europea, chiaro segnale dell'efficacia dei protocolli di prevenzione nella lotta contro la diffusione della *Salmonella* (EFSA). Nell'ottica di ottenere una sempre maggiore riduzione degli episodi di salmonellosi negli animali e nell'uomo, si rendono necessari continui controlli.

CAPITOLO 2

SALMONELLA

2.1 Caratteristiche Microbiologiche

Il genere *Salmonella*, appartenente alla famiglia delle *Enterobacteriaceae*, include microrganismi bastoncellari asporigeni Gram-negativi, aerobi-anaerobi facoltativi, catalasi-positivi, ossidasi-negativi, prevalentemente lattosio e indolo negativi (Poli *et al.*, 2005). Questi organismi fermentano il glucosio producendo gas, degradano le proteine solforate con produzione di idrogeno solforato (H₂S), riducono i nitrati e non producono citocromo-ossidasi (Zavanella, 2001; Graziani *et al.*, 2005). Inoltre, sono in grado di crescere su comuni terreni anche in presenza di sali biliari, e generalmente sono mobili grazie alla presenza di flagelli peritrichi, ad esclusione di *Salmonella enterica* sierotipo Gallinarum e *Salmonella enterica* sierotipo Pullorum, che sono invece immobili (D'Aoust and Maurer, 2007).

2.1.1 Caratteristiche biochimiche

Il tipico profilo biochimico che consente di differenziare il genere *Salmonella* dagli altri generi della stessa famiglia è riportato nella Tabella I, ma è da tenere presente che esistono numerose varianti in base alla specie e al ceppo presi in esame.

Tabella I. Profilo biochimico del genere *Salmonella* [fonti: Zavanella, 2001; Graziani *et al.*, 2005].

Reazione	Risultato
<i>Produzione di indolo</i>	-
<i>Produzione di H₂S</i>	+
<i>B-galattosidasi</i>	-
<i>Voges-Proskauer</i>	-
<i>Idrolisi dell'urea</i>	-
<i>Lisina decarbossilasi</i>	+
<i>Riduzione dei nitrati</i>	+
<i>Presenza dell'enzima gelatinasi</i>	-
<i>Fermentazione del glucosio con produzione di gas</i>	+
<i>Fermentazione del saccarosio</i>	-
<i>Fermentazione del maltosio</i>	+
<i>Fermentazione del lattosio</i>	-
<i>Fermentazione di mannitolo</i>	+
<i>Fermentazione del sorbitolo</i>	+
<i>Fermentazione di adonite</i>	-

<i>Fermentazione di inosite</i>	-
<i>Fermentazione di salicina</i>	-
<i>Sviluppo con NH₄ citrato</i>	+
<i>Sviluppo con KCN</i>	-

2.1.2 Caratteristiche colturali

La temperatura ottimale per sostenere la moltiplicazione delle salmonelle è +37°C, ma si osserva una certa crescita in un range dai +5°C ai +45°C. Le salmonelle possono crescere ad un pH di circa 4,0-9,0, con un optimum intorno a 7,0, anche se i flagelli e le fimbrie potrebbero non essere espressi in condizioni di pH estreme (Graziani *et al.*, 2005; D'Aoust and Maurer, 2007).

I ceppi capostipiti di *Salmonella* spp. – *Salmonella enterica* e *Salmonella bongori* – si caratterizzano per un facile sviluppo sui comuni terreni sintetici, sia liquidi che solidi.

I terreni di coltura più usati per l'isolamento di *Salmonella* da un campione clinico e le caratteristiche della colonia sono riportati nella Tabella II.

Tabella II. Terreni di coltura e caratteristiche della colonia da campioni più comunemente utilizzati per l'isolamento di *Salmonella*.

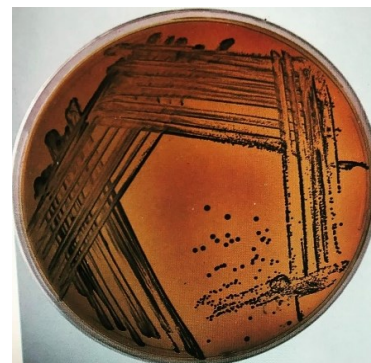
Terreno di coltura	Caratteristiche della colonia da campioni per l'isolamento di <i>Salmonella</i>
<i>Agar sangue</i>	colonie bianche, lisce e non emolitiche, con dimensioni leggermente maggiori rispetto ai comuni terreni solidi
<i>Bismuth Sulphite Agar (BSA)</i>	colonie nere
<i>Brilliant Green Agar (BGA)</i>	colonie da rosa a rosse, con arrossamento del terreno di coltura; lattosio e saccarosio non fermentanti
<i>Deoxycholate Citrate Agar (DCA)</i>	colonie pallide e nere al centro data la produzione di H ₂ S; lattosio non fermentanti
<i>Hektoen Enteric Agar (HE)</i>	colonie verde-bluastro con centro nero data la produzione di H ₂ S
<i>Kligler Iron Agar (KIA)</i>	colonie con "slant" alcalino (rosso) e fondo acido (giallo), mascherato dalla formazione di solfuro di ferro nero (reazione H ₂ S positiva), oltre allo sviluppo di bolle di gas dalla fermentazione del glucosio
<i>Mannitol Lysine Crystal violet Brilliant green agar (MLCB)</i>	grandi colonie bluastro-violacee che possono avere il centro nero o essere quasi completamente nere, in base alla quantità di H ₂ S prodotta
<i>MacConkey Agar (MCK)</i>	colonie pallide; lattosio non fermentati
<i>Triple Sugar Iron Agar (TSI)</i>	colonie con "slant" alcalino (rosso) e fondo acido (giallo), mascherato dalla formazione di solfuro di ferro nero (reazione H ₂ S positiva), oltre allo sviluppo di bolle di gas dalla fermentazione del glucosio
<i>Xylose Lysin Deoxycholate Agar (XLD)</i>	colonie rosa e nere al centro data la produzione di H ₂ S; lisina, saccarosio e lattosio non fermentanti

Di seguito, alcuni esempi di colonie da campioni per l'isolamento di *Salmonella* su diversi tipi di terreno di coltura (Figure I, II, III).

Figura I. *Salmonella* Enteritidis su *MacConkey Agar* (MCK) [foto: An Atlas of Medical Microbiology, edito Slater, 1986].

Figura II. *Salmonella* Typhi su *Xylose Lysin Deoxycholate Agar* (XLD) [foto: Journal of Medical Ultrasound, 2016].

Figura III. *Salmonella* Enteritidis su *Xylose Lysin Deoxycholate Agar* (XLD) [foto: An Atlas of Medical Microbiology, edito Slater, 1986].



2.2 Tassonomia

Nel 1884 il medico tedesco G.T.A. Gaffky isolò per la prima volta l'agente eziologico del tifo sospettando che appartenesse ad un gruppo di batteri in grado di causare forme enteriche nell'uomo e negli animali (Grimont *et al.*, 2000). Tale ipotesi venne però confermata dal patologo veterinario statunitense D.E. Salmon, che isolò uno stipo dall'intestino di suino e ne attribuì il nome di *Bacillus choleraesuis*, al tempo ritenuto l'agente causale del colera suino. Nel 1900, il batteriologo francese J.L.M. Lignières propose di cambiare il nome da *Bacillus* a *Salmonella*, in onore di Salmon (Ryan *et al.*, 2017).

L'evoluzione della nomenclatura, che ha caratterizzato tutto il XX secolo, vede una prima classificazione del genere *Salmonella* basata su criteri clinici, dove i nomi di specie dei diversi "tipi" di *Salmonella* – poi individuati su base biochimica – facevano riferimento alla patologia di cui si presumeva fossero la causa specifica negli ospiti colpiti (ad esempio, *S. Typhimurium*, *S. Bovismorbificans*, *S. Abortusequi*, etc.) (Ryan *et al.*, 2017). Da allora, si sono susseguite numerose revisioni e modifiche del sistema di classificazione, tanto che al giorno d'oggi sono note due principali classificazioni: la classificazione secondo Kauffmann-White e la classificazione secondo Le Minor.

2.2.1 Classificazione secondo Kauffmann-White

Fritz Kauffmann nel 1931, rimaneggiando un già noto schema elaborato da Schultze, White e Scott sullo studio degli antigeni somatici (O) e flagellari (H), presentò uno schema di classificazione delle salmonelle ampliato. Tale schema è noto come “*Schema di Kauffmann-White*”, e si basa sul fatto che:

- il genere è rappresentato da batteri bastoncellari Gram-negativi, aerobi, non sporigeni, generalmente mobili, che riducono nitrati ma non l'indolo, non idrolizzano urea e adonite, fermentano glucosio ma non il saccarosio e, con alcune eccezioni, non fermentano lattosio;
- il genere *Salmonella*, suddiviso in 4 sottogeneri (I, II, III, IV) (Tabella III), vede la classificazione in sierogruppi e sierotipi in base alla specificità degli antigeni somatici O e ciliari H di fase 1 e di fase 2;
- i ceppi con medesima formula antigenica, anche se con differenze biochimiche, appartengono allo stesso sierotipo.

Tabella III. Test biochimici per la suddivisione del genere *Salmonella* in quattro sottogeneri [fonti: Kauffmann, 1966; D'Aoust and Maurer, 2007].

Test	I	II	III	IV
Fermentazione della dulcitate	+	+	-	-
Fermentazione del lattosio	-	-	+	-
Fermentazione della salicina	-	-	-	+
Fermentazione del malonato	-	+	+	-
Crescita in terreno KCN	-	-	-	+

2.2.2 Classificazione secondo Le Minor

Secondo gli studi del 1982 condotti da Le Minor e Popoff, tutti i sierotipi – precedentemente inclusi nei quattro *subgenera* di Kauffman – appartengono ad un'unica specie, denominata *Salmonella enterica* (Le Minor and Popoff, 1987). La specie *enterica* è a sua volta suddivisa in sei sottospecie: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *indica*.

I sierotipi di *S. enterica* subsp. *enterica* vengono identificati con un nome proprio, tipicamente correlato al luogo d'origine dov'era stato segnalato il primo isolamento (ad esempio, *S. Dublin*, *S. Muenchen*, *S. London*, etc.), mentre i sierotipi appartenenti ad altre sottospecie vengono designati dalle loro formule antigeniche (Le Minor and Popoff, 1987).

L'attuale classificazione deriva da quelle di Kauffmann-White e di Le Minor: basata su studi genetici e prove biochimiche, permette di riconoscere all'interno del genere *Salmonella* due specie, ovvero *Salmonella enterica* (classificabile in 6 sottospecie e oltre 2.600 sierotipi) e *Salmonella bongori* (con 22

sierotipi) (Reeves *et al.*, 1989). Lo schema dell'attuale classificazione delle salmonelle viene riportato nella Tabella IV.

Nel 2004 è stata identificata una terza specie, *Salmonella subterranea*, che non sembrerebbe rispettare i criteri di appartenenza al genere, motivo per cui non viene considerata (Grimont and Weill, 2007).

Tabella IV. Attuale classificazione delle salmonelle [fonte: Grimont and Weill, 2007].

Genere <i>Salmonella</i>	Sottospecie	Corrispondenza con lo schema di Kauffmann-White (numero sottospecie)	N sierotipi	Habitat naturale	Esempi di sierotipi
Specie <i>S. enterica</i>					
	subsp. <i>enterica</i>	I	1586	Vertebrati a sangue caldo (uomo incluso)	Typhi, Typhimurium, Enteritidis
	subsp. <i>salamae</i>	II	522	Vertebrati a sangue e ambiente freddo	9,46;z:z39
	subsp. <i>arizonae</i>	IIIa	102		43:z29:-
	subsp. <i>diarizonae</i>	IIIb	308		6,7:l,v:1,5,7
	subsp. <i>houtenae</i>	IV	76		21:m,t:-
	subsp. <i>indica</i>	VI	13		59:z36:-
Specie <i>S. bongori</i>		V	22		

L'attuale classificazione è soggetta ad aggiornamenti annuali curati dal *WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella* dell'Organizzazione Mondiale della Sanità presso l'Istituto Pasteur di Parigi con cui collaborano vari laboratori di riferimento internazionali (Ryan *et al.*, 2017).

2.3 Variabilità antigenica e sierotipizzazione

Le cellule batteriche della *Salmonella* possiedono numerosi antigeni; i più conosciuti sono gli antigeni somatici (O), gli antigeni ciliari (H) e l'antigene che conferisce virulenza (Vi) (D'Aoust and Maurer, 2007; Grimont and Weill, 2007).

– Antigeni O (somatici)

Gli antigeni O sono antigeni di natura polisaccaridica, combinati con un lipide a formare un complesso lipopolisaccaridico; sono termoresistenti, resistendo anche all'alcool, al fenolo e all'acetone. Sono presenti sulla membrana esterna della cellula batterica, associati a molecole di lipopolisaccaride (LPS) e sono formati da due parti: la parte più interna comune a tutti gli enterobatteri, composta da cinque carboidrati, e la parte più esterna, formata da catene saccaridiche dove ognuna contiene una sequenza di

oligosaccaridi con posizionamento variabile. Le salmonelle con analogie nella struttura dell'antigene O vengono riunite in sierogruppi (A, B, C). Attualmente si conoscono 65 diversi antigeni O.

– *Antigeni H* (flagellari o ciliari)

Gli antigeni H sono antigeni di natura proteica presenti nelle specie mobili di *Salmonella*; denaturati alla temperatura di 100°C sono termolabili, sono sensibili all'alcool ma non al formolo. Gli isolati possono presentare una o due specificità ciliari (sierotipi monofasici o difasici), note come fase 1 e fase 2, che possono presentarsi contemporaneamente durante le prove di agglutinazione; spesso però, con salmonelle bifasiche, si sviluppa solo una delle due fasi e per completare la tipizzazione è necessario indurre l'inversione di fase, in modo da far esprimere al germe anche la fase latente. Solo un numero di specie limitato possiede tre fasi sierologiche H e attualmente si conoscono 35 diversi antigeni H. Sporadicamente le salmonelle possono perdere la struttura antigenica H, divenendo immobili.

– *Antigene Vi*

L'antigene Vi delle salmonelle corrisponde agli antigeni K (capsulari) di natura polisaccaridica degli altri enterobatteri. È un antigene che dà virulenza e non è comune a tutte le salmonelle, motivo per cui quelle che presentano questo antigene risultano più virulente (ad esempio, *S. Typhi*, *S. Paratyphi C*, etc.). Questo antigene riesce a mascherare gli antigeni O, rendendoli inagglutinabili dai sieri somatici.

2.4 Focus su *S. Infantis*

A dimostrazione della continua evoluzione dei ceppi di *Salmonella*, un sierotipo emergente sta velocemente diffondendosi a livello globale: *S. Infantis*, uno degli oltre 2.600 sierotipi di *S. enterica* sottospecie *enterica*. *S. Infantis* condivide le caratteristiche di base comuni a tutte le salmonelle (si compone di microrganismi bastoncellari asporigeni Gram-negativi, aerobi-anaerobi facoltativi, mobili, etc.). La comparsa di *S. Infantis* è stata facilitata dall'acquisizione laterale di un nuovo megaplasmide resistente alla virulenza, denominato "pESI" (plasmide di emergenza *S. Infantis*) (Alba *et al.*, 2020). Il pESI contribuisce alla resistenza multifarmaco e svolge un ruolo chiave nell'evoluzione e nell'epidemiologia del sierotipo emergente. Sono state identificate regioni centrali variabili nel pESI: la variabilità genetica e fenotipica dei diversi ceppi dell'emergente *S. Infantis*, sarebbero modellati da una serie mutevole di profagi cromosomici e dall'integrazione di diversi elementi genetici mobili in una porzione di pESI conservata (Alba *et al.*, 2020). A dimostrazione della diffusione a livello globale di *S. Infantis*, è stata riscontrata la presenza di plasmidi simili geneticamente correlati a pESI in diversi ceppi di *S. Infantis* in Spagna, Italia, Svizzera, Ungheria, Russia, Giappone e Stati Uniti d'America.

CAPITOLO 3

SALMONELLOSI

Il termine «salmonellosi» fa riferimento alle affezioni a carico dai batteri appartenenti al genere *Salmonella* che si manifestano principalmente con infezioni enteriche, nel caso di patologie di origine alimentare, o con febbre tifoide (e paratifoide), nel caso in cui la malattia assuma caratteristiche sistemiche, fenomeno quest'ultimo ormai raro nei Paesi occidentali (D'Aoust and Maurer, 2007).

3.1 Recettività

Da un punto di vista epidemiologico, nel contagio da *Salmonella* si distinguono diversi sierotipi in base all'ampiezza del raggio d'infezione:

- salmonelle adattate all'ospite: sono strettamente specie-specifiche poiché riconoscono una sola specie ospite d'infezione, tanto che hanno assunto l'indicativo di “*host-restricted*”. Di questo gruppo fanno parte *S. Gallinarum* per il pollame, *S. Dublin* per i bovini, *S. Abortusovis* per le pecore, *S. Typhisuis* per i suini, *S. Typhi* e *S. Paratyphi* per l'uomo. Sono generalmente causa di malattie a sintomatologia conclamata e setticemie spesso gravi;
- salmonelle non adattate all'ospite: i sierotipi godono di una vasta gamma di ospiti e risultano ubiquitari poiché adattati ad essi, come *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*. E' interessante notare come alcuni sierotipi, anche colpendo specifici ospiti (*S. Dublin* nei bovini, *S. Cholerasisuis* nei suini, *S. Hadar* nei volatili, etc.), riescano comunque ad infettare un numero limitato di altre specie. Causano forme morbose di gravità variabile in base al sierotipo, alla dose infettante, alle modalità di infezione e alle caratteristiche intrinseche all'ospite.

In base al sierotipo coinvolto e alla sintomatologia, le salmonellosi vengono classificate in due gruppi:

- salmonellosi da febbre enterica, anche note come “salmonellosi tifoide”, provocate da *S. Typhi* e *S. Paratyphi*, che vedono come principale ospite d'infezione l'uomo;
- salmonellosi non tifoidee, provocate da altri ceppi di *Salmonella enterica* sottospecie *enterica*, che colpiscono sia l'uomo che gli animali.

3.1.1 Serbatoi animali

Nel ciclo epidemiologico della *Salmonella*, gli animali fungono da principali serbatoi. Le salmonellosi interessano sia gli animali a sangue caldo che a sangue freddo e sono spesso asintomatiche, anche se talvolta possono indurre malattia, principalmente a carico dell'apparato digerente. Alcuni sierotipi possono dare vita a forme setticemiche o localizzarsi in vari organi, ma è da considerare che i diversi sierotipi e le manifestazioni cliniche ad essi associati variano al variare della specie animale infettata. Tra i serbatoi animali principalmente riconosciuti vi sono gli animali domestici allevati in maniera intensiva (bovini, ovi-caprini, suini, equini) (Morningstars-Shaw *et al.*, 2012), gli animali d'affezione (cani e gatti) (Borland, 1975) e gli animali esotici (rettili, anfibi, psittaciformi) (Caldwell and Reyrson, 1939). Una menzione a parte può essere fatta per gli animali selvatici, in quanto considerati una tra le principali cause dell'introduzione dell'infezione da *Salmonella* negli allevamenti, e tra quelli maggiormente imputati nella sua trasmissione vi sarebbero i roditori e le colonie feline (alte densità di questi animali nei pressi di un allevamento – specie se con libero accesso ai depositi di mangime – sono associati ad un aumento del rischio della trasmissione della *Salmonella*). Analogamente, rivestono lo stesso ruolo gli uccelli selvatici come gli storni, i merli, i passeri, i piccioni, etc., dove i portatori asintomatici sono molto comuni e mantengono l'infezione in uno stormo attraverso lo spargimento intermittente di *Salmonella* nelle feci (Meeburg *et al.*, 2006; Lapuz *et al.*, 2008). Non sono da sottovalutare nemmeno le carcasse animali in quanto, oltre ad essere fonti primarie di *Salmonella*, possono veicolare la presenza di ditteri in diverse fasi di accrescimento: dalle uova agli stadi larvali al pupario, fino a concludere il ciclo di sviluppo coi soggetti adulti infetti, riconosciuti come possibile fonte di infezione. Altri insetti e invertebrati più comunemente segnalati sono i coleotteri, gli scarafaggi e le blatte, gli aracnidi e gli artropodi (Davies and Breslin, 2003).

3.1.2 Vie di trasmissione

La principale via di trasmissione della *Salmonella* è quella oro-fecale e le più frequenti fonti di contaminazione sono gli animali e i loro prodotti derivati, gli alimenti (*feed* e *food*) e l'ambiente.

- **Animali**

Gli animali sono importanti ospiti serbatoio – o «*reservoir*» - della malattia, poiché i microrganismi responsabili della *Salmonella* possono essere trovati nel tratto intestinale delle specie animali domestiche e selvatiche (Allerberger *et al.*, 2002). In quanto vettori biologici, introducono, diffondono e amplificano le salmonelle nei vari gruppi, specie con la presenza di portatori asintomatici. La malattia si trasmette generalmente per via oro-fecale attraverso il contatto diretto o indiretto, fonti alimentari,

acqua e ambienti contaminati (Gast and Holt, 1998; Berghaus *et al.*, 2013). Non sono insoliti, però, casi di trasmissione verticale di *Salmonella*, fenomeno che avviene in utero (mammiferi) o *in ovo* (uccelli, rettili, pesci, etc.). Nelle specie avicole, la trasmissione verticale vede il passaggio della *Salmonella* dai riproduttori infetti alla progenie attraverso le uova contaminate per via interna o esterna. Nella contaminazione delle uova con feci contaminate, i batteri patogeni penetrano nei pori del guscio prima che sulla sua superficie si crei la barriera cuticolare proteica; una volta attraversate le membrane interne, i batteri della *Salmonella* possono essere trasmessi agli embrioni in via di sviluppo (contaminazione transovarica) o ai pulcini durante la schiusa, a seguito di contaminazione fecale a livello della cloaca nella fase di ovodeposizione (Forsythe *et al.*, 1967; Williams *et al.*, 1968). Nell'ultimo caso, le salmonelle penetrano nell'uovo attraverso i pori del guscio o a seguito di sue microlesioni esterne; la penetrazione è inoltre facilitata dalla presenza di umidità sulla superficie, che ne modifica la tensione superficiale. A causa dei gusci contaminati e dei pulcini infetti, la trasmissione di *Salmonella* si verifica più spesso negli incubatoi rispetto alle successive fasi di produzione; ciò li rende una potenziale fonte di trasmissione di *Salmonella* agli allevamenti (Löfström *et al.*, 2015).

La trasmissione orizzontale della *Salmonella*, invece, avviene sia all'interno che tra i diversi gruppi (Johnson *et al.*, 1992) e può essere suddivisa in:

- trasmissione orizzontale diretta: si verifica quando un ospite recettivo si infetta per contatto fisico con un ospite infetto o coi suoi escreti, la cui presenza a livello ambientale rende più vulnerabili i soggetti sani all'acquisizione di *Salmonella* a seguito dell'ingestione di frammenti di lettiera, acqua o mangime contaminati;
- trasmissione orizzontale indiretta: coinvolge un veicolo intermedio – animato o inanimato – che trasmette l'agente. I vettori animati appartengono ad una specie diversa dall'ospite primario e i più comuni sono animali selvatici (gatti, uccelli, ratti, artropodi, etc.) che contaminano le aree limitrofe agli allevamenti o gli allevamenti stessi; i vettori inanimati, invece, sono noti come «fomiti» ed includono mosche, polvere, attrezzature da lavoro sporche, etc.

- **Alimenti destinati al consumo animale (*feed*)**

Gli animali possono contrarre la salmonellosi anche attraverso il consumo di mangimi contaminati, vista la capacità della *Salmonella* di introdursi in più momenti durante la loro produzione. A tal proposito, i mangimifici manifestano un alto rischio di contaminazione e diffusione della *Salmonella* in quanto zona d'interesse per uccelli e roditori (data la fuoriuscita di polvere e mangime nell'ambiente).

Eventuali trattamenti fisici e/o chimici cui vengono sottoposti i mangimi possono incidere nel determinare o meno la presenza di *Salmonella*; tra questi, la pellettizzazione – secondo una ricerca condotta da Jones *et al.* nel 1991 – vede un tasso di riduzione dell'82% della *Salmonella* in mangimi precedentemente contaminati. Un altro trattamento che si sarebbe dimostrato efficace nell'eliminazione delle salmonelle, vede l'applicazione di un rialzo termico fino a +85°C (Jones and Richardson, 2004). Tuttavia, questi due trattamenti destano delle perplessità sulla loro efficacia a lungo termine, poiché facilmente soggetti a potenziale contaminazione incrociata e ricontaminazione (Whyte *et al.*, 2003).

- **Ambiente**

Sebbene gli animali e gli alimenti di origine animale rappresentino gli ospiti principali delle salmonelle, queste sono riscontrabili anche nell'ambiente (acque e suolo) contaminato da elevati gradi di fecalizzazione, sia di origine umana che animale (D'Aoust and Maurer, 2007).

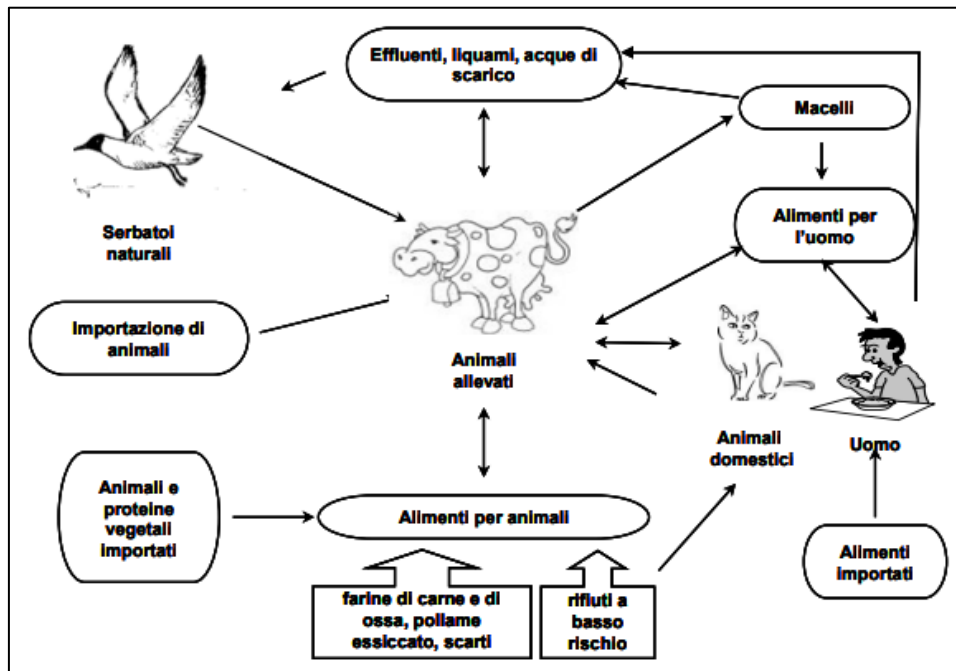
I batteri del genere *Salmonella* sono comuni nelle acque reflue e possono essere rilasciati in fiumi, laghi, torrenti o acque costiere, rappresentando una fonte di contaminazione del suolo e dei vegetali. L'utilizzo di acque reflue per l'irrigazione rappresenta una fonte diretta di contaminazione, favorita dalla presenza di vegetali con denso fogliame, i quali proteggerebbero i microrganismi dall'esposizione a fattori ambientali (radiazioni solari, temperature elevate, etc.) (Melloul *et al.*, 2001). Un'altra via di contaminazione ambientale che coinvolge sia il suolo che le acque è il pascolo animale: gli animali infetti contaminano direttamente il suolo che, col dilavamento delle piogge, contribuisce al rilascio e al trasporto di microrganismi enterici nelle acque (Baudart *et al.*, 2000).

Relativamente alla contaminazione in allevamento, un primo ingresso dell'agente patogeno può essere veicolato dalla somministrazione di mangime contaminato o mediante pratiche d'allevamento scorrette e/o con materiali, macchinari e strumenti contaminati. Secondariamente, gli animali infetti contaminano la lettiera con le feci, importante mezzo di trasmissione (Long *et al.* 1980).

Nella catena di propagazione della *Salmonella*, il macello appare come uno dei punti focali per le tossinfezioni alimentari. In sede di macellazione, i microrganismi possono essere trasmessi alle carcasse presenti a seguito di contaminazione crociata. I patogeni rinvenuti nelle carcasse animali possono provenire dagli stessi animali, da altri individui infetti o dall'ambiente (D'Aoust and Maurer, 2007). La *Salmonella* può contaminare l'ambiente in modo persistente come "flora domestica" o in modo transitorio dalla contaminazione da parte di animali infetti: i microrganismi vengono dispersi nell'ambiente dallo spargimento del contenuto intestinale e fecale degli animali portatori a seguito delle operazioni di eviscerazione e lavaggio delle carcasse (Smid *et al.*, 2014). Inoltre, le fasi che precedono l'arrivo al macello incidono fortemente sulla trasmissione della *Salmonella*.

Una schematizzazione del ciclo di trasmissione della *Salmonella* viene riportata in Figura IV.

Figura IV. Ciclo di trasmissione della *Salmonella* [fonte: Istituto Superiore di Sanità].



3.2 Infezione nel pollame

Tra tutte le specie e categorie animali, un ruolo chiave nell'epidemiologia delle infezioni da *Salmonella* è rivestito dalle specie avicole. La loro importanza dipende principalmente dall'elevata consistenza e diffusione su larga scala, e alla velocità con la quale l'infezione si manifesta e propaga.

3.2.1 Manifestazioni cliniche e lesioni anatomico-patologiche

La varietà delle manifestazioni cliniche associate all'infezione da *Salmonella* e la variabilità nella gravità della patologia, sono determinate dal sierotipo coinvolto, dalla sua virulenza e dalla dose infettante, ma incidono anche lo stato immunitario dei soggetti e altri fattori ambientali ed individuali. In base alla variabilità dei ceppi e sierotipi della *Salmonella* e alle relative caratteristiche, si identificano alcune malattie che colpiscono il pollame, come le infezioni paratifoidi (causate da sierotipi mobili di *Salmonella*), la Pullurosi (causata da *S. Pullorum*), la Tifosi aviare (causata da *S. Gallinarum*) e l'Arizonosi (causata da *S. arizonae*). Ciò che accomuna queste patologie è che all'inizio i batteri invadono il rivestimento epiteliale dell'intestino, a cui fa seguito spargimento fecale. Raggiunti i villi dell'ileo e del colon, la *Salmonella* si moltiplica, infettando le cellule e raggiungendo la lamina propria dove continua a replicare. Passando nel circolo sanguigno, si verifica un'estesa batteriemia che colpisce più organi con manifestazioni cliniche associate e, in quadri clinici gravi, mortalità elevata.

- ***Infezione paratifoide o paratifosi***

Le infezioni di specie avicole con sierotipi mobili e non ospite-specifici di *Salmonella* sono identificate come «*infezioni paratifoide (PT)*» e in genere colpiscono principalmente i soggetti più giovani con pochi segni clinici visibili, come emaciazione, crescita stentata e diarrea acquosa (spesso con conseguente disidratazione). Tale patologia genera gravi perdite economiche a causa della sua natura cronica, della difficoltà di eradicazione e dell'alterazione degli indici di fertilità, schiusa e produzione di uova, oltre a provocare elevate perdite nel primo mese dopo la schiusa. Generalmente, si può avere malattia e morte o sviluppare resistenza per l'acquisizione di una microflora competitiva. L'infezione paratifoide nei pulcini si manifesta con sintomi tipici come sonnolenza, ali cadenti e penne arruffate, cecità, zoppia, anoressia e dimagrimento, avvicinamento alle fonti di calore, diarrea acquosa e profusa con conseguente disidratazione. Nei casi gravi possono insorgere focolai di infezione che possono portare ad un rapido sviluppo di setticemia con poche lesioni apparenti, esitando in tassi di mortalità del 20% ma che possono raggiungere valori oltre l'80% (Shahata *et al.*, 1984). Negli adulti, invece, grazie all'invasione dell'epitelio intestinale, la *Salmonella* si diffonde per via sistemica ad altri organi (fegato, milza, ovaio e ovidutto), anche se in tutto ciò gli animali possono apparire clinicamente normali, con episodi diarroici sporadici. Le lesioni si sviluppano solo con decorso prolungato della malattia.

All'esame necroscopico, gli animali mostrano grave enterite catarrale ed emorragica con focolai necrotici, accompagnata da un aumento di volume e congestione, così come per la milza e i reni. Si può osservare una marcata infiammazione con ulcere necrotiche a livello della mucosa del piccolo intestino e del muscolo cardiaco. Altre lesioni osservabili includono l'accumulo di essudato caseoso sulle superfici del cuore, del fegato, dei polmoni, all'interno dell'occhio e alle articolazioni di ali o gambe, ritenzione del sacco vitellino con presenza di liquido giallo e materiale coagulato (di solito appena dopo la schiusa) e onfalite (Gast and Benson, 1996). Di seguito, vengono riportate alcune delle lesioni tipiche da infezione paratifoide riscontrate all'esame necroscopico (Figure V, VI, VII, VIII).

Figura V. Necrosi della mucosa ed emorragia (enterite fibrinonecrotica) nell'intestino tenue di un pulcino di razza livornese da infezione da *Salmonella* paratifoide [foto: 2020 Diseases of Poultry, 14th Edition - Salmonella].



Figura VI. Essudato ciecale caseoso (tiflite fibrinonecrotica) da infezione da *Salmonella* paratifoide in un fagiano di 10 giorni [foto: 2020 Diseases of Poultry, 14th Edition - Salmonella].



Figura VII. Fegato ingrossato con foci di necrosi pallidi, puntiformi e coalescenti da infezione da *Salmonella* paratifoide in un piccione [foto: 2020 Diseases of Poultry, 14th Edition - Salmonella].

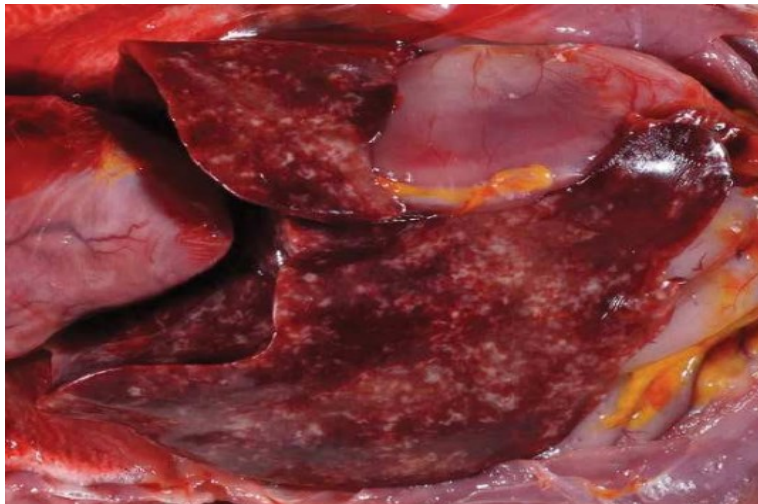


Figura VIII. Articolazione del garretto deformata da infezione da *Salmonella* paratifoidea in tacchini di una settimana. Nella foto: zampa normale (in basso), zampa infetta (in alto) con articolazione del garretto gonfia che causa artrite [foto: Dr. Porter R., University of Pennsylvania, MSD Veterinary Manual, 2019].



- **Pullurosi**

La Pullurosi – anche nota come «*pullorum disease (PD)*» – è stata descritta per la prima volta come "setticemia fatale" o "diarrea bianca bacillare" da Rettger (1900), che ha riferito di una malattia caratterizzata da perdita di appetito, diarrea ed elevata mortalità. Anche se la Pullurosi può essere contratta a qualsiasi età, la probabilità del contagio diminuiscono col tempo. Nei riproduttori, la malattia causa una riduzione della fertilità, della produzione di uova e della schiusa, con un'elevata percentuale di ovuli provenienti da ovaie infette che non maturano. Come malattia per trasmissione verticale, vede un aumento del numero di pulcini morti ancora all'interno dell'uovo, mentre alla nascita i pulcini infetti appaiono moribondi e il decesso sopraggiunge improvviso e senza sintomi clinici, con mortalità che aumenta intorno al quarto o quinto giorno di età, con un picco tra la seconda e la terza settimana (Shivaprasad and Barrow, 2008). I pulcini che sopravvivono alla malattia diventano portatori e diffondono l'agente causale, mostrando sintomi come gonfiore alle articolazioni (dovuto alla crescita stentata e non uniforme), diarrea bianca, congiuntivite, scarso piumaggio e, in rari casi, sintomi nervosi; a differenza dei pulcini, gli animali adulti non mostrano segni clinici, anche se è possibile rilevare una riduzione dello stato d'allerta e un calo della vivacità. All'esame necroscopico, si rilevano intestino pallido, fegato ingrossato, congestionato e disseminato di emorragie petecchiali e piccoli focolai bianchi, milza ingrossata e pallida, reni congestionati con ureteri distesi e presenza di urati, cuore e ventriglio con liquido pericardico torbido e piccole necrosi focali bianche, polmoni con noduli marroni, gravi tumefazioni alle articolazioni dei garretti e delle ali (Shivaprasad, 2000). Nei riproduttori portatori cronici, si rilevano cisti deformi contenenti materiale caseoso e l'ovaio può risultare emorragico con follicoli atrofici. Di seguito, vengono riportate alcune delle lesioni tipiche da Pullurosi riscontrate all'esame necroscopico (Figure IX, X, XI).

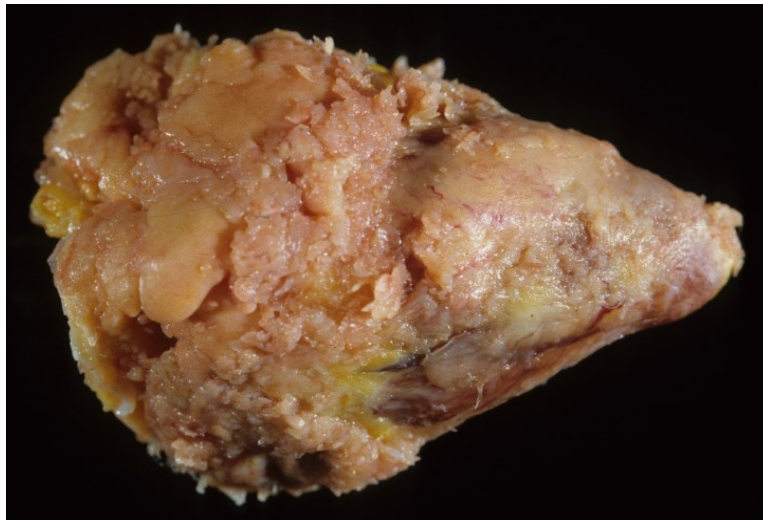
Figura IX. Epatite granulomatosa multifocale con noduli bianchi in rilievo di 1-5 mm nel fegato di pollo a causa dell'infezione da *S. Pullorum* [foto: Dr. Swayn D.E., University of Pennsylvania, MSD Veterinary Manual, 2019].



Figura X. Lesioni nodulari nel cuore causate dall'infezione cronica da *S. Pullorum*. Si noti l'ispessimento del pericardio (freccie) [foto: 2020 Diseases of Poultry, 14th Edition - Salmonella].



Figura XI. Pericardite granulomatosa grave e diffusa in un pollo adulto da infezione da *S. Pullorum* [foto: Dr. Swayne D.E., University of Pennsylvania, MSD Veterinary Manual, 2019].



- ***Tifo aviario o tifosi***

Il tifo aviario – anche noto come «*fowl typhoid* (FT)» – si manifesta con diarrea giallo-verdognola seguita da un rialzo termico fino a +44-45° C poco prima della morte. Altri segni includono respirazione affannosa e rantoli, specie in pulcini appena nati e di 5 giorni di età, ma anche fino a 21 e 28 giorni. I sintomi della tifosi nei polli e nei tacchini sono simili a quelli della Pullurosi e non sono caratteristici, tuttavia, mentre i polli infetti mostrano polidipsia, sonnolenza, anoressia e crescita ritardata, nei tacchini si osserva anche una maggiore tendenza all'isolamento dai soggetti sani. La malattia è accompagnata da alti tassi di mortalità, anche fino all'80% degli animali infetti presenti in allevamento (Hinshaw, 1930). Le lesioni *post-mortem* consistono in ingrossamento del fegato dalla colorazione bronzeo-verdastra con focolai necrotici biancastri distribuiti uniformemente sulla superficie, e della milza, anch'essa con focolai necrotici biancastri. Si riscontrano anche enterite

catarrale ed emorragica nel duodeno, cuore ingrossato con piccoli focolai bianchi sul miocardio, emorragie nel tessuto adiposo pericardico e nell'endocardio, polmoni congestionati con piccole aree grigie di necrosi focale e reni ingrossati (Shivaprasad and Barrow, 2008). Di seguito, vengono riportate alcune delle lesioni tipiche da Tifo aviario riscontrate all'esame necroscopico (Figure XII, XIII).

Figura XII. Tifosi aviaria acuta con fegato di pollo dalla colorazione bronzeo-verdastra [foto: Diseases of Poultry: A Colour Atlas, edito Ceva Sante Animal, 2007].



Figura XIII. Polmoni di pollo con caratteristica colorazione marrone da tifosi aviarie [foto: Diseases of Poultry: A Colour Atlas, edito Ceva Sante Animal, 2007].

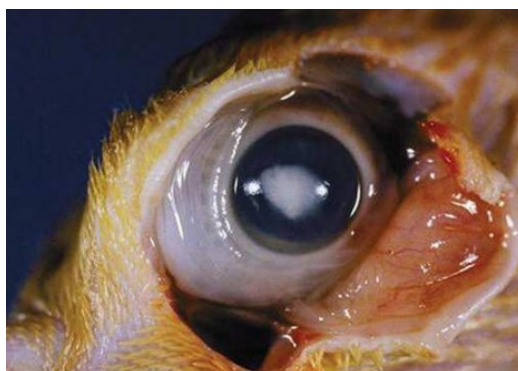


- **Arizonosi**

L'arizonosi, causata da *S. enterica* subsp. *arizonae* (sierotipo mobile e non ospite-specifico), è una malattia acuta setticemica clinicamente indistinguibile dalle altre salmonellosi che colpisce principalmente i giovani tacchini e i polli, così come anche altre specie avicole, e che si verifica sporadicamente negli allevamenti commerciali (Shivaprasad and Barrow, 2008). L'infezione può essere trasmessa per via verticale dai riproduttori infetti alle uova: in questo modo, i pulcini nati sviluppano la malattia nelle prime 3 settimane d'età (anche se si considera un periodo di incubazione da 5 a 10 giorni). A causa dell'elevata mortalità (dal 3,5-15% fino ad un 90% di perdite, specie nelle prime 3

settimane), della ridotta fertilità, della produzione di uova e della schiusa, l'Arizonosi rappresenta un grave problema per l'industria avicola (Shivaprasad, 2008). Fino a 3 settimane d'età i pulcini possono sviluppare atassia, opistotono, cecità con opacità corneale (dovuta a materiale caseoso che ricopre la retina), paralisi alle zampe, meningite, disturbi nervosi con andature non coordinate e convulsioni (a causa dell'infezione localizzata al cervello e trombosi vascolare della corteccia cerebrale), otite interna, onfalite ed epatite (Shivaprasad and Barrow, 2008). In animali maturi, invece, la malattia può causare segni clinici aspecifici come diarrea, depressione, anoressia e avvicinamento a fonti di calore, ma di rado questi muoiano a causa dell'infezione. All'esame autoptico è possibile notare una colorazione giallastra del fegato, che appare ingrossato e presenta *spot* necrotici biancastri, cistifellea dilatata, marcata congestione ed erosione del tratto gastrointestinale, presenza di essudato caseoso in cavità addominale, nelle meningi, nei ventricoli laterali del cervello e nell'orecchio medio interno, oltre che lesioni oculari non patognomoniche (Hinshaw and McNeil, 1946). Di seguito, viene riportato il caso di una tipica lesione oculare da Arizonosi riscontrata all'esame necroscopico (Figura XIV).

Figura XIV. Occhio di pollastra di tacchino di 3 settimane con grave oftalmite da infezione da *S. Arizonae* [foto: 2020 Diseases of Poultry, 14th Edition - Salmonella].



3.2.2 Fattori di rischio

Un certo numero di fattori può aumentare la probabilità o la gravità delle infezioni da *Salmonella* nel pollame. Oltre alle già citate vie di trasmissione, molti fattori contribuiscono nell'influenzare l'insorgenza e l'esito delle salmonellosi negli avicoli.

- Specificità di sierotipi e ceppi di *Salmonella*

I ceppi e i sierotipi di *Salmonella* spp. possono differire notevolmente per quanto riguarda le caratteristiche e gli effetti patologici nel pollame. Ad esempio, è noto come i sierotipi ubiquitari rilascino i batteri nelle feci per settimane, mentre nel caso di sierotipi specie-specifici, i batteri vengono eliminati in breve tempo. Si potrebbe dedurre che quanto meno specifico è il sierotipo, tanto più estesa è la colonizzazione, la quale porta ad uno spargimento di batteri per periodi più lunghi (Smith and

Tucker, 1980). Oltre che differire nella patogenesi, i sierotipi esitano in tassi di mortalità e livelli di infezione sistemica diversi.

- *Invasività dei ceppi di Salmonella spp.*

Le mutevoli condizioni ambientali alle quali i patogeni enterici sono esposti prima e durante il corso dell'infezione possono indurre cambiamenti nell'espressione dei geni relativi alla virulenza. I geni della *Salmonella*, infatti, si esprimono in modo differenziale in risposta alle sollecitazioni ambientali.

Sierotipi meno invasivi (come *S. Infantis*) colonizzano più efficacemente l'intestino e vengono escreti nelle feci più a lungo rispetto a sierotipi altamente invasivi (come *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*).

- *Dinamiche immunitarie*

La risposta immunitaria alle salmonelle è un meccanismo di difesa che protegge gli individui dall'infezione. Un ruolo importante viene assunto dall'immunità cellulo-mediata, in quanto gli eterofili fagocitano i patogeni limitando l'invasione degli organi; questo sistema risulta però particolarmente critico nei pulcini, poiché immunologicamente immaturi e non disposti di risposte immunitarie adattive completamente protettive (Holt *et al.*, 1999). È proprio nei giovani che l'infezione genera massicce risposte infiammatorie a livello enterico, provocando l'infiltrazione di granulociti, macrofagi, linfociti B e linfociti CD4+ e CD8+ nella lamina propria (Berndt *et al.*, 2007). Inoltre, l'intervento di altri agenti infettivi può influenzare il decorso delle infezioni da *Salmonella*: ad esempio, le infezioni da coccidi come *Eimeria tenella* possono aumentare la colonizzazione di *Salmonella* nel tratto intestinale, che va a diminuire i livelli di acidi grassi volatili inibitori. Tuttavia, è stato anche provato come l'*E. tenella* vada a diminuire la frequenza con cui le salmonelle riescono ad invadere gli organi interni dei pulcini, probabilmente a causa dell'ispessimento della lamina propria intestinale (Qin *et al.*, 1995).

Una potenziale strategia preventiva vede la selezione di diverse linee genetiche di polli resistenti alla *Salmonella*, questo perché linee diverse variano nella mortalità e nella resistenza, differendo nelle risposte delle cellule T e nell'espressione di citochine, peptidi antimicrobici, etc. (Coble *et al.*, 2011).

- *Presenza di biofilm*

Il biofilm può essere definito come “una comunità di microrganismi adesi a superfici vive o inerti, interfase o incorporati tra loro in una matrice polimerica autoprodotta” (Donlan and Costerton, 2002). È uno dei fattori di rischio recentemente riconosciuti che contribuisce alla persistenza della *Salmonella* a livello ambientale, tanto che i suoi agenti patogeni vengono definiti come “persistenti ambientali” (Corcoran *et al.*, 2014). Studi *in vitro* hanno rivelato che la capacità di produrre biofilm varia tra i

diversi sierotipi, ceppi, etc., ma ciò che li accomuna è la capacità della *Salmonella* di formare biofilm su superfici abiotiche come la plastica, la gomma, il vetro, l'acciaio inossidabile e il cemento (Solano *et al.*, 2002), materiali ampiamente utilizzati nell'industria alimentare, negli allevamenti e nei macelli.

- *Età*

Anche l'età incide sulla possibile infezione da *Salmonella* e lo sviluppo della patologia, tanto che è stato più volte osservato come gli avicoli acquisiscano una maggiore resistenza con l'avanzare dell'età, immunità che viene acquisita soprattutto se la malattia viene contratta attraverso inoculazione orale del contenuto ciecale proveniente da donatori infetti. A confermare questa tesi, Fagerberg *et al.* (1976) hanno dimostrato come, nei polli da carne, inoculazioni orali di *S. Typhimurium* fossero letali per il 50% dei pulcini ad 1 giorno di età e del 20% a 3 giorni, ma per lo 0% a 7 giorni. C'è da considerare, però, che questi sono risultati ottenuti sperimentalmente: la mortalità da infezioni contratte in natura raggiunge livelli di picco tra i 3 e i 7 giorni di età (Gast and Beard, 1989), mentre la frequenza dell'eliminazione fecale si massimizza a 14 giorni, col 55% dei campioni ciecali positivi a *Salmonella* a 9 giorni. Animali più anziani, invece, sono meno sensibili a *Salmonella*, manifestando colonizzazione intestinale senza significativa morbilità o mortalità. Tuttavia, alcuni studi sperimentali hanno dimostrato come anche a stadi d'età più avanzati gli animali possano comunque contrarre l'infezione. Humphrey *et al.* nel 1990 hanno dimostrato come animali giovani sottoposti ad inoculazione orale da *S. enteritidis* non ne sembrassero influenzati, tanto da mantenere un buon stato di salute, mentre animali infettati tra le 18 e le 55 settimane hanno mostrato livelli crescenti di debolezza ed incapacità nell'alimentarsi già dopo 4 giorni dall'infezione, oltre che ad aver sviluppato diarrea acuta e prolungata con spargimento fecale che ha raggiunto il picco a 18 settimane. Probabili spiegazioni alle differenze osservate potrebbero stare nella differenza d'età tra i due gruppi e nelle possibili variazioni dello stato immunitario degli animali maturi in conseguenza all'affaticamento del picco di deposizione di uova.

- *Stress*

Il benessere è essenziale per garantire un buono stato di salute degli animali e mantenere una buona produttività. Fonti di stress come l'instaurazione delle gerarchie, il sovraffollamento, la rimozione di mangime e acqua, la muta, la temperatura e l'umidità elevate, etc., possono indurre un indebolimento generale delle difese immunitarie, con un aumento dei livelli ematici di ormoni neuroendocrini dello stress che possono stimolare una maggiore espressione dei determinanti dell'infezione batterica, con un aumento del tasso di diffusione di *Salmonella* (Nakamura *et al.*, 1994).

- *Sistema di allevamento*

Nel report del 2008 dell'EFSA (“*Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline survey on the prevalence of Salmonella in turkey flocks, in the EU, 2006-2007: Part B: factors related to Salmonella flock prevalence and distribution of Salmonella serovars*”) viene evidenziato come allevamenti all'aperto e biologici siano più soggetti alle salmonellosi rispetto ad allevamenti intensivi, questo perché maggiormente esposti a fenomeni di parassitosi e ad interazioni con animali selvatici potenzialmente infetti; gli allevamenti intensivi, invece, garantiscono una maggiore biosicurezza agli animali. A discapito degli allevamenti intensivi incidono però le elevate densità di capi allevati, importante rischio di diffusione della *Salmonella*. Viene inoltre menzionato come anche allevare animali destinati all'ingrasso (tacchini, polli, etc.) assieme ai riproduttori e introdurre nuovi animali senza essere prima messi in quarantena, siano pratiche d'allevamento ad alto rischio che possono aumentare notevolmente i tassi d'infezione.

- *Contaminazione ambientale in allevamento*

È noto come la *Salmonella* sopravviva meglio in condizioni asciutte e fresche, piuttosto che in presenza di calore. La stabilità termica è anch'essa un fattore importante per garantire la sopravvivenza della *Salmonella*, poiché fluttuazioni di temperatura portano ad un rapido calo della conta batterica (Semenov, 2008). L'analisi di alcuni fattori fisici legati alla contaminazione da *Salmonella* indica che l'umidità della lettiera è correlata ad una maggiore incidenza di *Salmonella* e livelli più elevati di ammoniaca (Opara *et al.*, 1992). Elevata umidità della lettiera crea condizioni favorevoli alla moltiplicazione della *Salmonella*, soprattutto con attività dell'acqua (aw) maggiore di 0,90 e contenuto di umidità percentuale (MC) maggiore del 35%. Di solito il contenuto idrico nella lettiera aumenta perché i pulcini calpestanto gli abbeveratoi, soprattutto prima che siano sollevati da terra; ad aggravare la situazione, aree della lettiera in cui il movimento dell'aria è approssimativamente nullo, tendono ad avere parametri dell'acqua più alti (Opara *et al.*, 1992). Si è visto come anche la polvere possa contenere *Salmonella* e il suo rilascio dalle pareti o soffitti è spesso associato ad episodi di contaminazione e a picchi di infezione (Wales *et al.*, 2007). La trasmissione per via aerea tramite polvere contaminata all'interno e tra capannoni dipende dall'entità della contaminazione e dai sistemi di stabulazione adottati (suddivisione o meno in uno o più gruppi).

- *Trattamenti di lavorazione, manipolazione e modalità di conservazione degli alimenti destinati al consumo animale (feed)*

Nell'ambito delle modalità con cui sono realizzati i trattamenti di lavorazione e manipolazione dei prodotti (trattamenti termici e di conservazione), assumono un ruolo fondamentale l'ubiquitarietà e la

capacità di adattamento e sopravvivenza all'ambiente delle salmonelle, le quali fanno in modo che qualsiasi alimento manipolato o conservato in maniera non idonea, possa divenire fonte di infezione. Frequenti episodi di salmonellosi sono causati dal tempo prolungato intercorso fra la preparazione dell'alimento e il suo consumo, trattamenti di cottura insufficienti, etc., che facilitano la moltiplicazione dei batteri e rendono il prodotto finito un veicolo d'infezione. A tal proposito, sembrerebbe che il mangime in *pellet* per pollame addizionato di grasso e altri additivi come vitamine, enzimi e probiotici dopo il raffreddamento, aumenti il rischio di episodi di salmonellosi, come si è verificato nell'Irlanda del Nord e nel Regno Unito, dove sono stati segnalati più casi di contaminazione da *S. Infantis* in allevamenti avicoli, rispettivamente quattro volte tra il 2019 e il 2020, e cinque volte dal 2013, di cui due solo nel 2021 ("*Dangerous strain of Salmonella becoming more common in UK meat*", The Guardian, 2022). Infine, non è da trascurare il ruolo degli operatori della catena alimentare poiché una non corretta manipolazione delle materie prime (specie se già contaminate) può esitare in un'estesa contaminazione ambientale, a sua volta possibile causa di contaminazione alimentare.

Il pollame infetto è uno dei principali serbatoi di *Salmonella* con cui l'uomo viene a contatto attraverso la catena alimentare.

3.3 Infezione nell'uomo

La salmonellosi è la seconda zoonosi più comune nell'uomo nell'Unione Europea dopo la campilobatteriosi, ed è un'importante causa di focolai di infezione a trasmissione alimentare nei Paesi dell'Unione Europea e nei Paesi terzi (EFSA). Da quando è stata approvata l'applicazione dei piani per la sorveglianza della *Salmonella* (2007), si è stati testimoni di una progressiva diminuzione delle segnalazioni di positività a *Salmonella*, segnando valori minimi storici nel 2020. Nell'ultimo triennio (2019-2021), il calo dei casi umani di salmonellosi può essere associato ai periodi di crisi pandemica di Covid-19, facendo riferimento ad un ridotto numero di diagnosi confermate in laboratorio, mutate abitudini alimentari (nessun *catering*, *buffet*, etc.), pratiche per garantire una maggior igiene e sicurezza come il lavaggio e la disinfezione frequenti delle mani, un calo dei viaggi (sia dentro che fuori UE) come conseguenza della riduzione degli spostamenti, etc.

La classifica dei cinque sierotipi più comuni in Unione Europea è rimasta simile a quella degli anni precedenti e i tre sierotipi più comunemente segnalati nell'uomo nel 2020 sono stati *S. Enteritidis* (48,7%), *S. Typhimurium* (12,4%) e *S. Typhimurium* variante monofasica (1,4 + [5],12:i:-) (11,1%), cioè oltre il 70% dei sierotipi segnalati nell'Unione Europea (Tabella V). Questi tre sierotipi hanno

comunque visto, complessivamente, una lieve riduzione rispetto al 2019 e 2018, dato valido anche per *S. Infantis*, che si è classificato al quarto posto tra i sierotipi più comunemente riportati.

Tabella V. Distribuzione dei casi confermati di salmonellosi umana nell'UE nel periodo 2018-2020, per i 5 sierotipi di *Salmonella* più frequenti nel 2020 [fonte: “*The European Union One Health 2020 Zoonoses Report*”, EFSA and ECDC, 2020].

Serovar	2020			2019			2018		
	Cases	MSs	%	Cases	MSs	%	Cases	MSs	%
Enteritidis	20,610	25	48.7	39,451	27	50.4	39,516	27	50.0
Typhimurium	5,258	25	12.4	9,288	27	11.9	10,297	27	13.0
Monophasic typhimurium <u>1</u> ,4, [5],12:i:-	4,697	16	11.1	6,432	18	8.2	6,374	17	8.1
Infantis	1,040	23	2.5	1,912	26	2.4	1,852	26	2.3
Derby	518	20	1.2	719	23	0.92	707	23	0.90

3.3.1 Manifestazioni cliniche

L'uomo può contrarre l'infezione da sierotipi di *Salmonella* specie-specifici come *S. Typhi* e *Paratyphi* o da sierotipi ubiquitari come *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Infantis*, etc. Le diverse caratteristiche nelle modalità di trasmissione comportano un differente quadro epidemiologico: nel primo caso, l'infezione riconosce l'uomo come unico ospite provocando una sintomatologia nota come “febbre tifoide”, con contagio principalmente oro-fecale, mentre le salmonellosi da sierotipi ubiquitari, note come “non tifoidee”, vengono classificate come zoonosi (trasmissione dagli animali all'uomo).

3.3.2 Vie di trasmissione

La trasmissione di *Salmonella* all'uomo avviene principalmente con l'ingestione di alimenti di origine animale (uova, carne, latte e derivati) e vegetale contaminati, anche se possono verificarsi casi per contatto diretto con animali o di trasmissione interumana per via oro-fecale (Tauxe and Pavia, 1998).

- **Contatto con animali**

Numerosi sierotipi causa di salmonellosi negli animali possono infettare anche l'uomo, inducendo forme cliniche che generalmente non presentano gravi sequele. L'unica specie animale di cui è stato appurato il coinvolgimento in fenomeni zoonotoci *in vivo* è quella dei rettili. Questo modello di salmonellosi viene riconosciuto come zoonosi emergente, ma già tra il 1994 e il 1996 in Canada venne condotto uno studio a riguardo; le indagini rivelarono che il 3-5% dei casi di salmonellosi umana erano associati all'esposizione diretta ad animali esotici, con una grande varietà di sierotipi di *Salmonella* coinvolti, come *S. Paratyphi B*, *S. arizonae*, *S. Jangwani* e altri (Woodward *et al.*, 1997).

- **Alimenti d'origine animale e derivati destinati al consumo umano (*food*)**

Gli alimenti d'origine animale possono veicolare *Salmonella spp.*, e la loro contaminazione può avvenire a monte (soggetti infetti ancora prima di giungere al macello) o in sede di macellazione. Nel complesso, nel 2020 si è verificata una riduzione nelle segnalazioni di positività a *Salmonella* per diverse categorie di alimenti rispetto al 2019, così come si è anche verificato un calo degli Stati membri dell'UE notificanti. Secondo gli ultimi dati disponibili dell'EFSA, nel 2020 a livello europeo, il settore della produzione ha riscontrato percentuali più elevate di positività a *Salmonella* nelle "carni fresche di pollame" (12,6%) e nei "prodotti a base di carne di pollame destinati ad essere consumati cotti" (5,4%), mentre a livello di distribuzione solo l'1% dei campioni è risultato positivo a *Salmonella*, dove le categorie maggiormente coinvolte erano quelle dei "prodotti a base di carne di pollame destinati ad essere consumati cotti" (7,6%), le "carni fresche di pollame" (7,3%) e le "carni macinate e preparazioni di carne a base di carne di pollame destinate ad essere consumate cotte" (5,7%).

Focalizzandosi sul comparto avicolo in quanto più soggetto a segnalazioni di positività da *Salmonella*, è doveroso fare un distinguo per il settore dei polli broiler e quello dei tacchini. Per entrambe le categorie, i dati di monitoraggio della *Salmonella* provengono da campioni di pelle del collo prelevati al macello dopo la refrigerazione. Per i broiler, i dati sono stati forniti da 17 Stati membri e le percentuali dei campioni positivi a controlli ufficiali equivale al 15%, valore che si distanzia notevolmente da quello in autocontrollo (3,3%). I tacchini hanno riscontrato gli stessi valori percentuali di positività ai campionamenti da controlli ufficiali e in autocontrollo, anche se i dati sono stati forniti da 10 Stati membri. Indipendentemente dal metodo di campionamento, la percentuale di carcasse di polli da carne positiva a *Salmonella* ha raggiunto valori del 40,3% (Slovacchia), mentre i tacchini del 27,3% (Italia).

Per altre categorie di animali (suini, bovini, ovini, caprini ed equini) campionate al macello dopo lo scuoiamento e prima della refrigerazione, sono stati riscontrati valori molto variabili di positività a *Salmonella*, sia nei controlli ufficiali che in autocontrollo; ciò è dovuto alla numerosità dei paesi che hanno segnalato la presenza di *Salmonella* da carcasse animali al macello, e fra questi, chi ha dichiarato le positività sulla base di controlli ufficiali operati dalle Autorità Competenti (AC), e chi sulla base dei prelievi in autocontrollo effettuati dagli Operatori del Settore Alimentare (OSA). Alla Tabella VI è possibile osservare il confronto delle proporzioni (%) di campioni risultati positivi a *Salmonella* da carcasse di suini, bovini, ovini, caprini ed equini per i Paesi dell'Unione Europea che hanno fornito i dati nel 2020.

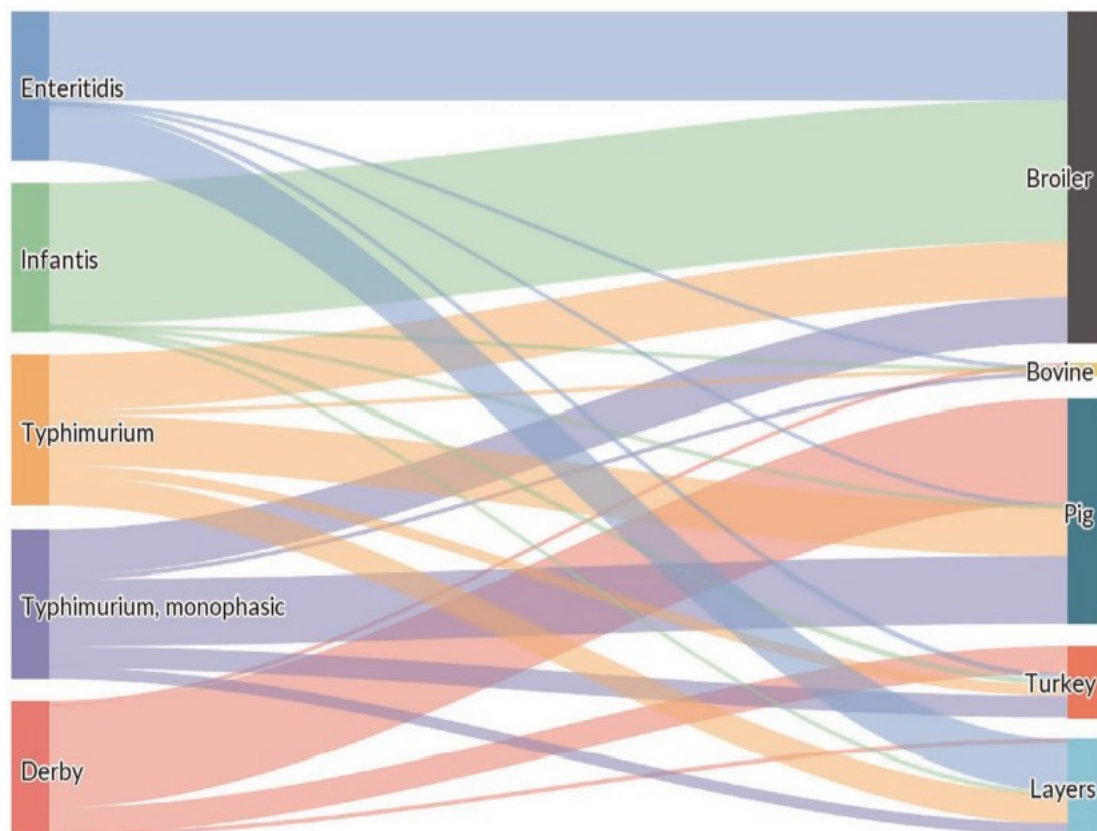
Tabella VI. Confronto delle proporzioni (%) di campioni positivi a *Salmonella* da carcasse di suini, bovini, ovini, caprini ed equini dopo lo scuoiamento ma prima del raffreddamento, per il totale di paesi dell'Unione Europea che ha fornito i dati, 2020 [fonte: “*The European Union One Health 2020 Zoonoses Report*”, EFSA and ECDC, 2020].

Specie di controllo	N. di paesi europei che ha fornito i dati	% di positività da <i>Salmonella</i> in controlli ufficiali da parte delle Autorità Competenti (AC)	% di positività da <i>Salmonella</i> in autocontrollo da parte di Operatori del Settore Alimentare (OSA)
Suini	20	3,6%	1,7%
Bovini	18	1,6%	0,18%
Ovini	15	0,45%	0,55%
Caprini	10	1,2%	3%
Equini	10	0,26%	0,35%

I dati ottenuti hanno confermato che le percentuali di campioni positivi raccolti dalle Autorità Competenti erano significativamente superiori rispetto prelevate dagli Operatori del Settore Alimentare nel caso di polli broiler, tacchini, suini e bovini, mentre per gli ovi-caprini e gli equini sono stati i campionamenti in autocontrollo a dare percentuali maggiori di positività da *Salmonella*.

Considerando le principali fonti di alimenti d'origine animale sovraccitate, i sierotipi più comunemente associati alle infezioni umane sono *S. Infantis* per il 31,5% dei casi, *S. Enteritidis* (5,1%), *S. Typhimurium* (3,7%), *S. Typhimurium* variante monofasica (1,4,[5],12:i:-) per il 2,2% e *S. Derby* (1,7%). Questa cospicua presenza di *S. Infantis* ha reso tale sierotipo uno dei sierotipi di *Salmonella* più frequentemente identificati nell'Unione Europea, tanto che tra i primi cinque sierotipi maggiormente coinvolti in casi di salmonellosi umana nell'Unione Europea, è quello maggiormente segnalato dall'Italia, con valori pari al 94% dei campionamenti effettuati sui polli da carne. Al Grafico I è possibile osservare la distribuzione dei primi cinque sierotipi di *Salmonella* dell'Unione Europea coinvolti in casi di salmonellosi umana (per fonte cibo-animale).

Grafico I. Diagramma Sankey della distribuzione dei primi cinque sierotipi di *Salmonella* dell'UE coinvolti in casi di salmonellosi umana acquisiti nell'UE, riportati per fonte cibo-animale, UE, 2020 [fonte: “*The European Union One Health 2020 Zoonoses Report*”, EFSA and ECDC, 2020].



CAPITOLO 4

FILIERA AVICOLA ITALIANA

La produzione di carni avicole a livello globale ha visto negli ultimi decenni ritmi di crescita considerevoli, difficilmente evidenziati negli altri comparti zootecnici. Questo sviluppo è dovuto alla brevità del ciclo produttivo e alla sua convenienza in termini economici. Inoltre la carne avicola è in grado di soddisfare la domanda alimentare di proteine animali sempre più crescente, è ampiamente diffusa ed economicamente accessibile, richiede facili e veloci preparazioni e supera i dogmi religiosi. Ciò nonostante, gli eventi degli ultimi due anni come le restrizioni da Covid-19 e la seguente fuoriuscita dalla fase pandemica, il peggioramento delle condizioni atmosferiche che ha penalizzato le produzioni agricole, l'aumento delle importazioni, la speculazione internazionale, gli effetti della guerra in Ucraina, le pandemie di Influenza Aviaria, etc., hanno in parte determinato un rallentamento nell'offerta dei prodotti avicoli (*"Tendenze e dinamiche recenti, Avicoli – maggio 2022"*, ISMEA, 2022). È possibile osservare questa tendenza alla Tabella VII.

Tabella VII. Variazione nel numero delle tonnellate di carni avicole prodotte dai Paesi dell'Unione Europea nel periodo 2016-2021 [fonte: *"EU Market Situation for Poultry"*, European Commission, 2021].

	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Total Poultry	13,747	13,577	13,718	13,927	13,907	13,514
Broiler	10,885	11,106	11,172	11,351	11,392	11,078
Turkey	1,990	1,937	1,921	1,946	1,977	1,868

Tra i diversi tipi di allevamento avicolo vi sono alcune differenze organizzative e strutturali che si riflettono in un diverso approccio sanitario, dovuto alle procedure di biosicurezza e alle rispettive *checklist* specifiche per ogni specie allevata e per la tecnica di allevamento. La *Food and Agriculture Organization of United Nations* (FAO) identifica i sistemi di produzione avicola in quattro settori:

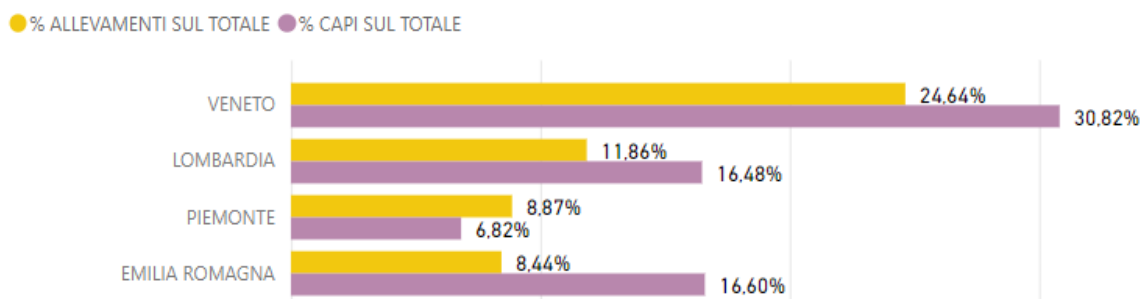
- Settore 1 (sistema industriale integrato): sistema di allevamento su larga scala, che esporta prodotti e animali all'estero. Le compagnie esportatrici hanno alti livelli di biosicurezza con procedure operative standardizzate e in continuo aggiornamento;
- Settore 2 (sistema di produzione commerciale): sistema che produce carne e uova, caratterizzato da un livello di biosicurezza medio-alto;

- Settore 3 (sistema di produzione commerciale su piccola scala): simile al precedente, ma con unità produttive e livelli di biosicurezza inferiori. Si divide in 3A (allevamenti di riproduttori e animali da ingrasso) e 3B (sistema in cui gli animali possono uscire all'esterno in zone dedicate);
- Settore 4 (sistema d'allevamento da cortile): allevamenti familiari con numero ristretto di animali destinati all'autoconsumo. Tra tutti, è quello col livello di biosicurezza più basso poiché vi è una maggior predisposizione al contatto con altri animali domestici o selvatici.

Lo scenario in cui opera principalmente il settore avicolo italiano è il settore 1, che negli anni ha visto l'espansione di grandi aziende grazie allo sviluppo di sistemi fortemente integrati dove confluiscono tutti i settori della filiera (incubatoi, allevamenti, macelli, mangimifici, strutture di sezionamento, punti di raccolta e distribuzione dei prodotti) al fine di operare all'unisono nel processo che porta alla realizzazione dei prodotti. La filiera avicola integrata in senso verticale si è consolidata grazie all'“economia contrattuale”, che nel territorio nazionale assume la forma di contratto di “soccida”. Con questa gestione, l'allevatore – cioè il «soccidario» – viene identificato come il prestatore dell'attività d'allevamento e del capitale, in quanto mette a disposizione le strutture per l'allevamento e gestisce la manodopera, la somministrazione dei mangimi, la manutenzione di locali e attrezzature, etc. Su di esso gravano diverse spese di gestione come quelle energetiche, l'acquisto dei materiali di lettiera, etc., ed è inoltre tenuto a seguire le strategie produttive dei gruppi soccidanti, come il numero di cicli produttivi e la loro durata, i mangimi da somministrare, etc. Appare dunque chiaro come il soccidario perda la propria autonomia imprenditoriale, non disponendo di alcun potere di mercato nei confronti dell'integrante; d'altro canto, è svincolato dai rischi di mercato, che diventano invece una responsabilità del soccidante. Proprio quest'ultimo assume la direzione tecnica degli allevamenti, prestando il capitale (animali da allevare e mangimi) e fornendo assistenza tecnico-sanitaria (“*La filiera avicola del Veneto*”, Veneto Agricoltura, 2004). Grazie alla filiera integrata, l'Italia è completamente autosufficiente sul fronte della produzione avicola, risultando l'unica tra le filiere zootecniche con un tasso di autoapprovvigionamento superiore al 100% (108% al 2021) (“*Tendenze e dinamiche recenti, Avicoli – maggio 2022*”, ISMEA, 2022). Le ragioni dell'autosufficienza sono legate ad un'industria che ha saputo ben dimensionare – attraverso i contratti di soccida – l'allevamento ai bisogni nazionali. Inoltre, il mercato italiano appare poco influenzato dal prodotto d'importazione, questo perché i consumi sono orientati su una tipologia qualitativamente superiore rispetto al prodotto estero, grazie alle garanzie di qualità e sicurezza alimentare imposte dagli *standard* comunitari. Con una produzione annua che supera 1 milione e 300 mila tonnellate di capi allevati, l'Italia si posiziona al quinto posto come Paese dell'Unione Europea per produzione di carni avicole dopo Polonia, Germania, Francia e Spagna, con una quota di produzione sul totale europeo attorno all'11% (“*Tendenze e dinamiche*”

recenti, *Avicoli – maggio 2022*”, ISMEA, 2022). Il metodo d’allevamento più idoneo atto a soddisfare queste elevate esigenze produttive e di biosicurezza, è l’allevamento a terra all’interno di ampi capannoni (o tunnel) con capacità di accasamento di migliaia o decine di migliaia di animali per ciclo. Per agevolare l’efficacia della filiera, gli allevamenti avicoli e le strutture collegate (mangimifici, macelli e incubatoi) si collocano in aree fra loro ravvicinate, tanto che è possibile osservare un’ampia diffusione dell’intera filiera soprattutto nel Nord Italia, dove le regioni con la maggiore densità di allevamenti sono il Veneto, la Lombardia, il Piemonte e l’Emilia-Romagna, con più della metà degli allevamenti presenti sul suolo nazionale e con oltre il 70% del patrimonio avicolo allevato (Grafico II). Stando ai dati dell’Anagrafe Nazionale Zootecnica, gli allevamenti avicoli iscritti alla Banca Dati Nazionale (BDN) sarebbero 10.152 con oltre 140 milioni di capi allevati (148.462.994). Inoltre, è possibile delineare un profilo preciso per quanto riguarda la distribuzione dei diversi indirizzi produttivi: secondo i dati dell’*Istituto di Servizi per il Mercato Agricolo e Alimentare* (ISMEA), la filiera avicola italiana sarebbe principalmente orientata verso la produzione di polli da carne (75%, con un 63% per i polli pesanti e un 12% per quelli leggeri) e di tacchini da ingrasso (21%), che insieme rappresentano la quasi totalità della produzione avicola nazionale (96%); le altre specie avicole (anatre, faraone, oche, quaglie, piccioni e selvaggina) si attestano invece su valori del 2-3% della produzione nazionale. Ad oggi, infatti, gli allevamenti di *Gallus gallus* sono circa il 60% delle aziende avicole italiane e detengono la quota principale di animali allevati (quasi il 90% del patrimonio nazionale), di cui solo la metà costituita da broiler. Gli allevamenti di *Meleagris gallopavo*, invece, occupano una posizione più esigua nel panorama avicolo italiano, con l’8% di allevamenti che alleva quasi il 7% di capi sul totale avicolo nazionale, di cui la quasi totalità (95%) è costituita dai soggetti destinati all’ingrasso.

Grafico II. Percentuale di distribuzione degli allevamenti avicoli e dei capi per le quattro principali regioni a vocazione avicola secondo i dati aggiornati al 15 ottobre 2022 [fonte: statistiche - Sistema Informativo Veterinario - Banca Dati Nazionale].



Nonostante lo sviluppo della filiera, è interessante notare l’alta variabilità che sussiste tra il numero di allevamenti e il numero di capi allevati sia per i polli che per i tacchini da carne sul territorio nazionale.

Sebbene siano presenti alcune differenze, entrambi gli indirizzi produttivi hanno subito una battuta d'arresto tra la fine del 2021 e l'inizio del 2022 a causa dell'impennata dei costi di produzione: a fronte di un aumento dei costi agricoli del +18,4% (di cui solo i mangimi assorbono il 60% dei costi di produzione) e dei rincari energetici, la carne avicola ha registrato incrementi dei costi di produzione del +21,1%, generando i primi segnali di cedimento della domanda al consumo (“*Tendenze e dinamiche recenti, Avicoli – maggio 2022*”, ISMEA, 2022). Ad aggravare il periodo, oltre all'aumento generalizzato dei prezzi, sono stati diversi casi di Influenza Aviaria.

A livello regionale, il Veneto continua a mantenere la posizione *leader* per la numerosità degli allevamenti e per l'entità del patrimonio avicolo, tanto da contare da solo quasi un quarto degli allevamenti nazionali e circa il 30% di tutto il patrimonio avicolo (statistiche - Sistema Informativo Veterinario - Banca Dati Nazionale, 2022). La ripartizione dei diversi indirizzi produttivi, già evidenziata a livello nazionale, ben si riflette in questa regione dove il ruolo dominante viene assolto dagli allevamenti di *Gallus gallus* che da soli costituiscono la metà delle aziende avicole venete; la ripartizione dei restanti indirizzi produttivi vede la maggioranza (circa del 20%) di allevamenti di *Meleagris gallopavo*, mentre la restante percentuale è principalmente suddivisa tra gli avicoli misti, anatre, faraone, quaglie e selvaggina da ripopolamento. Relativamente al numero di allevamenti e di capi sia della specie *Gallus gallus* che *Meleagris Gallopavo*, l'andamento regionale per il quadriennio 2019-2022 riflette la situazione italiana precedentemente riportata, se non per il numero di allevamenti di tacchini che vede invece una tendenza negativa.

Considerate dunque l'alta densità di allevamenti e concentrazione di animali, appare chiaro come l'area della pianura padana sia una zona ad elevata criticità relativamente alla presenza di un'elevata densità di avicoli. Per assicurarsi che gli Stati membri dell'Unione Europea mantengano elevati *standard* sanitari in materia di sicurezza alimentare, la Comunità adotta una strategia globale attraverso l'istituzione di una complessa rete di sorveglianza, dove vengono garantiti controlli mirati da parte delle Autorità Competenti, la valutazione dei rischi, la rapida comunicazione delle informazioni, l'applicazione di norme d'igiene a tutti i livelli della catena alimentare, la responsabilità dei produttori e dei fornitori, la rintracciabilità lungo la filiera, etc.

CAPITOLO 5

SORVEGLIANZA A LIVELLO EUROPEO

L'importanza del controllo delle malattie a trasmissione alimentare – delle infezioni da *Salmonella* in particolare – a livello di produzione primaria, viene ribadita dalla normativa europea sulle zoonosi (Direttiva 2003/99/CE e Regolamento (CE) n. 2160/2003), che identifica il controllo di filiera come strumento cardine per la prevenzione di queste malattie. L'obiettivo di questa normativa è fare in modo che vengano adottate misure adeguate ed efficaci all'individuazione e al controllo della *Salmonella* e di altri agenti zoonotici nelle varie fasi della filiera agro-alimentare, dalla produzione primaria degli animali, alla lavorazione e distribuzione, in modo da ridurre il rischio di contagio per la sanità pubblica. In quest'ottica, è di fondamentale importanza la definizione di un obiettivo comunitario, che si traduce nella riduzione della prevalenza delle principali zoonosi. Focalizzandosi solo sulla *Salmonella*, la sua riduzione avviene attraverso la creazione e lo sviluppo di specifici sistemi di monitoraggio e programmi di controllo basati sull'eradicazione, la lotta e la sorveglianza dei diversi sierotipi, specialmente quelli rilevanti per la sanità pubblica (salmonelle zoonotiche). Per poter rilevare i sierotipi target è opportuno fare riferimento alle fonti alimentari che risultano essere più comunemente contaminate, come i riproduttori della specie *Gallus gallus*, le galline ovaiole, i polli da carne, i tacchini da riproduzione e da ingrasso.

Nello stabilire gli obiettivi di riduzione degli agenti zoonotici nella popolazione animale occorre tener conto della frequenza e della tendenza epidemiologica riscontrata nelle popolazioni umana e animale, nei mangimi e nei prodotti alimentari, della gravità della patologia nell'uomo, delle potenziali conseguenze economiche, del parere scientifico e dell'esistenza di opportune misure volte a ridurre la prevalenza. Nel determinare quali siano i sierotipi di *Salmonella* rilevanti per la sanità pubblica, si fa riferimento ai criteri individuati dal Regolamento (CE) n. 2160/2003 e presenti nell'allegato III:

- la maggior frequenza dei sierotipi di *Salmonella* in umana sulla base dei dati raccolti coi sistemi di monitoraggio delineati dalla Commissione Europea;
- le fonti di infezione, cioè la presenza dei sierotipi nelle popolazioni animali;
- l'ubiquitarità dei sierotipi, cioè la capacità di diffondersi e provocare la malattia sia negli animali che in umana;
- una maggiore virulenza;

Sulla base dei dati comunitari raccolti annualmente sui sierotipi prevalenti nell'uomo, è stato definito come i piani di sorveglianza negli animali debbano riguardare *S. Enteritidis*, *Typhimurium*, *Infantis*, *Hadar* e *Virchow* (EFSA). Di seguito, nella Tabella VIII, la distribuzione dei sierotipi rilevanti di *Salmonella* per categoria produttiva.

Tabella VIII. Sierotipi di *Salmonella* rilevanti per la salute pubblica in base all'indirizzo produttivo degli avicoli che costituiscono la filiera avicola italiana [Piano Nazionale di Controllo della Salmonellosi 2019/2021].

Sierotipi di <i>Salmonella</i> rilevanti per la salute pubblica	<i>Per i gruppi di riproduttori <i>Gallus gallus</i></i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Salmonella Enteritidis</i>, • <i>Salmonella Typhimurium</i>, compresa la variante monofasica con formula antigenica 1,4[5],12:i:- • <i>Salmonella Infantis</i> • <i>Salmonella Virchow</i>, <i>Salmonella Hadar</i>
	<i>Per i gruppi di ovaiole, polli da carne, tacchini da riproduzione e ingrasso</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Salmonella Enteritidis</i> • <i>Salmonella Typhimurium</i>, compresa la variante monofasica con formula antigenica 1,4[5],12:i:-

Per garantire il conseguimento degli obiettivi, è opportuno che gli Stati membri elaborino specifici sistemi di sorveglianza e piani di controllo che la Comunità deve approvare. La volontà di ridurre l'incidenza della salmonellosi a livello comunitario, determina dunque la necessità di un continuo aggiornamento dei sistemi di sorveglianza per poter far fronte in modo rapido alle variazioni epidemiologiche, sia nell'uomo che negli animali.

Sebbene la legislazione non possa prevenire del tutto eventuali imprevisti lungo la catena alimentare, essa quantomeno fissa delle prescrizioni ben precise per la rilevazione precoce dei problemi e il tempestivo avvio degli interventi correttivi.

5.1 Cenni sulla legislazione Europea

Le zoonosi come la salmonellosi possono essere trasmesse all'uomo tramite acqua o fonti alimentari contaminate o mediante il contatto con individui (animali o umani) infetti, con effetti anche particolarmente gravi per la salute di certe categorie di persone. È solo attraverso un preciso monitoraggio a livello comunitario delle zoonosi e degli agenti zoonotici che vengono applicate misure pratiche efficaci atte a ridurre la prevalenza e garantire dunque il mantenimento della salute pubblica. Buona parte della normativa europea sulla protezione dalle malattie zoonotiche, si basava su quanto riportato nella Direttiva 92/117/CEE del Consiglio sulle misure di protezione dalle zoonosi specifiche e la lotta contro agenti zoonotici specifici negli animali e nei prodotti di origine animale per evitare focolai di infezioni e intossicazioni alimentari. Per realizzare questo obiettivo, la direttiva in questione intendeva istituire sistemi di sorveglianza per le zoonosi e in particolare, misure di lotta contro la *Salmonella* nel pollame, in quanto maggiori veicoli alimentari imputati nella trasmissione della relativa zoonosi.

Fu però solo nel 1998 con la Decisione 98/2119/CE del Parlamento europeo e del Consiglio che venne istituita una rete di sorveglianza epidemiologica e di controllo delle malattie zoonotiche trasmissibili nella Comunità. La motivazione alla base della sua istituzione stava nella volontà di voler rafforzare le disposizioni in materia di raccolta dei dati per poter migliorare la prevenzione e il controllo delle malattie. Con questo sistema, ogni Stato membro doveva redigere norme nazionali che identificassero le misure da adottare per impedire l'introduzione di salmonelle negli allevamenti e per farlo, si dovevano presentare alla Commissione i piani di controllo nazionali della *Salmonella*, attendendone l'approvazione. Nonostante la ricezione positiva sulla raccolta dei dati comunitari, tale rete di sorveglianza non garantiva un confronto armonizzato tra Stati membri. Per migliorare il controllo della *Salmonella* e di altri agenti zoonotici specifici negli alimenti, nel 2002 venne emanato un regolamento europeo che si occupasse del perfezionamento dei sistemi di sorveglianza e di raccolta dati previsti dalla Direttiva 92/117/CEE; il regolamento in questione – il Regolamento (CE) n. 178/2002 del Parlamento europeo e del Consiglio – si occupava di identificare i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituire l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissare procedure nel campo della sicurezza alimentare in modo da poter raccogliere e analizzare i relativi dati. Considerato che in materia di sicurezza alimentare le misure adottate dagli Stati membri e dalla Comunità dovrebbero basarsi sull'analisi del rischio al fine di ridurre, eliminare o quantomeno evitare rischi per la salute, il regolamento in questione fa in modo che questa procedura venga svolta dall'Autorità Competente (AC), la quale si occupa principalmente della raccolta delle informazioni ottenute dai programmi di controllo. Inoltre, affinché possa espletare al meglio le sue funzioni di sorveglianza dei

rischi sanitari, l'Autorità Competente è il destinatario dei messaggi del sistema di allarme rapido, e come tale si occupa di analizzarne il contenuto, in modo da fornire alla Commissione e agli Stati membri tutte le informazioni necessarie all'analisi dei rischi.

Sono stati inoltre pubblicati direttive e regolamenti volti alla sorveglianza e al controllo delle zoonosi a trasmissione alimentare: la Direttiva 2003/99/CEE e il Regolamento (CE) n. 2160/2003.

Le norme previste dalla Direttiva 2003/99/CE del Parlamento europeo e del Consiglio sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici vanno a sostituire i sistemi di sorveglianza epidemiologica e di controllo delle malattie trasmissibili nella Comunità previsti dalla Direttiva 92/117/CEE (ed istituiti con la Decisione n. 98/2119/CE). Lo scopo di questa direttiva è quello di garantire un'adeguata sorveglianza delle zoonosi, degli agenti zoonotici e della resistenza antimicrobica attraverso un'adeguata raccolta di informazioni sui contagi. Parallelamente a questa direttiva, è stato emanato il Regolamento (CE) n. 2160/2003 del Parlamento europeo e del Consiglio basato sul controllo della *Salmonella* e di altri agenti zoonotici specifici presenti negli alimenti che fissa come obiettivo comunitario la riduzione della prevalenza delle zoonosi e degli agenti zoonotici, con particolare attenzione alla *Salmonella* negli avicoli. Nello specifico, nei suoi allegati, tale regolamento si concentra sui sierotipi *target* di *Salmonella*, rilevati a seguito di campionamenti specifici finalizzati al controllo dei riproduttori della specie *Gallus gallus* (poiché possono trasmettere l'infezione per via verticale alle uova) e ai polli da carne e tacchini da ingrasso (fonti alimentari che possono veicolare la *Salmonella*). Secondo l'allegato I, un programma coordinato di sorveglianza dovrebbe contenere:

- finalità del programma;
- area geografica o regione interessata;
- zoonosi e/o agenti zoonotici oggetto del programma;
- tipo di campioni, norme minime di campionamento e metodi di analisi di laboratorio;
- risorse da attribuire e costo stimato del programma e modalità di finanziamento.

La sorveglianza viene effettuata nelle fasi della catena alimentare più consone all'agente zoonotico considerato (produzione primaria degli animali e/o in altre fasi della catena alimentare) e i risultati ottenuti vengono pubblicati in una relazione che viene presentata annualmente alla Commissione Europea. I risultati vengono inoltre resi noti alla popolazione grazie a pubblicazioni ufficiali.

5.2 Programmi di sorveglianza

Secondo l'Articolo 2 della Direttiva 2003/99/CE, col termine «sorveglianza» si intende “*un sistema di raccolta, analisi e diffusione dei dati sull'incidenza di zoonosi, di agenti zoonotici e di resistenza agli antimicrobici ad essi correlata*”. Riferendosi alla salmonellosi, l'attività di sorveglianza consente di seguire l'evoluzione delle infezioni e dei sierotipi di *Salmonella* servendosi di sistemi di raccolta e analisi dei dati. Questi sistemi si basano su metodiche microbiologiche ed epidemiologiche standardizzate, che rendono comparabili tra loro i dati raccolti. Le principali fonti di informazione sono le reti per il monitoraggio e la sorveglianza della sanità pubblica, piani di sorveglianza delle zoonosi e piani nazionali di controllo, sistemi di allarme e informazione rapida, attività di ricerca, etc.

Il quadro internazionale per la sicurezza degli alimenti e della sanità pubblica si è ben sviluppato grazie al maggior ruolo assunto da alcune organizzazioni internazionali, come l'OMS, il CDC e molte altre.

L'*Organizzazione Mondiale della Sanità* (OMS) – anche nota come “*World Health Organization*” (WHO) – a livello europeo, collabora con diverse reti organizzative (organizzazioni governative e non, fondazioni, accademie, laboratori di ricerca, etc.) per aiutare gli Stati membri a migliorare il proprio stato sanitario attraverso lo sviluppo di idonei servizi igienico-sanitari, la riduzione delle malattie trasmissibili, dell'antibiotico-resistenza, etc.

Il *Center for Diseases Control and Prevention* (CDC) è un'organizzazione americana impegnata nella tutela della salute pubblica che supervisiona l'andamento delle epidemie attraverso più sistemi di sorveglianza, i “*Salmonella Surveillance*”. Uno dei principali programmi del CDC sulla *Salmonella* è il “*FoodNet, The Foodborne Disease Active Surveillance Network*”, sistema di sorveglianza attiva per l'identificazione di salmonellosi e altre zoonosi alimentari, che oltre al monitoraggio, fornisce indicazioni sulle tecniche di laboratorio necessarie ad isolare i sierotipi *target* di *Salmonella*.

In base alla necessità di rafforzare le infrastrutture sanitarie a livello globale, dalla cooperazione del WHO e del CDC, nel 2000 è nato un programma di sorveglianza internazionale, il “*Global Salmonella Surveillance*” (Global Salm-Surv), impegnato nella raccolta dei dati e nell'isolamento dei sierotipi di *Salmonella* maggiormente riscontrati.

A livello europeo, gli Stati Membri si impegnano costantemente nella raccolta di dati ed informazioni utili sulle fonti che provocano episodi di salmonellosi, in modo da incrementare le misure di controllo e prevenzione nella catena alimentare e proteggere così lo stato di salute complessivo. A tal proposito, dal 2004, l'*European Food Safety Authority* (EFSA) ha predisposto alcuni modelli per il rilevamento degli agenti zoonotici per armonizzare il flusso informativo dei dati, come il “*Med.Vet.Net association*”, una rete di sorveglianza capace di integrare le competenze di veterinari ed esperti di

alimentazione per la prevenzione e il controllo delle zoonosi. Operativo fino al 2009, le sue linee guida si ispiravano all'approccio *One Health* per combattere le zoonosi, tanto che nel 2006 avviò un progetto sulle infezioni di origine enterica più comuni in Europa: *Campylobacter* e *Salmonella*. Nonostante la brevità del progetto, il panorama internazionale si caratterizza comunque per la presenza di altre reti di sorveglianza, alcune operative da diversi anni, come la “*Enter-Net*”, che, attiva dal 1994, coinvolge buona parte dei centri di riferimento dei Paesi dell'Unione Europea, ma anche di Svizzera, Norvegia, Canada, Giappone e Sud Africa. La rete *Enter-Net* raccoglie informazioni sui sierotipi di *Salmonella* associati alle infezioni umane e sull'antibiotico-resistenza. In Italia, l'*Istituto Superiore di Sanità* (ISS) partecipa attivamente alla sorveglianza europea e aderisce al Centro di Coordinamento Europeo grazie all'*Enter-Net Italia*. Nel 2002 è stata attivata a livello nazionale una struttura parallela, l'*Enter-Vet*”, che grazie al Centro di Riferenza Nazionale per le salmonellosi dell'*Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie* (IZS_{Ve}), coordina i laboratori di microbiologia dei vari Istituti Zooprofilattici, i quali registrano i dati sui ceppi di *Salmonella spp.* isolati da matrici veterinarie (alimenti, animali, ambiente) e trasmettono al Centro di Riferenza Nazionale le informazioni sui sierotipi rilevanti, sui ceppi con criticità alla sierotipizzazione, ceppi riconducibili a sierotipi rari, etc. Dall'attività svolta, viene periodicamente pubblicato un *report online* da parte del *Centro nazionale di epidemiologia, sorveglianza e promozione della salute* (Cnesps).

Inoltre, vista l'importanza dell'attività di controllo, campionamento e analisi svolta dai Servizi Veterinari delle Az. ULSS e dalle altre autorità lungo tutta la filiera agro-alimentare, il Ministero della Salute ha disposto la creazione di un sistema informativo nazionale nel quale fossero periodicamente inseriti i dati relativi alla sorveglianza e al controllo delle zoonosi in Italia, il cosiddetto “*Sistema Informativo Veterinario*”, anche noto come “*Vetinfo*”. Alla base di questo sistema di sorveglianza, le fasi di raccolta e analisi dei dati vengono svolte da operatori specializzati normalmente individuati all'interno delle ASL e degli IZS: la raccolta dei campioni ufficiali spetta ai Servizi Veterinari (se in autocontrollo, i campioni non vengono raccolti dai SV ma dagli operatori aziendali), mentre i dati di laboratorio vengono processati dagli IZS, che, seguendo i metodi d'analisi riportati nella normativa ISO 6579-2002, individuano la presenza di *Salmonella spp.* Sulla base dei possibili esiti all'analisi dei campioni prelevati (negatività, positività a ceppi non rilevanti o positività a ceppi rilevanti), i dati vengono inseriti con tempistiche diverse nel “*Sistema Informativo Salmonellosi*” (SISalm), sezione del Vetinfo, e, nel caso in cui si trattasse di una positività a salmonelle rilevanti per la sanità pubblica, fatti pervenire al “*Sistema informativo malattie animali nazionale*” (SIMAN), sistema di notifica dei focolai e gestione delle emergenze. Infine, i dati vengono trasmessi dall'Autorità Competente (Ministero della Salute) alla Commissione europea.

5.3 Focus su *S. Infantis*

Considerato l'impatto dei sierotipi rilevanti di *Salmonella* sulla sanità pubblica (*S. Typhimurium*, *Enteritidis*, *Infantis*, *Hadar* e *Virkow*), sono stati messi a punto diversi sistemi di sorveglianza e controllo per ridurre la prevalenza. Già nel 2009 col Regolamento (CE) n. 213/2009 della Commissione sulle modalità di controllo e di analisi della *Salmonella* nei gruppi da riproduzione di *Gallus gallus* e di tacchini, sono state definite le prime pratiche di sorveglianza e controllo di questi cinque sierotipi. Per poter monitorare la presenza e lo sviluppo epidemiologico dei sierotipi rilevanti (tra cui *S. Infantis*), il presente regolamento sottopone le unità riproduttive a campionamenti in azienda o presso le unità di incubazione, e, secondo quanto riportato nel suo allegato, i campionamenti possono avere tempistiche diverse in base all'iniziativa dell'allevatore o delle Autorità Competenti. Alla Tabella IX vengono riportati schematizzati cadenza e luogo dei campionamenti per la sorveglianza della *Salmonella* effettuati nei riproduttori di *Gallus gallus* e di tacchini.

Tabella IX. Cadenza e luogo dei campionamenti per la sorveglianza della *Salmonella* effettuati nei riproduttori di *Gallus gallus* e di tacchini in base all'ente che dispone il campionamento e alla sua natura [fonte: linee guida presenti nell'allegato del Regolamento (CE) n. 213/2009 della Commissione].

Ente che dispone il campionamento	Natura del campionamento	Cadenza dei campionamenti e luoghi designati al campionamento
allevatore	autocontrollo	Unità di incubazione: <ul style="list-style-type: none"> - previa approvazione del piano di autocontrollo aziendale delle salmonelle da parte dei Servizi Veterinari, frequenza di campionamento sulla base dell'analisi del rischio; Azienda: <ul style="list-style-type: none"> - ogni 2 settimane in deposizione; - pulcini di 1 giorno; - 4 settimane di età; - due settimane prima dell'entrata in deposizione;
Autorità Competente (Servizi Veterinari delle Az. ASL)	controlli ufficiali	Unità di incubazione: <ul style="list-style-type: none"> - un campionamento sistematico ogni 16 settimane; Azienda: <ul style="list-style-type: none"> - un campionamento entro 4 settimane dall'inizio della produzione di uova; - un campionamento verso la fine della fase di ovodeposizione ma non prima di 8 settimane dalla fine del ciclo di produzione; - un campionamento durante il ciclo produttivo a distanza dagli altri campionamenti (solo nel caso in cui il campionamento in autocontrollo fosse stato eseguito in azienda);

Per quanto riguarda i protocolli di campionamento, anche questi variano in base alla sede dove ha luogo il campionamento, ma anche in funzione alla matrice prelevata (Tabella X).

Tabella X. Matrice oggetto di campionamento in funzione del luogo in cui viene disposto il campionamento per la sorveglianza di *Salmonella* (unità di incubazione o azienda) [fonte: linee guida presenti nell'allegato del Regolamento (CE) n. 213/2009 della Commissione].

Unità di incubazione	Azienda
<ul style="list-style-type: none"> - campioni compositi raccolti dai rivestimenti interni sporchi di scatole di trasporto dei pulcini da più incubatrici o da punti diversi di una stessa incubatrice; - campioni della lanugine in altri punti delle incubatrici raccolti con uno o più tamponi di tessuto umidificato; - gusci d'uovo rotti, schiacciati e mescolati in modo da creare un sottocampione da canestri di più incubatrici; 	<ul style="list-style-type: none"> - materiale fecale prelevabile come pool di feci proveniente da più punti del capannone in cui è tenuto il gruppo. Si utilizzano tamponi di tela indossati sopra agli stivali, capaci di assorbire l'umidità della lettiera del/i capannone/i; - tamponi di polvere con tamponi di tela umidificati;

Una volta effettuato il campionamento, la matrice viene riposta in un contenitore asettico (busta antimanomissione) in cui vengono riportate tutte le informazioni necessarie all'identificazione in laboratorio (codice aziendale in cui è stato effettuato il campionamento, data, motivo del campionamento e matrice del campione); il tutto viene poi prontamente inviato, possibilmente entro 24 ore dal campionamento, presso uno dei laboratori nazionali di riferimento (LNR) designati che, seguendo la normativa ISO 6579-2002, sottoporrà il campione a sierotipizzazione secondo lo schema di Kaufmann-White. Sulla base degli esiti forniti, può essere individuata la presenza di una o più salmonelle rilevanti per la sanità pubblica nei gruppi da riproduzione. Se il riscontro per questi sierotipi dovesse risultare positivo, le informazioni dovrebbero essere immediatamente rese note (segnalamento all'Autorità Competente e all'allevamento oggetto di campionamento, inserimento dei dati in SISalm e SIMAN) e l'allevamento in questione verrebbe posto in "vincolo sanitario", dove:

- gli animali (riproduttori e pulcini) e le uova vengono destinati all'abbattimento e alla distruzione oppure alla commercializzazione nella filiera alimentare previ trattamenti termici atti a garantire l'eliminazione delle salmonelle rilevanti. Normalmente, le uova prodotte da gruppi positivi non vengono destinate alla cova ma, se queste avessero già raggiunto i centri di incubazione, ne viene disposto il loro ritiro e conseguente distruzione;
- viene disposta la revoca dell'accreditamento dell'allevamento di appartenenza del gruppo. L'allevamento può riacquisire l'accreditamento a seguito di un controllo ufficiale negativo effettuato su tutti i gruppi della stessa azienda;
- viene applicato vuoto sanitario dove si procede al lavaggio, disinfezione e disinfestazione di tutte le strutture e attrezzature aziendali allo scopo di creare una barriera sanitaria;
- i Servizi Veterinari, in collaborazione col veterinario aziendale, effettuano l'indagine epidemiologica (IE). Sulla base dei risultati ottenuti, i SV possono intensificare la frequenza dei controlli ufficiali o richiedere modifiche e/o integrazioni delle misure di biosicurezza.

C'è da specificare, comunque, che mentre il vuoto biologico e sanitario vengono sempre applicati al termine di ogni ciclo produttivo, l'indagine epidemiologica viene effettuata anche quando vengono rilevati sierotipi minori di *Salmonella* e altre malattie.

Da qualche anno, *S. Infantis* è al centro dell'attenzione da parte delle Autorità Sanitarie Competenti in quanto risulta essere il sierotipo di *Salmonella* riscontrato nella quasi totalità delle non conformità dei campioni eseguiti sia dai Servizi Veterinari che in autocontrollo. Attualmente, diversi laboratori accreditati per il controllo della *Salmonella* stanno analizzando le caratteristiche intrinseche ed epidemiologiche del sierotipo in questione, e dai primi risultati ottenuti, non sembrerebbe trattarsi di una *Salmonella* come le altre, in quanto caratterizzata da alcune particolarità interessanti, come:

- difficoltà di isolamento: nonostante i programmi di individuazione della *Salmonella* (piani di campionamento ufficiali e prelievi lungo tutta la filiera produttiva), non sono stati ancora ottenuti risultati significativamente utili per poter risalire all'origine della contaminazione;
- elevata resistenza nell'ambiente esterno: da prove di laboratorio, è emersa la difficoltà nella sua eradicazione, tanto che anche sottoponendo il sierotipo a prove di resistenza da più disinfettanti, questi non sarebbero in grado di inattivarla. Il motivo alla base della sua resilienza sembrerebbe essere la presenza di biofilm capace di proteggere il sierotipo;
- diffusione di geni di resistenza agli antimicrobici: da prove di laboratorio, il sierotipo in questione è caratterizzato da un'elevata resistenza ad alcune classi di antibiotici, compresi quelli considerati critici per il trattamento di infezioni batteriche umane.

In attesa di ottenere risultati significativi sull'epidemiologia e sulle caratteristiche intrinseche di *S. Infantis*, è fondamentale mettere in pratica tutta una serie di operazioni al fine di limitare la diffusione di questo sierotipo, come l'implementazione delle misure di biosicurezza negli allevamenti e nei capannoni dove si allevano gli animali, così come il miglioramento dei livelli igienico-sanitari in allevamento e in sede di macellazione, la somministrazione di vaccini nei riproduttori, la corretta applicazione delle linee guida nel consumo domestico di pollame fornite dall'OMS alla popolazione (evitare il contatto diretto e indiretto tra alimenti crudi e alimenti cotti, cuocere adeguatamente la carne cruda, usare materie prime sicure), etc.

CAPITOLO 6

PROFILASSI E CONTROLLO NELLA FILIERA AVICOLA ITALIANA

La complessità del ciclo biologico della *Salmonella* richiede che gli interventi previsti dalle normative europee e nazionali vengano effettivamente applicati a livello di sanità animale, di sicurezza degli alimenti e di igiene pubblica. Poiché la *Salmonella* è un agente patogeno ubiquitario e di difficile eradicazione, le misure da adottare per arginare la sua diffusione sono ad ampio spettro d'azione. In quest'ottica, la profilassi e il controllo sono dei mezzi fondamentali per limitare la diffusione di questo agente eziologico sia negli animali che nell'uomo.

6.1 Profilassi Sanitaria

Le misure di profilassi sanitaria si basano su una serie di azioni che evitano l'introduzione della malattia (prevenzione primaria) e la sua diffusione in allevamento (profilassi e controllo); con questa considerazione, appare chiaro come la realizzazione e il mantenimento di un adeguato livello di biosicurezza possa contribuire alla prevenzione e al controllo della diffusione delle malattie. Il Regolamento (CE) 429/2016 del Parlamento europeo e del Consiglio relativo alle malattie animali trasmissibili, definisce la biosicurezza come *“uno dei principali strumenti di prevenzione a disposizione degli operatori e delle altre persone che lavorano con gli animali per prevenire l'introduzione, lo sviluppo e la diffusione di malattie animali trasmissibili da e all'interno di una popolazione animale”*. L'applicazione di misure di biosicurezza rappresenta dunque un'efficace barriera trasversale, che contribuisce a proteggere la salute degli animali garantendo il mantenimento delle loro condizioni di benessere e contribuendo così anche alla protezione della sanità pubblica.

Nello specifico, a partire dagli anni duemila, lo scenario produttivo avicolo nazionale è stato oggetto di più episodi di Influenza Aviaria (IA) che hanno provocato ingenti danni economici, specie in aree densamente popolate, come nel nord Italia (Veneto, Lombardia ed Emilia Romagna), la quale è stata interessata da diversi episodi epidemici, anche di ampia portata. Per risolvere il problema, la Regione Veneto, in collaborazione col Centro di Referenza Nazionale per l'Influenza Aviaria dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, ha emanato una serie di provvedimenti specifici volti alla riduzione della prevalenza dell'IA e tra le tante altre misure approvate, vi era l'intenzione di definire i

requisiti obbligatori in materia di biosicurezza da applicare alle varie tipologie di allevamento avicolo. Tali misure hanno anticipato quanto poi applicato a livello nazionale con l’Ordinanza Ministeriale del 26 agosto 2005 e successive modifiche ed integrazioni: su tutto il territorio nazionale, sono state stabilite misure di biosicurezza obbligatorie per gli allevamenti avicoli. Queste misure di biosicurezza sono state accorpate in un unico sistema di monitoraggio che prende il nome di “*checklist di categorizzazione del rischio*”, finalizzata al controllo delle biosicurezze in allevamento. La compilazione di queste *checklist* spetta ai Servizi Veterinari delle ASL regionali e per la valutazione del rischio, i SV considerano parametri epidemiologici, condizioni di biosicurezza, dimensioni numeriche dei gruppi di avicoli presenti in azienda, pregresse non conformità e altri criteri ritenuti rilevanti dall’Autorità Competente locale. Nell’ambito delle proprie attività di controllo e avvalendosi delle *checklist* di controllo, i Servizi Veterinari verificano le misure di biosicurezza presenti negli allevamenti avicoli del proprio territorio con frequenza indicata dal Ministero della Salute o dal Servizio Veterinario Regionale, lasciando evidenza documentale al termine di ogni sopralluogo, dove vengono elaborate relazioni scritte in cui sono riportati gli obiettivi, l’attuazione dei parametri oggetto di valutazione, i risultati del controllo, etc. L’esito si considera favorevole quando l’allevamento ispezionato non mostra alcuna non conformità in materia di biosicurezza, mentre se l’esito è sfavorevole vengono riportate le misure correttive sottoforma di prescrizioni da ottemperare in modo da ottenere lo *status* di conformità, motivo per cui l’allevamento in questione viene visitato più volte.

Le *checklist* di controllo della biosicurezza per polli e tacchini da carne, secondo i dati aggiornati all’anno corrente (2022), presentano le stesse voci e sezioni di controllo, non differendo in alcun punto. Le sezioni oggetto di controllo, senza considerare la parte iniziale in cui vengono richiesti i dati anagrafici, sono in tutto 20 e sono classificate come riportato nella Tabella XI.

Tabella XI. Sezioni oggetto di controllo nella *checklist* per la valutazione di biosicurezza [fonte: *checklist* per la valutazione della biosicurezza: tacchini da carne, 2022].

1. Individuazione delle responsabilità;
2. Caratteristiche dell’allevamento;
3. Personale addetto (oltre il titolare);
4. Silos;
5. Parcheggio;
6. Barriere all’ingresso;
7. Attrezzature di pulizia e disinfezione degli automezzi;
8. Zona filtro;
9. Piazzole di carico e scarico dei materiali d’uso e degli animali;
10. Caratteristiche strutturali dell’allevamento;
11. Delimitazioni area allevamento;
12. Attrezzature di pulizia e disinfezione dei locali;

13. Gestione animali;
14. Animali morti;
15. Gestione lettiera vergine;
16. Gestione della lettiera a fine ciclo;
17. Registri;
18. Procedura di derattizzazione e disinfestazione;
19. Altre attività;
20. Stato sanitario (problema per recidive da <i>Salmonella spp.</i>);

Oltre a queste 20 sezioni (ognuna caratterizzata dalle rispettive voci), al termine della *checklist* è possibile inserire “eventuali prescrizioni” nel caso in cui l’allevamento oggetto di monitoraggio non risultasse in linea con le misure di biosicurezza da applicare; in questo caso, il veterinario ufficiale può predisporre un termine minimo entro cui l’allevatore dovrà ottemperare tali prescrizioni fornite in modo da ottenere, al successivo sopralluogo, l’esito favorevole da parte dei Servizi Veterinari, che determinano così il giudizio di conformità dell’allevamento avicolo.

In un’analisi globale per l’applicazione delle misure di biosicurezza al fine di scongiurare la diffusione degli agenti patogeni (*Salmonella*), gli interventi per ridurre il rischio di contaminazione dovrebbero essere però effettuati lungo tutta la catena di produzione, e quindi in incubatoio, in sede di macellazione e lavorazione del prodotto, nei mangimifici, etc.

Le misure di profilassi diretta possono essere associate a misure di profilassi indiretta quali la vaccinazione degli animali.

6.2 Profilassi Vaccinale

La legislazione in vigore sui farmaci veterinari – ivi compresi i vaccini – prevede la sorveglianza e il controllo sulla distribuzione, detenzione e somministrazione da parte dei Servizi Veterinari competenti. Secondo quanto previsto dall’Articolo 15 del Regolamento (CE) n. 2160/2003 del Parlamento europeo e del Consiglio, la Commissione deve prima consultare l’*Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare* (EFSA) per proporre norme su metodi di controllo specifici. Nel 2004, a seguito di una consultazione sull’utilizzo di farmaci veterinari antimicrobici e di vaccini negli avicoli come metodi di controllo della *Salmonella*, l’EFSA ha emesso due pareri distinti, cioè:

- *sull’uso di farmaci veterinari antimicrobici*

L’EFSA non promuove bensì disincentiva l’uso profilattico degli antimicrobici come metodo di controllo della *Salmonella* negli avicoli, in quanto potenziale fonte di rischio per la salute pubblica in

associazione allo sviluppo, selezione e diffusione di ceppi multi-resistenti di *Salmonella*. Con queste considerazioni, il loro utilizzo nei programmi nazionali di controllo viene considerato inopportuno; l'impiego di tali farmaci dovrebbe essere invece subordinato a condizioni di metafilassi, con il loro utilizzo che dovrebbe essere giustificato in anticipo, in modo da poter essere registrato dalle autorità competenti. I farmaci antimicrobici dovrebbero essere prescritti, quindi, come ultima risorsa e solo dopo aver effettuato i test di sensibilità. Possono però essere impiegati al di fuori delle indicazioni di registrazione e solo in circostanze eccezionali autorizzate dai Servizi Veterinari e sotto la supervisione del Centro di Referenza Nazionale, come ad esempio in gruppi di animali che presentano un'infezione da *Salmonella* con segni clinici tali da poter causare inutili sofferenze oppure nella salvaguardia di materiale genetico in gruppi da riproduzione, al fine di ottenere nuovi gruppi esenti da *Salmonella* (Regolamento (CE) n. 1177/2006).

- *sulle vaccinazioni*

L'EFSA vede le vaccinazioni come un provvedimento supplementare volto all'accrescimento della resistenza degli avicoli all'esposizione della *Salmonella*. La vaccinazione permette infatti la riduzione della colonizzazione intestinale e dell'apparato riproduttivo, riducendo l'escrezione fecale, la trasmissione verticale e la contaminazione delle uova. Sebbene non elimini del tutto il rischio di contaminazione, permette però di ridurre il numero di animali infetti o potenzialmente portatori di *Salmonella* e la prevalenza di questa nell'ambiente. Nei programmi di vaccinazione vengono inclusi sia i vaccini vivi che quelli inattivati e in base alla scelta del veterinario aziendale, possono essere somministrati singolarmente o in combinazione. In genere, i vaccini vivi (somministrati in acqua di bevanda, con *spray* o con gocce oculari) inducono una migliore protezione in quanto stimolano sia la risposta cellulo-mediata che quella anticorpale, mentre quelli inattivati (iniettati per via parenterale) inducono principalmente protezione anticorpale. L'utilizzo di questi vaccini è consentito in tutto l'arco vitale degli avicoli (purché i metodi di rilievo riescano a distinguere i ceppi vaccinali da quelli di campo), ad eccezione del periodo di attesa prima della macellazione. Normalmente, la somministrazione di un vaccino può essere effettuata (Huberman *et al.*, 2019):

- entro la prima settimana (pulcini): i vaccini vivi, subito dopo la schiusa, generano una protezione precoce con un effetto valido solo per i sierotipi specie-specifici, mentre è possibile una protezione maggiore dopo una seconda immunizzazione;
- tra le 6 e le 8 settimane (pollastre): solitamente eseguita con vaccini vivi attenuati (due o preferibilmente tre volte). È importante che la prima vaccinazione venga eseguita al più presto,

prima del primo contatto con ceppi di campo, in modo che si possa ottenere il pieno effetto del vaccino. È possibile inoltre aumentare l'immunità con vaccini inattivati;

- tra la 14 e 16 settimana (galline ovaiole e riproduttori): possono essere utilizzati sia vaccini vivi che inattivati, quest'ultimi iniettati per via intramuscolare o sottocutanea. I vaccini inattivati vengono spesso utilizzati nei riproduttori in quando inducono una forte risposta anticorpale nella progenie con effetto protettivo già subito dopo la schiusa, anche se hanno un'efficacia limitata sulla colonizzazione intestinale.

Attualmente, la vaccinazione per il controllo delle salmonelle zoonotiche, in ottemperanza del Regolamento (CE) n. 1177/2006, è consentita per il monitoraggio dei sierotipi rilevanti, anche se non è obbligatoria, e vige il divieto d'utilizzo di vaccini vivi non distinguibili dai ceppi di campo. Un caso eccezione è rappresentato dal ripopolamento con riproduttori o ovaiole di un capannone che nel ciclo precedente ospitava un gruppo positivo per *S. Enteritidis* e/o *Typhimurium* (inclusa la sua variante monofasica): in questo caso, la vaccinazione è resa obbligatoria. La vaccinazione nei confronti della *Salmonella* svolge dunque un importante ruolo nella prevenzione delle salmonelle rilevanti e contribuisce significativamente al raggiungimento degli obiettivi di riduzione della prevalenza stabiliti dall'Unione Europea. Tuttavia, senza la concomitante applicazione di adeguate misure d'igiene, di biosicurezza e controllo, non è possibile ottenere un monitoraggio costante ed efficace della *Salmonella* nelle popolazioni avicole.

6.3 Piani di Controllo

Al fine di conseguire gli obiettivi comunitari definiti dal Regolamento (CE) n. 2160/2003 del Parlamento europeo e del Consiglio, gli Stati membri definiscono programmi di controllo nazionali per le zoonosi e gli agenti zoonotici presenti nell'allegato I. I programmi di controllo nazionali si accertano delle zoonosi e agenti zoonotici conformemente alle norme minime in materia di campionamento, definiscono le responsabilità delle Autorità Competenti e degli Operatori del Settore Alimentare, e indicano le misure da adottare in seguito all'accertamento di zoonosi. In Italia, l'Autorità centrale responsabile della stesura del piano di controllo sanitario nazionale, nonché del coordinamento delle attività previste dallo stesso, è il Ministero della Salute, mentre a livello periferico responsabili dell'attuazione del programma sono i Servizi Veterinari delle aziende sanitarie locali (ASL) regionali. In Italia, per la sorveglianza della *Salmonella* è stato disposto il "Piano Nazionale di Controllo della *Salmonella*" (PNCS). Questi piani di controllo nazionali hanno una durata triennale e vengono attuati in diverse fasi della filiera avicola (dalla produzione primaria di animali, alla trasformazione e

preparazione di prodotti alimentari di origine animale e altre fasi della catena alimentare). Il PNCS si applica a tutte le aziende presenti sul territorio nazionale, ad esclusione degli allevamenti familiari, cioè quelli con una capacità strutturale d'allevamento non superiore a 250 capi i quali vengono allevati per l'autoconsumo. Il PNCS è invece obbligatorio per gli allevamenti avicoli a carattere commerciale che allevano riproduttori, galline ovaiole e polli da carne (*Gallus gallus*) oppure tacchini da riproduzione e da ingrasso (*Meleagris gallopavo*). Il PNCS si basa su uno schema di monitoraggio delle aziende avicole attraverso una serie di campionamenti da effettuarsi su iniziativa dell'allevatore (autocontrollo) e/o controlli ufficiali. Le ispezioni e le visite di controllo sono finalizzate al raggiungimento dell'obiettivo comunitario di riduzione dei sierotipi di *Salmonella* rilevanti per la salute pubblica (Regolamento (CE) n. 2160/2003), che è pari all'1% o meno per i gruppi di riproduttori e di polli da carne *Gallus gallus*, per i tacchini da riproduzione e da ingrasso, e del 2 % o meno per i gruppi di ovaiole in deposizione.

Per ogni indirizzo produttivo, il PNCS riporta specifiche linee guida in materia di tempistiche, sede e matrici oggetto di campionamento. Contestualmente ai polli e ai tacchini da carne, le due categorie produttive condividono diverse analogie nel programma di monitoraggio e campionamento, tanto che entrambi vengono sottoposti a campionamento nella rispettiva ultima fase produttiva, prima della macellazione; i risultati delle analisi devono, chiaramente, essere noti prima che gli animali vengano inviati al macello. Per quanto riguarda, invece, la programmazione dei campionamenti, la Tabella XII riporta schematicamente tutte le informazioni del caso.

Tabella XII. Programmazione dei campionamenti: numerosità del campionamento, frequenza, periodo e luogo del campionamento. Vengono indicati per le due categorie produttive considerate, polli e tacchini da carne, quanti gruppi vengono sottoposti a campionamento e la frequenza, sia in autocontrollo che da parte dei Servizi Veterinari [fonte: Piano nazionale per il controllo delle salmonellosi negli avicoli, 2019-2021].

Tipologia di avicoli	Programmazione dei campionamenti in autocontrollo		Programmazione dei campionamenti ufficiali	
	Gruppi da campionare	Frequenza del campionamento	Gruppi da campionare	Frequenza del campionamento
Polli da carne	TUTTI (tranne gli allevamenti con deroga dov'è previsto un gruppo per ciclo).	entro tre settimane dalla data di macellazione prevista oppure entro sei settimane per gli allevamenti in possesso di deroga nei casi previsti dal Servizio Veterinario (animali con ciclo vitale superiore ad 81 giorni o animali di produzione biologica).	nel 10% degli allevamenti con capacità strutturale uguale o superiore a 5000 polli, un gruppo all'anno. La selezione degli allevamenti e dei gruppi è compiuta dal Servizio Veterinario sulla base della valutazione del rischio.	entro 3 settimane dalla data di macellazione (oppure entro 6 settimane nei casi autorizzati nel PdAA).

Tacchini da ingrasso	TUTTI.	entro tre settimane dalla data di macellazione prevista oppure entro sei settimane per gli allevamenti in possesso di deroga nei casi previsti dal Servizio Veterinario (animali con ciclo vitale superiore ad 100 giorni o animali di produzione biologica).	nel 10% degli allevamenti con capacità strutturale uguale o superiore a 500 animali, un gruppo all'anno. La selezione degli allevamenti e dei gruppi è compiuta dal Servizio Veterinario sulla base della valutazione del rischio.	entro 3 settimane dalla data di macellazione (oppure entro 6 settimane nei casi autorizzati nel PdAA).
----------------------	--------	---	--	--

Sempre in materia di campionamenti, che vengano effettuati in autocontrollo o durante i controlli ufficiali, le matrici utilizzate sono le stesse sia per i polli che per i tacchini da carne (Tabella XIII).

Tabella XIII. Materiali e Tecniche di campionamento [fonte: Piano nazionale per il controllo delle salmonellosi negli avicoli, 2019-2021].

Polli da carne e tacchini da ingrasso				
Tipo campione	n. minimo pool per gruppo	Quantità per singolo pool	Materiale	Metodo di prelievo
Sovrascarpe	2	Un paio di sovrascarpe (due "piedi")	Tessuto assorbente	Umidificare le sovrascarpe con soluzione fisiologica. Indossare i calzari mono uso e <u>sopra questi</u> calzare le sovrascarpe in tessuto assorbente. Calpestare per ciascun paio di sovrascarpe circa il 50% della superficie calpestabile in modo tale da effettuare un campionamento rappresentativo.
Oppure				
Sovrascarpe	1	Un paio di sovrascarpe	Tessuto assorbente	Umidificare le sovrascarpe con soluzione fisiologica. Indossare i calzari mono uso e <u>sopra questi</u> calzare le sovrascarpe in tessuto assorbente. Calpestare circa il 100% della superficie calpestabile in modo tale da effettuare un campionamento rappresentativo.
+				
Polvere	1	100 gr	Non applicabile	Prelevare, eventualmente raschiando con una spatola monouso, la polvere da più punti delle batterie in modo tale da garantire un campione rappresentativo.
		1 tampone	Tampone di tessuto 900 cm ² (quadrato di 30 cm per lato)	Oppure Passare sulle superfici impolverate il tampone di tessuto opportunamente idratato con soluzione fisiologica. Il tessuto deve risultare ben coperto di polvere da ambo i lati.

Una volta effettuato il campionamento, le altre fasi del procedimento proseguono come quanto riportato nel campionamento per sierotipi rilevanti (*S. Infantis*) in gruppi di riproduttori *Gallus gallus*. Nel caso in cui l'esito del campionamento dovesse riportare una positività ma non per salmonelle rilevanti, potrebbe essere disposta un'ulteriore sierotipizzazione al fine di individuare il sierotipo preciso, il tutto previo accordo tra allevatore, veterinario aziendale e Servizi Veterinari. Inoltre, sempre

nel caso in cui venisse rilevata la positività a salmonelle non rilevanti, è comunque resa obbligatoria la compilazione dell'Indagine Epidemiologica (IE).

CAPITOLO 7

OBIETTIVI DELLO STUDIO

Negli allevamenti intensivi, non è infrequente che gli agenti patogeni permangano in allevamento dando così vita ad una serie di diverse problematiche, più o meno importanti, che possono avere una durata protratta nel tempo. Tra questi, la *Salmonella* rappresenta una delle più comuni preoccupazioni nel settore avicolo, in quanto può incidere significativamente sulla salute e sul benessere animale, così come sui tassi di morbilità e mortalità, sulla resa e qualità dei prodotti, etc. La variabilità delle fonti di introduzione e di persistenza ambientale della *Salmonella* in allevamento ostacola l'identificazione dei punti critici di controllo necessari a prevenire l'infezione, motivo per cui l'applicazione di rigorosi protocolli di prevenzione e controllo è essenziale per eradicarla. Per valutare questi programmi di controllo sono disponibili diversi strumenti che valutano la conformità delle biosicurezze negli allevamenti avicoli. A tale scopo, sono utilizzate le *checklist* per la biosicurezza fornite dal Ministero della Salute, con cui, grazie ai sopralluoghi dei veterinari ufficiali, viene verificata la corretta implementazione delle misure di biosicurezza in allevamento. Proprio la biosicurezza è un punto cruciale nell'allevamento avicolo, in quanto rappresenta la prima linea di difesa contro l'ingresso e la diffusione di agenti patogeni (tra cui anche *Salmonella*).

Con il presente studio si intende valutare la presenza di *Salmonella*, in particolare *Salmonella enterica* sottospecie *enterica* sierotipo Infantis, negli allevamenti di polli da carne (*Gallus gallus*) e tacchini da ingrasso (*Meleagris gallopavo*) nel Nord Est dell'Italia, nel territorio del basso vicentino (Regione Veneto) e il grado di implementazione delle misure di biosicurezza nei medesimi allevamenti. La decisione di focalizzarsi su un unico sierotipo – *S. Infantis* – deriva dal fatto che oltre ad essere un sierotipo emergente, si distingue da molti altri per due interessanti peculiarità: la velocità di diffusione e l'elevata persistenza ambientale, caratteristiche che rappresentano una vera e propria sfida per gli allevamenti avicoli in termini di gestione delle biosicurezze.

CAPITOLO 8

MATERIALI E METODI

8.1 Area di Studio

Questa tesi è incentrata sulla valutazione delle biosicurezze e sulla presenza di *S. Infantis* in allevamenti intensivi di polli e tacchini da carne in un'area del Nord Italia, in particolare l'area di competenza dell'Aulss 8 Berica, in provincia di Vicenza (Regione Veneto).

In base ai dati forniti dal Sistema Informativo Veterinario, in data attuale, l'area coperta dall'Aulss 8 Berica consiste di 319 allevamenti avicoli operanti, con una media di 3.982.894 capi allevati (statistiche - Sistema Informativo Veterinario - Banca Dati Nazionale, dati aggiornati al 15/10/2022). Lo scenario nazionale dello sviluppo dei diversi indirizzi produttivi, come già accennato, ben si riflette a livello regionale, ma anche provinciale, tanto che di questi 319 allevamenti quelli che allevano polli da carne sono 107 su 153 allevamenti totali di *Gallus gallus* (i rimanenti allevano soggetti da riproduzione, da svezzamento e quelli dediti alla produzione di uova da consumo) con 3.136.758 capi allevati, mentre gli allevamenti di tacchini da ingrasso sono 49 su un totale di 52 allevamenti di *Meleagris gallopavo* (i restanti si occupano dei soggetti riproduttori) con 523.952 di capi allevati (statistiche - Sistema Informativo Veterinario - Banca Dati Nazionale, dati aggiornati al 15/10/2022).

8.2 Raccolta dei dati

Sono stati analizzati 92 allevamenti, di cui $n = 60$ di polli da carne e $n = 32$ di tacchini da ingrasso. I dati utilizzati in questo studio sono stati acquisiti dall'Aulss 8 Berica, e nella fattispecie, sono stati raccolti dai database interni – sia cartacei che informatizzati – del Servizio Veterinario di Sanità animale. Dato l'obiettivo di studio della tesi, la raccolta dei dati ha richiesto due fasi separate: la prima focalizzata sull'identificazione delle positività da *Salmonella* riscontrate nel corso del 2021 nelle aziende di polli e tacchini da carne del territorio, e in seguito l'analisi di alcune voci in materia di biosicurezza a partire dalle *checklist* ministeriali del 2019, 2020 e 2021.

I dati relativi allo stato sierologico degli allevamenti nei confronti dell'infezione da salmonelle durante il 2021 derivano dai monitoraggi effettuati sia in autocontrollo che in sede ufficiale da parte dei Servizi Veterinari, secondo le diverse modalità stabilite dal Piano Nazionale di Controllo per la Salmonellosi

(PNCS). Tutti i 92 isolati di *Salmonella* sono stati sottoposti a tecniche di tipizzazione applicando le procedure di tipizzazione secondo il metodo Kaufmann-White previste dalla normativa ISO 6575-2002.

Ai fini di questa tesi e per agevolare l'analisi delle misure di biosicurezza applicate, non tutte le sezioni e le relative domande della *checklist* sono state prese in esame: è stata fatta una semplificazione generale prendendo in considerazione solamente i parametri potenzialmente correlabili alla presenza o meno di salmonelle in allevamento, vale a dire solo quelli con rilevanza maggiore ai fini della ricerca. Inoltre, le varianti considerate sono state raggruppate in sezioni, come il numero di gruppi presenti al momento del sopralluogo, la capacità complessiva d'allevamento, la zona filtro, i detergenti e disinfettanti, etc. Delle 20 sezioni totali presenti nelle *checklist*, quelle relative ai silos, ai sistemi di controllo degli accessi, alla delimitazione dell'area di allevamento, alle aree di stoccaggio dei materiali d'uso, alla gestione degli animali e agli animali morti, ai registri e alla procedura di derattizzazione e disinfestazione, non sono state oggetto di studio. Infine, per garantire l'anonimato e nel rispetto della *privacy*, sono stati omessi tutti i dati sensibili relativi all'anagrafe e all'individuazione delle responsabilità. Le sezioni oggetto di analisi sono riportate nella Tabella XIV.

Tabella XIV. Sezioni e relative voci della *checklist* prese in esame per la valutazione delle biosicurezze in allevamento [fonte: Piano Nazionale per il Controllo delle Salmonellosi negli avicoli, 2019-2021].

Sezioni considerate	Motivo dell'inclusione
Personale addetto (oltre al titolare): <ul style="list-style-type: none"> - personale familiare non dipendente; - personale esterno dipendente; - personale esterno qualificato non dipendente; 	Il personale che opera all'interno dell'azienda può venire – direttamente o indirettamente – a contatto con gli animali, e influire nello <i>status</i> sanitario degli animali poiché può potenzialmente veicolare pericoli biologici. Idealmente, il personale dovrebbe essere correttamente formato in materia di biosicurezze e dovrebbe limitare i contatti con altre realtà zootecniche avicole, evitando di detenere pollame.
Attrezzature di pulizia e di disinfezione degli automezzi: viene indicato se l'area di disinfezione dei mezzi possiede un fondo impermeabile, se è omogenea e di dimensioni adeguate; inoltre, si valuta il tipo di impianto di disinfezione presente (fisso o a pompa), oltre che alla sua eventuale automatizzazione.	È fondamentale mettere in pratica un'adeguata pulizia degli automezzi all'ingresso dell'allevamento, in quanto i veicoli esterni – specie se in contatto con altri allevamenti avicoli – può introdurre agenti patogeni dall'esterno.
Zona filtro: accertata la sua presenza, ne viene valutata la conformità ed idoneità.	Essendo concepita come un passaggio obbligato per chi entra in azienda, è necessario assicurare elevati <i>standard</i> di igiene, in quanto eventuali agenti patogeni potrebbero essere trasportati all'interno dell'allevamento.
Piazzole di carico e di scarico dei materiali d'uso e degli animali: ne viene supervisionata la conformità e fornita l'idoneità sulla base di una valutazione complessiva di più fattori, come la possibilità di lavare e disinfettare le superfici, la loro omogeneità e la loro manutenzione.	Al fine di ridurre la possibilità di contagio, è necessario che tali aree siano localizzate direttamente in corrispondenza degli ingressi dei capannoni e che la superficie non presenti discontinuità dove potrebbero accumularsi detriti o sporczia.
Caratteristiche strutturali dell'allevamento: vengono valutate la presenza e l'idoneità della dogana danese, oltre che l'adeguatezza dei diversi locali dell'allevamento; viene	I locali dell'allevamento dovrebbero presentare caratteristiche strutturali tali da garantire un livello igienico-

infine valutato il sistema di aereazione utilizzato (naturale e/o forzata).	sanitario elevato in modo da prevenire l'ingresso e la circolazione di agenti patogeni.
Manutenzione delle aree circostanti i capannoni: viene verificato che il perimetro esterno dei capannoni sia in uno stato di manutenzione idonea, senza accumuli di foglie e detriti, che l'erba sia tagliata, che l'area non venga utilizzata come deposito di attrezzi, materiali, etc.	Le aree esterne all'allevamento dovrebbero essere mantenute in modo idoneo, libere da oggetti, attrezzi e materiali non collegati all'attività di allevamento, in modo da impedire che vi si annidino animali infestanti.
<p>Attrezzatura di pulizia e disinfezione dei locali:</p> <ul style="list-style-type: none"> - idropulitrice; - pompa a trattore o sommersa; - impianto fisso a pressione o normalmente utilizzato per l'irrigazione; <p>Inoltre, viene indicato il tipo di detergente e/o disinfettante impiegato.</p>	La gestione igienico-sanitaria degli ambienti, dei locali, delle superfici e dei materiali è un punto chiave nella prevenzione e nella lotta ai pericoli biologici.
Gestione della lettiera vergine: durante il ciclo vengono valutate le operazioni di fresatura e di aggiunta di lettiera.	La fresatura e l'aggiunta di lettiera sono un potenziale rischio d'introduzione di <i>Salmonella</i> in quanto è previsto l'accesso al locale da parte di materiale esterno.
<p>Gestione della lettiera a fine ciclo: viene verificato che la lettiera a fine ciclo venga stoccata in uno spazio dedicato e coperto, oltre alle modalità con cui la lettiera viene smaltita:</p> <ul style="list-style-type: none"> - smaltimento attraverso una ditta autorizzata; - smaltimento agronomico in campi di proprietà; - smaltimento con cessione a terzi; 	La lettiera a fine ciclo (pollina) dev'essere correttamente gestita e smaltita in quanto potenziale fonte di pericoli biologici che possono essere introdotti in allevamento (possono, per giunta, rappresentare una fonte di esposizione per gli allevamenti confinanti attraverso animali selvatici che possono fungere da veicoli).
Altre attività: eventuali attività oltre alla conduzione dell'allevamento avicolo come attività agricole, venatorie o la conduzione di altri allevamenti (della stessa o di altre specie).	Altre attività al di fuori della mera conduzione dell'allevamento vengono considerate come "attività collaterali", motivo per cui si esegue un'analisi del rischio che ne tenga conto.

8.3 Analisi dei dati

Tutti i dati oggetto di studio sono stati inseriti in due database Excel® (Microsoft Corporation), uno per i polli e uno per i tacchini da carne. Una volta inseriti nei database, i dati sono stati analizzati tramite R studio (RStudio, 2022.07.1 Build 554, © 2009-2022 RStudio, PBC) per realizzare un'analisi statistica di tipo descrittivo delle variabili delle due distinte popolazioni.

I dati inseriti nei database sono stati convertiti in variabili numeriche a cui è stata data una risposta espressa sottoforma di codice binario, dove le risposte positive "SI" equivalgono ad "1", mentre le risposte negative "NO" a "0". Mentre la maggior parte delle domande richiede una risposta "SI / NO", solo un ristretto numero prevede risposte aperte descrittive. I dati "missing" non sono stati considerati ai fini del calcolo percentuale: ciò significa che, per alcune variabili, il totale degli allevamenti rispondenti non coincide con quello dei totali negativi o positivi, ma è inferiore. Inizialmente, gli allevamenti sono stati valutati in base al loro stato sierologico (presenza / assenza di *Salmonella*), rispondendo al quesito «L'allevamento in questione nel corso del 2021 è stato colpito dall'infezione da

Salmonella?». Sulla base dei dati presenti nei database del Servizio Veterinario a seguito dei campionamenti disposti dal PNCS, sono stati ottenuti due primi risultati:

- “allevamenti positivi”: risposta “SI” al quesito, codificati con “1”;
- “allevamenti negativi”: risposta “NO” al quesito, codificati con “0”;

CAPITOLO 9

RISULTATI E DISCUSSIONE

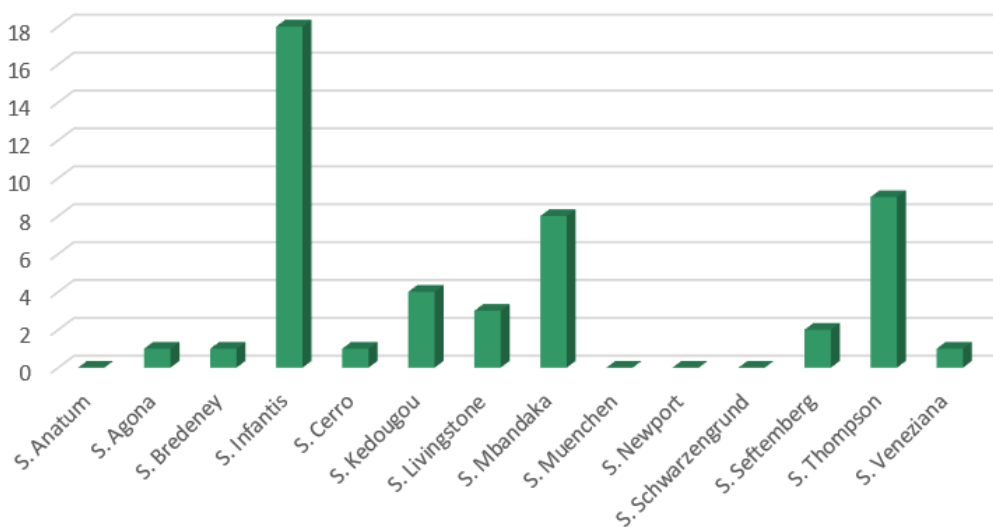
Facendo riferimento agli esiti dei campionamenti disposti dal PNCS, sia in autocontrollo che durante i controlli ufficiali, delle 92 aziende avicole oggetto di studio, più della metà ($n = 57$; 61,95%) sono risultate positive a *Salmonella*, di cui rispettivamente 33 su 60 allevamenti di polli da carne (55,00%) e 24 su 32 allevamenti di tacchini da ingrasso (75,00%). Proseguendo con l'analisi delle positività rilevate, è stato possibile riscontrare diversi sierotipi di *Salmonella* e in base alla presenza di uno o più sierotipi, i casi di positività sono stati così raggruppati:

- *Salmonella* Infantis;
- *Salmonella* Infantis e altri sierotipi;
- Altri sierotipi diversi da *S. Infantis*;
- Sierotipi non tipizzati;

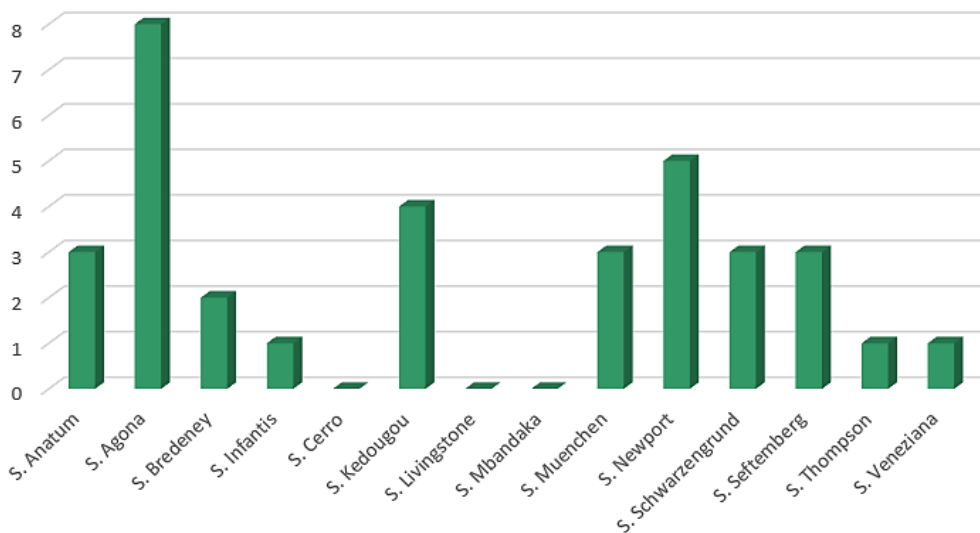
Sulla base dei dati ottenuti alla tipizzazione e non prendendo in considerazione *S. Enteritidis* e Typhimurium (sierotipi rilevanti per la salute pubblica), è stata riscontrata la presenza di più sierotipi per entrambe le categorie produttive: *S. Infantis*, *S. Anatum*, *S. Agona*, *S. Bredeney*, *S. Cerro*, *S. Kedougou*, *S. Livingstone*, *S. Mbandaka*, *S. Muenchen*, *S. Newport*, *S. Schwarzengrund*, *S. Seftemberg*, *S. Thompson* e *S. Veneziana*. Nel complesso, la popolazione di polli da carne ha rivelato una netta prevalenza del sierotipo Infantis, seguito da *S. Thompson* e *S. Mbandaka*, mentre i tacchini da ingrasso hanno dimostrato alte positività per *S. Agona*, seguita dai sierotipi Newport e Kedougou. Questi risultati riflettono quanto riportato in letteratura in termini di prevalenza per ciascun indirizzo produttivo (Morningstar-Shaw *et al.*, 2015; Enter-Vet, 2019). Ai Grafici III e IV è possibile osservare la rappresentazione grafica dei sierotipi rilevati per ciascuna popolazione oggetto di studio (polli da carne e tacchini da ingrasso) risultata positiva ai campionamenti.

Grafici III e IV. Distribuzioni dei sierotipi rilevati per ciascuna popolazione oggetto di studio risultata positiva ai campionamenti (rispettivamente polli da carne e tacchini da ingrasso). Le rappresentazioni si basano sul numero di volte in cui ogni sierotipo è stato riscontrato.

Sierotipi riscontrati nella popolazione positiva (n = 33) di broiler



Sierotipi riscontrati nella popolazione positiva (n = 24) di tacchini

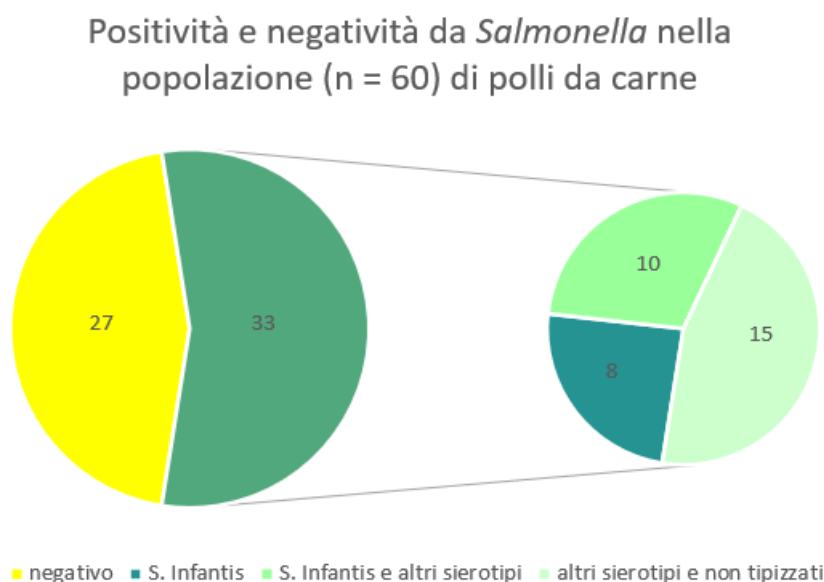


Nello specifico, su un totale di **n = 60** allevamenti di polli da carne analizzati, **n = 33** hanno presentato positività a *Salmonella*. In seguito a tipizzazione, degli allevamenti positivi:

- **n = 8** erano positivi a solo *S. Infantis*;
- **n = 10** erano positivi a *S. Infantis* e altri sierotipi;
- **n = 15** erano positivi ad altri sierotipi, escluso *S. Infantis*, oppure non è stato possibile ottenere un riscontro alla tipizzazione (di questi ultimi, **n = 4** non sono stati tipizzati e **n = 11** erano altri sierotipi).

Al Grafico V è possibile osservare una rappresentazione grafica dei risultati ottenuti in relazione alla distribuzione degli allevamenti di polli da carne negativi e positivi a *Salmonella*.

Grafico V. Rappresentazione grafica della distribuzione di allevamenti negativi e positivi a *Salmonella* nella popolazione dei polli da carne ($n = 60$). Relativamente ai soli allevamenti positivi ($n = 33$), è stato possibile ottenere una distinzione della tipologia di positività ottenuta, suddividendola nei tre gruppi definiti in precedenza.

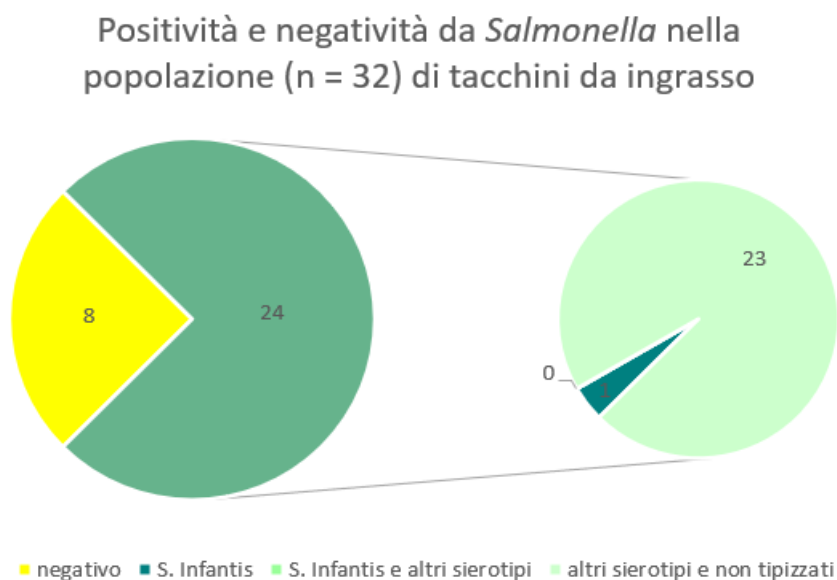


Per quanto riguarda i tacchini da ingrasso, invece, su un totale di **n = 32** allevamenti, **n = 24** sono risultati positivi a *Salmonella*. In seguito a tipizzazione, è risultato che degli allevamenti positivi:

- **n = 1** era positivo a solo *S. Infantis*;
- **n = 0** erano positivi a *S. Infantis* e altri sierotipi;
- **n = 23** erano positivi ad altri sierotipi, escluso *S. Infantis*, oppure non è stato possibile ottenere un riscontro alla tipizzazione (di questi ultimi, **n = 0** non sono stati tipizzati e **n = 23** erano altri sierotipi).

Al Grafico VI è possibile osservare una rappresentazione grafica dei risultati ottenuti in relazione alla distribuzione degli allevamenti di tacchini da ingrasso negativi e positivi a *Salmonella*.

Grafico VI. Rappresentazione grafica della distribuzione di allevamenti negativi e positivi a *Salmonella* nella popolazione dei tacchini da ingrasso (n = 32). Relativamente ai soli allevamenti positivi (n = 24), è stato possibile ottenere una distinzione della tipologia di positività ottenuta, suddividendola nei tre gruppi indicati.



I dati relativi al “numero di gruppi presenti in allevamento al momento del campionamento” e la “capacità strutturale” sono stati raccolti attraverso la Banca Dati Nazionale (BDN). Di seguito, quanto riscontrato nei polli e nei tacchini da carne per ciascuna variabile.

- *Numero di gruppi presenti in allevamento al momento del campionamento*

Dalla definizione fornita nel PNCS, i gruppi altro non sono che un “insieme di animali allevati nello stesso ciclo (quindi con medesima data di accasamento) nello stesso locale o recinto (per convenienza chiamato capannone). [...]”. Secondo i dati raccolti dalla BDN, in entrambe le popolazioni avicole il numero di gruppi di animali allevati sembra avere una grossa rilevanza nella positività a *Salmonella*: considerando gli allevamenti risultati positivi, quelli che hanno fornito livelli maggiori di positività erano quelli con un numero limitato di gruppi al momento del campionamento. Nella Tabella XV vengono riportati i valori numerici e percentuali degli allevamenti di polli da carne e tacchini da ingrasso relativamente al numero di gruppi presenti al momento del campionamento, considerando tre densità di gruppi (meno di 5 gruppi, gruppi compresi tra 5 e 10 gruppi, più di 10 gruppi).

Tabella XV. Valori numerici (n) e percentuali (%) di allevamenti di polli e tacchini da carne positivi e negativi a *Salmonella* in relazione al numero di gruppi presenti in allevamento al momento del campionamento, considerando tre densità di gruppi (meno di 5 gruppi, gruppi compresi tra 5 e 10, più di 10 gruppi). Gli allevamenti positivi vengono indicati dal simbolo “+”, mentre quelli negativi col simbolo “-”.

Numero “x” di gruppi durante il campionamento	Allevamenti di polli da carne				Allevamenti tacchini da ingrasso			
	+	+	-	-	+	+	-	-
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
x < 5 gruppi	27	81,82%	22	95,65%	20	83,33%	6	75,00%
5 ≤ x ≤ 10 gruppi	5	15,15%	1	4,35%	4	16,67%	2	25,00%
x > 10 gruppi	1	3,03%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%

Questo rilievo potrebbe trovare una sua motivazione nel fatto che negli allevamenti intensivi – principalmente per evitare la diffusione di eventuali agenti patogeni, ma anche per altre necessità (allevare nello stesso ambiente animali di sesso opposto o di linee genetiche differenti) – vengono creati più gruppi controllati di animali in modo da separarli tra loro; nel caso in cui vengano creati meno gruppi, aumenta la probabilità di contaminazione tra questi in quanto aumenta il contatto fra gli animali e la condivisione di contaminanti (ad esempio mangime, zone della lettiera umida o bagnata con acqua contaminata ed estese ai gruppi limitrofi, etc.) (Opara *et al.*, 1992). Analogamente, anche gli allevamenti con percentuali maggiori di negatività a *Salmonella* presentavano un numero limitato di gruppi al momento del campionamento; questo fatto potrebbe essere giustificato da una maggiore attenzione nel monitoraggio da parte degli operatori nel mantenere separati i diversi gruppi.

- Capacità strutturale

Alla Tabella XVI è possibile osservare i valori numeri e percentuali degli allevamenti di polli da carne e tacchini da ingrasso positivi e negativi a *Salmonella* in relazione alla capacità strutturale, considerando tre gruppi di capacità (capacità inferiori alle 50.000 unità, capacità comprese tra le 50.000 e le 100.000 unità, capacità superiori alle 100.000 unità di capi allevati).

Tabella XVI. Valori numerici (n) e percentuali (%) di allevamenti di polli e tacchini da carne positivi e negativi a *Salmonella* in relazione alla capacità strutturale, considerando tre gruppi di capacità (capacità inferiori alle 50.000 unità, capacità comprese tra le 50.000 e le 100.000 unità, capacità superiori alle 100.000 unità di capi allevati). Gli allevamenti positivi vengono indicati dal simbolo “+”, mentre quelli negativi col simbolo “-”.

Capacità “x” di allevamento al momento del campionamento	Allevamenti di polli da carne				Allevamenti tacchini da ingrasso			
	+	+	-	-	+	+	-	-
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
x < 50.000 unità	12	36,36%	21	77,78%	24	100,00%	8	100,00%
50.000 ≤ x ≤ 100.000 unità	12	36,36%	3	11,11%	0	0,00%	0	0,00%
x > 100.000 unità	9	27,27%	3	11,11%	0	0,00%	0	0,00%

Analogamente al numero di gruppi presenti al momento del campionamento, anche la capacità strutturale dell'allevamento sembra giocare un ruolo fondamentale nella presenza della *Salmonella*: infatti, quanto più alta è la densità di animali presente nell'allevamento, maggiore sarà la probabilità di diffusione degli agenti patogeni, e viceversa. La positività a *Salmonella* legata ad alte densità d'allevamento, può trovare la sua spiegazione nel seguente fenomeno: sembrerebbe, infatti, che le alte densità d'allevamento vadano a determinare un aumento dei livelli ematici degli ormoni neuroendocrini dello stress, provocando una depressione delle difese immunitarie ed esponendo gli animali all'infezione da parte dell'agente patogeno (*Salmonella*) (*Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline survey on the prevalence of Salmonella in turkey flocks, in the EU, 2006-2007: Part B: factors related to Salmonella flock "prevalence and distribution of Salmonella serovars*). All'opposto, gli allevamenti risultati negativi a *Salmonella* ben si distinguevano dai positivi per una densità d'allevamento più contenuta, a rimarcare l'importanza della densità in allevamento nell'ambito della trasmissione della *Salmonella*.

Nonostante i dati riscontrati nelle popolazioni di polli e tacchini da carne risultino apparentemente opposti tra loro, essi rispecchiano i sistemi produttivi adottati dalla filiera avicola italiana: infatti, mentre l'allevamento dei polli da carne vede una distribuzione pressoché omogenea delle positività da *Salmonella* in tutti e tre i gruppi di densità dei capi allevati, gli allevamenti di tacchini da ingrasso adottano con maggior frequenza numerosità ridotte, risultando più concentrati sulle fasce da 10.000-25.000 capi allevati, fino ad un massimo di 50.000 unità e non oltre (nella fascia al di sopra delle 50.000 unità, infatti, non è stato rilevato alcun allevamento), scelta che trova le sue motivazioni in un ciclo produttivo più lungo (circa 100 giorni per le femmine e 120 giorni per i maschi) e nella mole maggiore degli animali (circa 9 kg per le femmine e 20 kg per i maschi a fine ciclo) (*"L'avicoltura da carne con focus Veneto"*, Osservatorio Economico Agroalimentare, Veneto Agricoltura, 2020). L'unico dato rilevante per gli allevamenti risultati positivi a *S. Infantis* e ad altri sierotipi, è che gli allevamenti di polli da carne, in relazione alla capacità strutturale, hanno riscontrato una percentuale maggiore di positività (44,44%) rispetto al totale degli allevamenti positivi a *Salmonella* (27,27%) per capacità strutturali superiori alle 100.000 unità di allevamento.

In merito alla *checklist* ministeriale usata per il rilievo delle misure di biosicurezze applicate in allevamento, come riportato alla sezione 8.2 “*Raccolta dei dati*”, è stata fatta una semplificazione generale considerando solamente le variabili potenzialmente correlabili alla presenza o meno di salmonelle in allevamento. Le sezioni oggetto di studio sono state le seguenti.

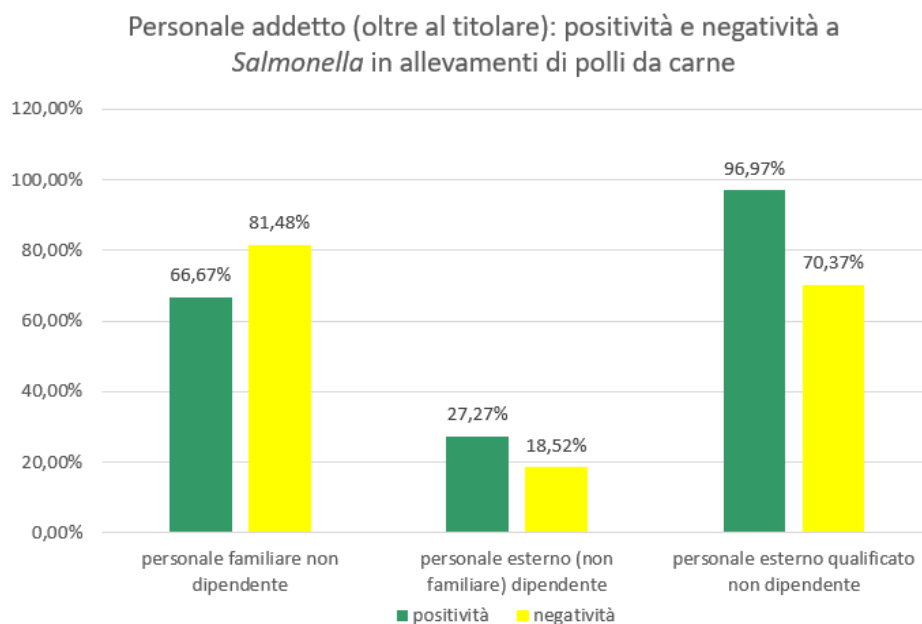
1. *Personale addetto (oltre al titolare)*

Il personale che opera all’interno dell’azienda può venire – direttamente o indirettamente – a contatto con gli animali allevati e influenzare il loro *status* sanitario. Oltre al titolare, le *checklist* fornite dal Ministero della Salute, identificano altre figure professionali che operano in allevamento, vale a dire:

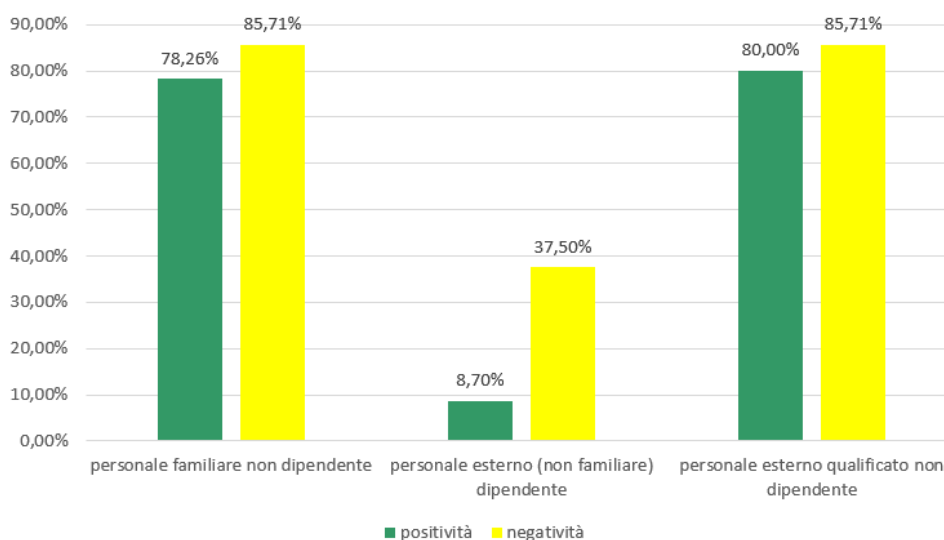
- personale familiare non dipendente;
- personale esterno (non familiare) dipendente;
- personale esterno qualificato non dipendente;

Ai Grafici VII e VIII viene riportata la rappresentazione grafica delle positività e negatività a *Salmonella* negli allevamenti di polli da carne e tacchini da ingrasso relative al personale addetto, oltre al titolare, per le tre classi di riferimento.

Grafici VII e VIII. Rappresentazioni grafiche delle positività e negatività a *Salmonella* negli allevamenti di polli e tacchini da carne relative al personale addetto, oltre al titolare, per le tre classi di riferimento (personale familiare non dipendente, personale esterno non familiare dipendente, personale esterno qualificato non dipendente).



Personale addetto (oltre al titolare): positività e negatività a *Salmonella* in allevamenti di tacchini da ingrasso



In generale, è possibile notare l’analogia tra gli allevamenti positivi e negativi di polli e tacchini da carne nel servirsi di manodopera familiare non dipendente, con percentuali elevate. Questo fatto può essere spiegato dalla consuetudine, presente a livello nazionale, secondo cui – pur facendo parte della filiera avicola integrata verticalmente – la conduzione dell’allevamento è gestita dal titolare, col contributo della famiglia. Più nello specifico, è possibile notare come gli allevamenti negativi a *Salmonella* evidenzino percentuali maggiori di manodopera familiare rispetto ai positivi. Per quanto riguarda, invece, il personale esterno (dipendente e non), si fa riferimento a squadre di carico, vaccinatori, etc. In questo caso, gli allevamenti di polli e tacchini da carne hanno mostrato una tendenza opposta.

- polli da carne: tra le aziende che allevano polli da carne, la maggior parte di quelle che si avvalgono di manodopera esterna, è risultata positiva a *Salmonella* e ciò può essere ricondotto alle operazioni che implicano un di contatto diretto con gli animali, come ad esempio il carico manuale degli animali nei camion pre-macellazione; inoltre, specialmente per il personale esterno non dipendente, il rischio di veicolare *Salmonella* o qualsiasi altro agente infettivo, aumenta sensibilmente data la natura intrinseca del lavoro che porta ad operare in più allevamenti avicoli.
- tacchini da ingrasso: tra le aziende che allevano tacchini da ingrasso, la maggior parte di quelle che usufruiscono della manodopera di personale esterno sono risultate negative a *Salmonella*; ciò può dipendere dal fatto che gli operatori esterni non entrano direttamente in contatto con gli animali (se non in certi casi), in quanto nelle operazioni di carico pre-macellazione – visto il peso notevole degli animali – si predilige il carico automatico con l’utilizzo della macchina

carica-tacchini che limita il contatto con gli animali; un'altra motivazione potrebbe essere che il tra manodopera esterna ed animali è limitato dal fatto che molti allevamenti di tacchini sono mono-sesso, e non dovendo suddividere gli animali al carico, vengono caricati tutti insieme.

2. *Area di disinfezione dei mezzi con fondo impermeabile, omogeneo e di dimensioni adeguate e impianto di disinfezione fisso e a pompa*

Qualora sia necessario l'ingresso di automezzi all'interno dell'allevamento, diviene obbligatorio applicare le corrette pratiche di disinfezione in modo da prevenire l'introduzione di agenti patogeni dall'esterno. Per questo è fondamentale che gli allevamenti assicurino la presenza di adeguate aree di disinfezione dei mezzi di trasporto. Secondo quanto riportato dal PNCS, l'area di disinfezione dovrebbe essere “[...] un'area dedicata appositamente alle operazioni di disinfezione degli automezzi dotata di fondo impermeabile, omogeneo e di dimensioni adeguate (larghezza minima asse automezzi pesanti) [...]”. Gli allevamenti avicoli esaminati sono risultati in linea con quanto previsto dal PNCS, tanto che pure gli allevamenti di polli e tacchini da carne positivi a *Salmonella* hanno soddisfatto i requisiti richiesti, evidenziando valori estremamente elevati di conformità; è inoltre interessante notare come la percentuale di allevamenti di polli positivi a *Salmonella* rispetto a quelli negativi dello stesso indirizzo produttivo, abbia fornito valori di conformità maggiori. Alla Tabella XVII vengono riportati i valori numerici e percentuali di allevamenti di polli da carne e tacchini da ingrasso positivi e negativi a *Salmonella* in relazione alla conformità dell'area di disinfezione dei mezzi.

Tabella XVII. Valori numerici (n) e percentuali (%) di allevamenti di polli e tacchini da carne positivi e negativi a *Salmonella* in relazione alla conformità dell'area di disinfezione dei mezzi (fondo impermeabile, omogeneo e di dimensioni adeguate). Gli allevamenti positivi vengono indicati dal simbolo “+”, mentre quelli negativi col simbolo “-”.

Conformità dell'area di disinfezione	Allevamenti di polli da carne				Allevamenti tacchini da ingrasso			
	+	+	-	-	+	+	-	-
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
	29	87,88%	22	81,84%	23	95,83%	8	100,00%

Per quanto riguarda la disinfezione degli automezzi, per prevenire o quantomeno limitare l'ingresso di agenti patogeni, vengono utilizzati apparati di disinfezione posizionati all'ingresso dell'allevamento, in modo da rendere obbligatorie le pratiche di disinfezione prima dell'accesso in allevamento. I sistemi di disinfezione utilizzati sono principalmente due: sistemi di disinfezione fissa e a pompa, quest'ultimo non più accettato dalla normativa italiana che, con l'allegato A di cui al D.M. 13/12/2018, stabilisce come “a partire dal 1° gennaio 2020 tutti gli allevamenti avicoli intensivi devono essere dotati di impianto fisso per la disinfezione degli automezzi”. Sulla base dei dati raccolti (*checklist* dal 2019 al

2021), tutti gli allevamenti (positivi e negati a *Salmonella*) di entrambi gli indirizzi produttivi trovano un riscontro positivo con quanto disposto dal D.M. 13/12/2018 (obbligo di impianto fisso in modo da implementare l'efficacia della disinfezione), evidenziando valori maggiori rispetto all'utilizzo dell'impianto a pompa. È possibile notare un dato interessante per gli allevamenti di polli da carne relativamente alla disinfezione fissa: gli allevamenti positivi a *Salmonella*, infatti, hanno rivelato un utilizzo maggiore di questo tipo di impianto rispetto agli allevamenti negativi, fatto probabilmente dovuto al tentativo da parte degli allevamenti positivi di prevenire ulteriori episodi di contaminazione (sulla base di altre positività da *Salmonella* rilevate) dati i frequenti spostamenti dei mezzi di trasporto. Tale supposizione assume una valenza maggiore se si considera che gli allevamenti di polli da carne positivi a sola *S. Infantis* hanno rilevato una presenza del 94,44% di impianti di disinfezione fissa (vedi Allegato 2). Nella Tabella XVIII vengono riportati i valori riscontrati.

Tabella XVIII. Valori numerici (n) e percentuali (%) di allevamenti di polli e tacchini da carne positivi e negativi a *Salmonella* in base all'utilizzo dell'impianto di disinfezione fisso o all'impianto di disinfezione a pompa. Gli allevamenti positivi vengono indicati dal simbolo "+", mentre quelli negativi col simbolo "-".

Impianto di disinfezione	Allevamenti di polli da carne				Allevamenti tacchini da ingrasso			
	+	+	-	-	+	+	-	-
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
Disinfezione fissa	28	84,85%	15	60,00%	17	70,83%	6	75,00%
Disinfezione a pompa	6	18,18%	10	40,00%	7	29,16%	2	25,00%

3. Zona filtro e dogana danese

Secondo l'allegato A del D.M. 13/12/2018 la zona filtro dovrebbe essere "[...] dotata di spogliatoio, lavandino e detergenti. Tale zona dev'essere mantenuta pulita e in ordine e dotata di calzature e tute specifiche. L'accesso all'area di allevamento deve avvenire esclusivamente attraverso tale zona filtro [...]". La zona filtro funge da passaggio obbligato per chiunque visiti l'allevamento; a tal proposito, è necessario assicurare igiene e disinfezione frequenti di questo locale, in quanto l'assenza di adeguate misure igieniche preventive potrebbe favorire la potenziale diffusione di microrganismi patogeni.

La dogana danese, invece, consiste in una barriera fisica fissa, vale a dire una panca lavabile e disinfettabile che blocca l'ingresso al capannone; in questo modo l'operatore è obbligato a sedersi, lasciare i calzari all'esterno, girarsi verso l'interno e indossare i calzari dedicati al singolo capannone. Essendo queste due strutture fondamentali nel garantire una barriera protettiva (prima la zona filtro e poi la dogana danese), la loro presenza è resa obbligatoria a partire dal 1° gennaio 2020, a seguito dei diversi episodi di Influenza Aviaria. Sulla base di queste considerazioni, gli allevamenti di tacchini

hanno dimostrato il 100,00% della presenza della zona filtro, a discapito di valori leggermente minori negli allevamenti di polli positivi e negativi a *Salmonella* (rispettivamente, del 90,91% e del 88,89%) (vedi Allegato 1 e 3). Relativamente all' idoneità della zona filtro e della dogana danese:

- zona filtro: la sua conformità si è attestata su valori del 70,00-80,00%, dove gli allevamenti di tacchini hanno evidenziato percentuali maggiori rispetto a quelli dei polli da carne (rispettivamente, per i tacchini il 79,19% nei positivi e 75,00% nei negativi, mentre per i polli un 72,73% nei positivi e 70,37% nei negativi).
- dogana danese: mentre negli allevamenti dei tacchini da carne la sua presenza ed idoneità raggiunge i valori massimi (100,00%), nei polli si registrano anche in questo caso valori inferiori, con un 93,94% negli allevamenti positivi e un 81,48% in quelli negativi.

Anche per la zona filtro e la dogana danese, risultano percentuali maggiori di idoneità negli allevamenti che hanno riscontrato la presenza di *Salmonella*, ad indicare, presumibilmente, il tentativo di arginare la possibilità di ulteriori contaminazioni da *Salmonella* in allevamento.

4. Presenza di piazzole di carico/scarico dei materiali d'uso e degli animali

Le aree dedicate al carico e allo scarico di animali e materiali d'uso dovrebbero presentarsi in uno stato tale da agevolare la pulizia e la disinfezione, tanto che la superficie delle piazzole non dovrebbe presentare discontinuità tali da impedirne un'adeguata manutenzione (crepe, anfrattuosità, etc.). Anche in questo caso i dati rilevati evidenziano una situazione opposta tra gli allevamenti di polli e tacchini da carne: i polli infatti, vedono percentuali maggiori di conformità nelle piazzole degli allevamenti esenti da *Salmonella* (61,54%) rispetto a quelli positivi (48,48%), mentre la situazione nei tacchini appare l'opposto, con gli allevamenti positivi a *Salmonella* caratterizzati da percentuali maggiori di conformità (58,33%) rispetto ai negativi (37,50%) (vedi Allegato 1 e 3). Alla Figura XV è possibile osservare un esempio di un' idonea piazzola di carico/scarico (sinistra) e non idonea (destra).

Figura XV. Piazzola di carico/scarico animali e materiali d'uso idonea (a sinistra) e non idonea (a destra) [foto: Biosicurezza negli allevamenti avicoli: linee guida per l'applicazione della *checklist* di categorizzazione del rischio, IZSVE, 2022].



5. *Caratteristiche strutturali dell'allevamento (strutture dei capannoni) e ventilazione forzata (estrattiva) o naturale*

I locali di allevamento dovrebbero presentare caratteristiche strutturali tali da permettere il mantenimento di un livello igienico-sanitario elevato in modo da poter prevenire l'ingresso e la circolazione di agenti patogeni. A tale scopo, è fondamentale che le superfici dei capannoni non presentino fratture o crepe, che siano in un buono stato di manutenzione e che siano realizzate in materiale facilmente lavabile e disinfettabile. Secondo i dati ottenuti in questo studio, valori più elevati di idoneità delle caratteristiche strutturali (100,00%) sono stati evidenziati negli allevamenti di tacchini negativi a *Salmonella* e, inaspettatamente, negli allevamenti di polli positivi ad *S. Infantis* (vedi gli Allegati 1, 2 e 3).

Per quanto riguarda la ventilazione in allevamento, questa può essere forzata o naturale. La ventilazione forzata si serve di ventole per far entrare aria nel capannone e farla circolare all'interno. Questo tipo di ventilazione in genere consente un maggior dominio sia sul ricambio dell'aria che sul flusso (essendo maggiore la quantità di O₂ introdotta nei capannoni). A livello mondiale è stato provato come la ventilazione forzata favorisca sia la performance che i profitti ("*Broiler Ross, Gestione Ambientale del Capannone*", Aviagen, 2010). D'altro canto, la ventilazione naturale si basa su aperture nel capannone, tali da consentire sia alle brezze esterne sia alle correnti convettive interne di fare entrare aria nel capannone; a questo scopo, si abbassano (o si alzano) delle finestre sul fianco del capannone. Questo tipo di ventilazione richiede una gestione costante delle condizioni del capannone, e risulta essere sufficiente per i capannoni che lavorano con basse densità di animali.

Dai dati raccolti (e riportati alla Tabella XIX), si evince come gli allevamenti di polli da carne siano caratterizzati per quasi tre quarti dalla presenza della ventilazione forzata, mentre gli allevamenti di tacchini da ingrasso presentano un'attitudine opposta, favorendo la ventilazione naturale. Questa tendenza può trovare la sua motivazione nel fatto che, specialmente negli allevamenti di polli da carne – data l'elevata densità d'allevamento – diviene necessaria la presenza di sistemi di ventilazione che garantiscono un sufficiente ricambio d'aria, soprattutto durante le stagioni estive; viceversa, le aziende che allevano tacchini da ingrasso – data la numerosità ridotta – trovano sufficiente l'utilizzo di sistemi di ventilazione naturale, anche perché l'installazione e il mantenimento dei sistemi ad aria forzata risulta economicamente oneroso, e dati gli alti costi di produzione da sostenere per tutto il ciclo produttivo, attualmente non lo rendono un sistema facilmente applicabile.

Tabella XIX. Valori numerici (n) e percentuali (%) di allevamenti di polli e tacchini da carne positivi e negativi a *Salmonella* in base all'utilizzo della ventilazione naturale o forzata. Gli allevamenti positivi vengono indicati dal simbolo "+", mentre quelli negativi col simbolo "-".

Sistemi di ventilazione	Allevamenti di polli da carne				Allevamenti tacchini da ingrasso			
	+	+	-	-	+	+	-	-
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
Ventilazione forzata	28	84,85%	20	74,07%	12	50,00%	3	37,50%
Ventilazione naturale	9	27,27%	9	33,33%	17	70,83%	6	75,00%

6. Delimitazione dell'area di allevamento e manutenzione aree circostanti i capannoni

Isolamento, pulizia e disinfezione sono i punti che meglio descrivono la biosicurezza. L'isolamento è una tra le principali linee di difesa, in quanto elimina la possibilità di un qualsiasi patogeno di entrare in allevamento o di uscirne (Arbor, 2018). In quest'ottica, attorno al perimetro dell'allevamento vengono posizionate opportune barriere fisiche (come murature, reti, cancelli, sbarre, etc.) atte ad impedire l'accesso a persone e veicoli non autorizzati. Per fornire un supporto attivo alle barriere fisiche, è importante garantire un'idonea manutenzione delle aree circostanti i capannoni. L'area di pertinenza dell'allevamento dovrebbe, infatti, essere in uno stato di manutenzione idonea, libera da attrezzi, materiali e oggetti non collegati all'attività di allevamento, con l'erba tagliata, con l'assenza di residui di sporcizia, di lettiera, di mangime, etc., in modo da impedire la colonizzazione di animali infestanti. In base ai dati raccolti, sia per i polli che per i tacchini da carne, i valori più alti sono stati riscontrati negli allevamenti negativi a *Salmonella* (rispettivamente, 74,04% e 75,00%) (vedi Allegati 1 e 3), a dimostrazione del fatto che una conformità delle aree limitrofe agli allevamenti possa incidere nella contaminazione e persistenza dei batteri a livello ambientale. Alla Figura XVI è possibile osservare un esempio di un'area circostante i capannoni idonea (a sinistra) e di una non idonea (a destra).

Figura XVI. Esempi di aree circostanti i capannoni idonea (a sinistra) e di aree circostanti i capannoni non idonee (a destra) con presenza di attrezzi non pertinenti, erba incolta, etc. [foto: Biosicurezza negli allevamenti avicoli: linee guida per l'applicazione della checklist di categorizzazione del rischio, IZSve, 2022].



7. Attrezzature di pulizia e disinfezione dei locali

La gestione igienico-sanitaria degli ambienti, dei locali e dei materiali rappresenta un punto chiave nella prevenzione e nella lotta ai pericoli biologici. La pulizia rimuove la maggior parte della contaminazione e la disinfezione è lo stadio finale che disattiva i patogeni rimasti (Arbor, 2018). La pulizia delle superfici interne viene effettuata mediante l'utilizzo dell'idropulitrice, della pompa a trattore (o sommersa) oppure attraverso l'impianto fisso a pressione/utilizzato per irrigare. Alla Tabella XX vengono riportati i valori numerici e percentuali degli allevamenti di polli da carne e tacchini da ingrasso positivi e negativi a *Salmonella* in base all'utilizzo dell'idropulitrice, della pompa a trattore (o sommersa) o dell'impianto fisso a pressione.

Tabella XX. Valori numerici (n) e percentuali (%) di allevamenti di polli e tacchini da carne positivi e negativi a *Salmonella* in base all'utilizzo dell'idropulitrice, della pompa a trattore (o sommersa) o dell'impianto fisso a pressione. Gli allevamenti positivi vengono indicati dal simbolo "+", mentre quelli negativi col simbolo "-".

Sistema di pulizia impiegato	Allevamenti di polli da carne				Allevamenti tacchini da ingrasso			
	+	+	-	-	+	+	-	-
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
Idropulitrice	22	66,67%	15	55,56%	23	95,83%	6	75,00%
Pompa a trattore (o sommersa)	29	87,88%	24	88,89%	24	100,00%	8	100,00%
Impianto fisso a pressione/utilizzato per l'irrigazione	19	57,58%	13	48,15%	1	4,17%	2	25,00%

Dai dati raccolti, si evidenzia una tendenza comune per gli allevamenti di entrambi gli indirizzi produttivi nell'utilizzare i diversi sistemi di pulizia a disposizione nel seguente ordine (rispettivamente, dal più al meno utilizzato):

1. Pompa a trattore (o sommersa);
2. Idropulitrice;
3. Impianto fisso a pressione/utilizzato per l'irrigazione.

I primi due trovano un maggior impiego negli allevamenti di tacchini da ingrasso, l'impianto di pulizia fisso, invece, in quelli di polli da carne. I valori riscontrati, inoltre, suggeriscono la tendenza all'impiego di più sistemi di pulizia in allevamento, simultaneamente o in sostituzione l'uno degli altri.

Normalmente, le procedure di pulizia iniziano con la pulizia a secco dei capannoni. Segue poi l'applicazione del detergente su tutte le superfici che rimuove il biofilm e permette una migliore azione

del disinfettante. I detergenti sono composti da tensioattivi, agenti chelanti, solventi, coadiuvanti tecnologici, disperdenti e anticorrosivi. Una volta applicato il detergente si sciacqua con acqua calda ad alta pressione per rimuovere ciò che è rimasto e il detergente applicato. Se non fosse possibile lavare con acqua, si opta per un lavaggio a secco, che consiste nel raschiare e aspirare le superfici del capannone (Collett *et al.*, 2020). Oltre alle superfici interne dei capannoni, seguono la stessa procedura tutta l'attrezzatura presente all'interno dei capannoni (ventilatori e griglie di ventilazione, linee di abbeverata e mangiatoie) e le aree esterne adiacenti (pavimentazioni in cemento, prese d'aria e grondaie) (Arbor, 2018). Da ultimo, viene effettuata la disinfezione. In letteratura viene riportato come sia possibile ottenere riduzioni significative di *Salmonella* attraverso l'esposizione ai disinfettanti, che ne sopprimono la capacità infettante. I disinfettanti maggiormente utilizzati (data la suscettibilità della *Salmonella* ai composti chimici) sono principalmente a base di fenoli, composti quaternari di ammonio, composti clorati, organometalli, acido acetico, perossido di idrogeno, formalina e formaldeide, etc., (Cox *et al.*, 2007; Buhr *et al.*, 2012). Tra questi, l'utilizzo di formalina o di formaldeide, si sono rivelati molto efficaci per decontaminare le strutture avicole, ma le considerazioni sulla sicurezza ne hanno limitato l'uso (Carrique-Mas *et al.*, 2009). Ad ogni modo, per una scelta corretta del disinfettante è bene confrontare i vari disinfettanti disponibili, in base al costo, alla facilità d'uso, alla modalità di applicazione e d'azione (Massi, 2009).

In questo studio sono stati raccolti i dati relativi ai detergenti e disinfettanti utilizzati (Tabella XXI).

Tabella XXI. Elenco dei detergenti e disinfettanti impiegati nelle procedure di pulizia e disinfezione negli allevamenti di polli e tacchini da carne.

VAR_10.2 = utilizzo di detergenti e/o disinfettanti

VAR_10.2.1 = ACHTISOL

VAR_10.2.2 = ANTEC HD3

VAR_10.2.3 = DELEGOL

VAR_10.2.4 = ENVIRON

VAR_10.2.5 = GLYMAX FC

VAR_10.2.6 = GLUTARZOO COMPLEX

VAR_10.2.7 = GLUTEX 25

VAR_10.2.8 = HALAMID

VAR_10.2.9 = INCIDIN AL

VAR_10.2.10 = P3 TOPAX

VAR_10.2.11 = QUARTESAM

VAR_10.2.12 = SODIO IPOCLORITO

VAR_10.2.13 = TH5

VAR_10.2.14 = VIRKON'S

VAR_10.2.15 = VIROCID

Di questi, uno dei disinfettanti che trova larga prevalenza sia negli allevamenti di polli da carne (secondo maggiormente impiegato, col 59,32% di riscontro) che in quelli di tacchini da ingrasso (il più

utilizzato in assoluto, col 68,97%), è il “*Virocid*”. L’impiego di questo disinfettante, composto da sali quaternari d’ammonio, glutraldeide e alcool isopropilenico, trova un riscontro con le caratteristiche dei disinfettanti presenti nel Manuale di Biosicurezza Veterinaria dell'IZSLer, il quale sottolinea come i composti d’ammonio abbiano un’azione detersiva ed antibatterica, e risultino essere atossici.

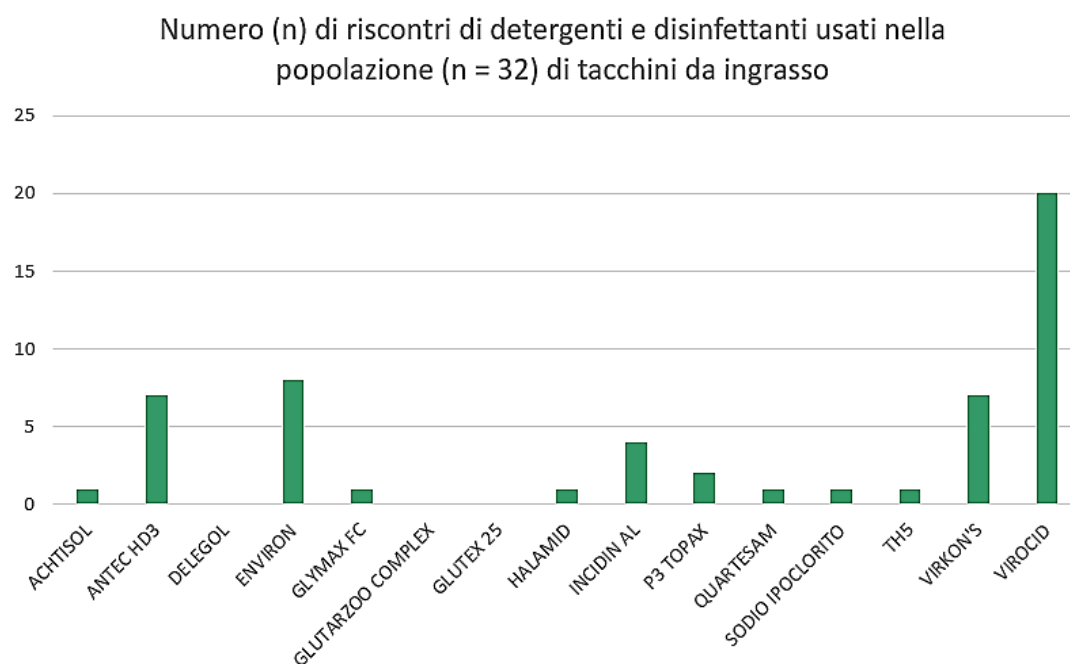
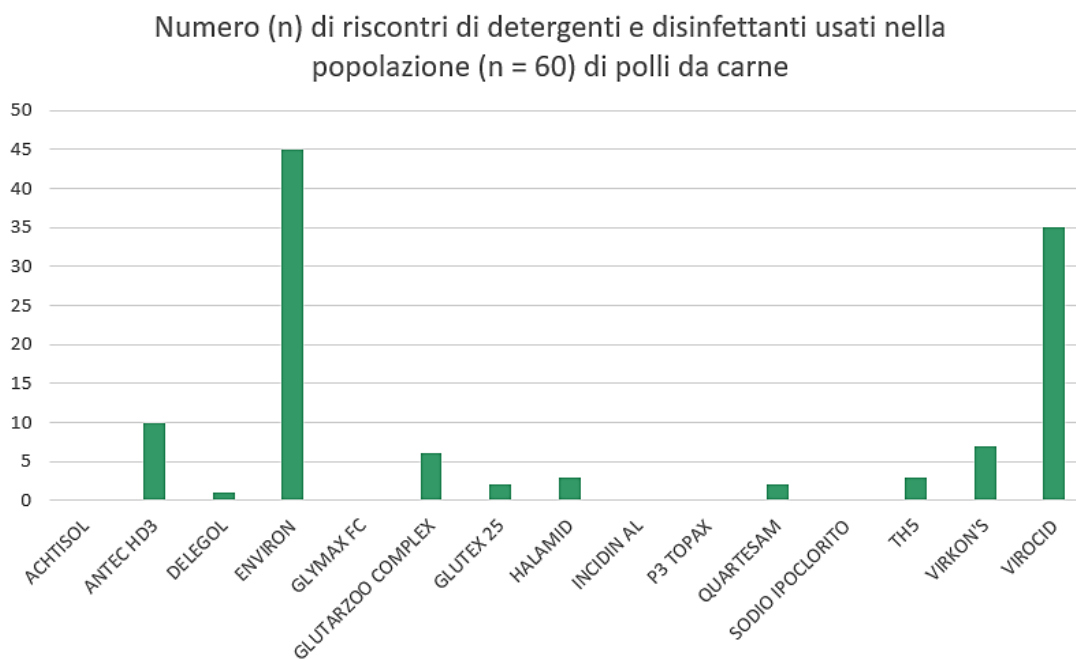
Un altro disinfettante altamente impiegato è l’”*Environ*”, al primo posto negli allevamenti di polli da carne (76,27%) e al secondo in quelli di tacchini da ingrasso (27,59%). Questo disinfettante viene definito come un “*disinfettante concentrato ad azione battericida e lieviticida*” ed è composto da una miscela di polifenoli sintetici clorurati, idrossido di sodio e idrossi bifenile; anche in questo caso, il Manuale di Biosicurezza Veterinaria dell'IZSLer riporta come i fenoli clorati possano essere impiegati in presenza di materia organica con una buona rapidità d’azione, nonostante risultino tossici ed irritanti.

Il terzo disinfettante maggiormente utilizzato dagli allevamenti di polli e di tacchini da ingrasso, è il “*Virkon 'S*”, il cui utilizzo viene riscontrato n = 7 volte per entrambi gli indirizzi produttivi, dove, considerata la diversa numerosità delle popolazioni oggetto di studio, assume valori percentuali diversi (11,86% nei polli da carne e 24,14% nei tacchini da ingrasso). Il Virkon’S viene descritto come un “*disinfettante atossico*”, composto da acido malico, acido sulfamico, cloruro di sodio, etc.

Per quanto riguarda i detergenti invece, quello maggiormente impiegato negli allevamenti di entrambi gli indirizzi produttivi è l’”*Antec HD3*”, rispettivamente per il 16,95% nei polli da carne e per il 24,14% nei tacchini da ingrasso. L’Antec HD3 viene definito come un “*detergente sanitizzante, alcalino concentrato, non corrosivo*”, la cui formulazione multi attiva è a base di composti non ionici, additivi alcalinizzanti e agenti sequestranti, come alcoli, composti quaternari dell'ammonio, cloruri, etc.

Nei Grafici IX e X vengono riportate le rappresentazioni grafiche dei detergenti e disinfettanti impiegati negli allevamenti oggetti di studio. Inoltre, i valori numerici (n) e percentuali (%) sono consultabili alla sezione degli Allegati 1 e 3.

Grafici IX e X. Rappresentazione grafica dei detergenti e disinfettanti maggiormente impiegati nelle procedure di pulizia e disinfezione negli allevamenti di polli e tacchini da carne.



8. Gestione della lettiera vergine

Nella gestione degli allevamenti avicoli, la lettiera influisce sotto diversi aspetti: comfort, controllo degli odori e assorbimento delle deiezioni. Una lettiera con un elevato tenore d'umidità e sporca, è un luogo eccellente per la proliferazione della *Salmonella* e di altri batteri e parassiti. Per questo motivo, la lettiera vergine va correttamente stoccata in modo che non venga esposta a contaminazioni esterne da

parte di agenti biologici che potrebbero entrare all'interno dei capannoni. Nella gestione della lettiera vergine sono previste l'aggiunta di materiale e/o la fresatura durante il ciclo. Mentre l'aggiunta di ulteriore materiale da lettiera durante il ciclo di produzione (di solito verso metà o al termine) garantisce una maggior quantità di materiale assorbente nei confronti delle deiezioni, le operazioni di fresatura (frantumazione, miscelazione e rivoltamento della lettiera), prevengono la formazione della "crosta" superficiale di pollina e mantengono la lettiera pulita, soffice ed arieggiata; ciò nonostante, pur assicurando un ambiente igienicamente idoneo, la fresatura rappresenta un potenziale rischio di introduzione e conseguente diffusione di agenti patogeni dato il libero accesso al locale.

Dai dati raccolti in questo studio, per tutti gli allevamenti di polli e tacchini da carne si rileva una netta maggioranza nelle operazioni di fresatura piuttosto che in quelle di aggiunta della lettiera. Nello specifico, mentre le operazioni di fresatura vengono applicate nella stragrande maggioranza degli allevamenti di entrambi gli indirizzi produttivi (96,88% e 84,62% negli allevamenti positivi e negativi di polli da carne; 95,83% e 100,00% negli allevamenti positivi e negativi di tacchini da ingrasso), l'aggiunta di nuovo materiale da lettiera trova un riscontro ben più basso, con valori pari a meno della metà di quelli riscontrati per la fresatura (37,50% e 46,15% negli allevamenti positivi e negativi di polli da carne; 37,50% sia per gli allevamenti positivi sia per quelli negativi di tacchini da ingrasso). Tali risultati possono trovare una loro giustificazione nella durata dei cicli produttivi, nei costi di gestione e di manodopera degli allevamenti oggetto di studio: nei polli da carne, infatti, data la brevità del ciclo produttivo, non risulta conveniente l'aggiunta di lettiera al termine del ciclo e per questo si preferisce optare per la fresatura della lettiera, mentre nei tacchini da ingrasso, data la lunghezza maggiore del ciclo produttivo, risulta essere più conveniente effettuare più rivoltamenti durante il ciclo.

9. *Gestione della lettiera a fine ciclo*

Al termine del ciclo di allevamento, la lettiera presente viene rimossa prima dare inizio alla pulizia e alla disinfezione. Una volta rimossa, la pollina viene stoccata presso l'allevamento per la maturazione in concimaia (per chi ovviamente ne dispone la presenza). La lettiera, dev'essere dunque stoccata in un'area dedicata ed esclusiva, fornita di platea di stoccaggio. Secondo l'Articolo 7 sulle caratteristiche dello stoccaggio e dell'accumulo dei materiali palabili presente nell'Allegato A della Gazzetta Ufficiale, lo stoccaggio dei materiali palabili *"deve avvenire su platea impermeabilizzata, [...]. In considerazione della consistenza palabile dei materiali, la platea di stoccaggio deve essere munita di idoneo cordolo o di muro perimetrale, con almeno un'apertura per l'accesso dei mezzi meccanici per la completa asportazione del materiale e deve essere dotata di adeguata pendenza per il convogliamento verso appositi sistemi di raccolta e stoccaggio dei liquidi di sgrondo e/o delle eventuali acque di*

lavaggio della platea". Sulla base dei risultati ottenuti, gli allevamenti di tacchini da ingrasso hanno riscontrato valori maggiori della concimaia rispetto a quelli dei polli da carne (54,17% e 50,00% per gli allevamenti positivi e negativi di tacchini; 33,33% e 37,04% per gli allevamenti positivi e negativi di polli), fenomeno probabilmente dovuto alla necessità dei primi di doverla stoccare in azienda per una durata maggiore di tempo; gli allevamenti di polli, avendo un ciclo produttivo dalla durata minore, avrebbero una convenienza maggiore nel mandarla via al termine di ogni ciclo piuttosto che a stoccarla (specie se considerati i periodi concessi per lo smaltimento controllato stabiliti della Normativa Nitrati e i costi di mantenimento della concimaia). Un altro dato interessante, è che gli allevamenti di polli da carne risultati positivi ad *S. Infantis* hanno evidenziato percentuali maggiori rispetto a quelli negativi (50,00% contro 37,04%).

La pollina dev'essere correttamente gestita e smaltita poiché rappresenta una potenziale fonte di rischio biologico, soprattutto se non correttamente stoccata, rappresentando una fonte di esposizione anche per allevamenti confinanti, attraverso animali selvatici che possono fungere da veicolo. La gestione del refluo zootecnico inizia all'interno dei locali di stabulazione, segue una fase di stoccaggio ed una finale di smaltimento. Il destino della lettiera è vario, e in linea generale può essere smaltita tramite:

- ditta autorizzata;
- smaltimento agronomico autorizzato in campi di proprietà;
- lettiera ceduta a terzi

Alla Tabella XXII vengono riportati i valori numerici e percentuali degli allevamenti di polli da carne e tacchini da ingrasso positivi e negativi a *Salmonella* in base all'impiego della ditta autorizzata per lo smaltimento, lo smaltimento agronomico o la cessione a terzi della lettiera.

Tabella XXII. Valori numerici (n) e percentuali (%) di allevamenti di polli e tacchini da carne positivi e negativi a *Salmonella* in base all'impiego della ditta autorizzata per lo smaltimento, lo smaltimento agronomico o la cessione a terzi della lettiera. Gli allevamenti positivi vengono indicati dal simbolo "+", mentre quelli negativi col simbolo "-".

Destino della lettiera a fine ciclo	Allevamenti di polli da carne				Allevamenti tacchini da ingrasso			
	+	+	-	-	+	+	-	-
	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
Cessione a ditta autorizzata	19	57,58%	15	57,69%	9	37,50%	4	50,00%
Smaltimento agronomico autorizzato in campi di proprietà	21	63,64%	14	53,85%	16	66,67%	7	87,50%
Cessione a terzi	13	39,39%	5	19,23%	8	33,33%	4	50,00%

Sulla base dei dati ottenuti, appare chiaro come la cessione della lettiera a terzi sia il metodo di smaltimento meno utilizzato in tutti gli allevamenti di entrambi gli indirizzi produttivi (nonostante per gli allevamenti negativi di tacchini condivida lo stesso valore, 50,00%, dello smaltimento tramite la ditta autorizzata). Per il resto, lo smaltimento della lettiera tramite ditta autorizzata o attraverso lo smaltimento agronomico in campi di proprietà, assumono valori percentuali molto simili in tutti gli allevamenti avicoli considerati, anche se lo smaltimento agronomico assume valori leggermente maggiori – specialmente negli allevamenti di tacchini da ingrasso –, probabilmente dovuto al fatto che buona parte degli allevamenti esaminati, considerata la zona sottoposta a campionamento, è risultata circondata da campi di proprietà, rappresentando quindi un metodo conveniente di smaltimento della lettiera a fine ciclo.

10. Altre attività

Tra le “*altre attività*” considerate, fanno principalmente parte l’attività agricola del conduttore e la presenza di altri allevamenti di proprietà dell’allevatore o di familiari. In base ai dati rilevati, queste due variabili hanno fornito dei valori inaspettati:

- attività agricola: sia per gli allevamenti di polli da carne che di tacchini da ingrasso, i valori maggiori sono stati riscontrati negli allevamenti negativi a *Salmonella* (87,88% di positivi e 88,89% di negativi per gli allevamenti di polli; 87,50% di positivi e 100,00% di negativi per gli allevamenti di tacchini), fenomeno difficile da spiegare se considerato che l’attività agricola viene considerata come “attività collaterale” che ben si inserisce che analisi del rischio, data l’alta possibilità di trasmissione della *Salmonella*;
- conduzione di altri allevamenti di proprietà: anche in questo caso sono stati gli allevamenti avicoli negativi a *Salmonella* a fornire percentuali più alte di questa variabile (48,48% di positivi e 48,15% di negativi per gli allevamenti di polli da carne; 30,43% di positivi e 75,00% di negativi per gli allevamenti di tacchini da ingrasso), in contrasto con quanto evidenziato invece in quelli positivi, fenomeno ben evidenziabile soprattutto nei tacchini. Questi dati possono trovare una giustificazione nel fatto che la conduzione di più attività stimoli il titolare a mantenere elevati *standard* di biosicurezze al fine di non veicolare agenti patogeni.

CAPITOLO 10

CONCLUSIONI

Il presente lavoro ha cercato di illustrare le misure di biosicurezza adottate negli allevamenti avicoli di polli da carne e di tacchini da ingrasso con la finalità di prevenire o quantomeno contenere le infezioni da *Salmonella*, con un'attenzione particolare volta a *S. Infantis*, sierotipo emergente. Sulla base dei risultati ottenuti, la popolazione di polli da carne ha rivelato una netta prevalenza del sierotipo *Infantis*, seguito da *S. Thompson* e *S. Mbandaka*, mentre gli allevamenti di tacchini da ingrasso hanno dimostrato alte positività per *S. Agona*, seguita dai sierotipi *Newport* e *Kedougou*. Nell'ambito del contagio della *Salmonella*, la biosicurezza riveste una notevole importanza nella prevenzione in allevamento. La biosicurezza coinvolge tutta la filiera avicola e ha l'obiettivo di prevenire l'introduzione di patogeni virali, batterici e parassitari, al fine di rispettare il benessere animale e garantire un prodotto di qualità al consumatore. Risulta fondamentale, dunque, valutare il livello di implementazione della biosicurezza negli allevamenti avicoli. Questa necessità acquisisce maggior rilevanza nel caso di allevamenti di polli da carne e di tacchini da ingrasso situati nel Nord Est dell'Italia, una delle aree più densamente popolate da allevamenti avicoli e di conseguenza ad alto rischio per la diffusione su larga scala di agenti infettivi, come appunto la *Salmonella*. Per rispondere a questa necessità, è stata istituita un'estesa rete di sorveglianza delle zoonosi a livello nazionale, affiancata dall'applicazione di rigorosi piani di controllo nazionali (PNCS) che si avvalgono di *checklist* nazionali standardizzate per il controllo delle misure di biosicurezza. Inoltre, anche l'organizzazione intrinseca della filiera avicola (integrazione verticale basata su contratti di soccida) ha un impatto determinante nella conformità alle biosicurezze, in quanto ogni azienda integrata ha una propria politica di biosicurezza in aggiunta alle misure stabilite dalla legislazione nazionale, soprattutto in materia di pulizia e disinfezione.

I principali risultati di questo studio mostrano un buon livello complessivo di implementazione della biosicurezza, mentre alcune misure richiedono ancora dei miglioramenti. La crescente tendenza alla conformità osservata negli allevamenti di polli da carne e tacchini da ingrasso può essere il risultato dei continui sforzi volti ad implementare i livelli di biosicurezza. Tuttavia, nonostante il buon livello di conformità complessivo, sono state rilevate alcune differenze tra i due indirizzi produttivi oggetto di questo studio. Nello specifico, gli allevamenti di polli e di tacchini da carne hanno evidenziato tendenze simili nei parametri relativi al numero di gruppi presenti in allevamento al momento del

campionamento, il personale addetto oltre al titolare, l'area di disinfezione dei mezzi e l'impianto di disinfezione (fisso o a pompa), la zona filtro e la dogana danese, la delimitazione dell'area di allevamento, la manutenzione delle aree circostanti i capannoni e le caratteristiche strutturali dell'allevamento. Parametri, invece, in cui gli allevamenti di polli da carne e tacchini da ingrasso differiscono sono la capacità di allevamento al momento del campionamento e il sistema di ventilazione utilizzato (tendenze basate sui sistemi produttivi dalla filiera avicola italiana), i sistemi di pulizia e i tipi di detergenti e/o disinfettanti impiegati (dovuti alle linee guida stabilite all'interno delle aziende integrate) e della gestione della lettiera a fine ciclo (in base alla presenza della concimaia, che sembrerebbe essere maggiore negli allevamenti di tacchini).

Gli allevamenti di entrambi gli indirizzi produttivi hanno riscontrato valori di conformità elevati principalmente per l'area di disinfezione dei mezzi (fondamentale per garantire una corretta pulizia dei mezzi provenienti dall'esterno, probabili fonti di contaminazione) e la dogana danese, obbligatoria dal 2018 per i tacchini da ingrasso e dal 2020 per i polli da carne. Questi due parametri hanno comunque evidenziato valori più elevati negli allevamenti di tacchini da ingrasso, fatto probabilmente dovuto alla legislazione nazionale più rigida applicata in questo settore.

Nonostante i buoni valori rilevati, variabili come l'utilizzo dell'impianto di disinfezione fisso piuttosto che quello a pompa (vietato a partire dal 1° gennaio 2020), la zona filtro, la delimitazione dell'area di allevamento, la manutenzione delle aree circostanti i capannoni e la fresatura della lettiera vergine nel corso del ciclo produttivo, sono parametri ancora migliorabili. Infine, entrambi gli indirizzi produttivi hanno dimostrato livelli di conformità alle biosicurezze mediamente inferiori rispetto ad altri parametri relativamente alle piazzole di carico/scarico di animali e dei materiali d'uso, all'aggiunta di lettiera durante il ciclo produttivo e alla pratica della cessione a terzi della lettiera a fine ciclo.

In conclusione, i risultati di questo studio hanno evidenziato un livello generalmente buono di implementazione della biosicurezza nel campione di allevamenti avicoli considerato. Parallelamente emerge anche una mancanza di conformità per alcune misure che indica la presenza di un margine di miglioramento per alcuni aspetti della biosicurezza (sia interni che esterni). Tale criticità rappresenta un parametro da non sottovalutare nella gestione della biosicurezza in allevamento, in quanto la mancanza di conformità per alcune misure può rappresentare un fattore di rischio per l'introduzione e la diffusione di malattie infettive.

BIBLIOGRAFIA

1. Alba P., Leekitcharoenphon P., Carfora V., Amoruso R., Cordaro G., Di Matteo P., Ianzano A., Iurescia M., Diaconu E.L., Pedersen S.K., Guerra B., Hendriksen R.S., Franco A., Battisti A., *Molecular epidemiology of Salmonella Infantis in Europe: insights into the success of the bacterial host and its parasitic pESI-like megaplasmid*. In: *Microbial Genomics*; 2020
2. Allerberger F., Liesegang A., Grif K., Prager R., Danzl J., Höck F., Ottl J., Dierich M.P., Berghold C., Neckstaller I., Tschäpe H., Fisher I., *Occurrence of Salmonella enterica serovar Dublin in Austria*. *Eurosurveillance*; 2002
3. Arbor A., *Health and Biosecurity*. In: *Broiler Management Handbook*; 2018
4. Aviagen, *Broiler Ross, Gestione Ambientale del Capannone*; 2010
5. Baudart J., Lemarchand K., Brisabois A., Lebaron P., *Diversity of Salmonella strains isolated from the aquatic environment as determined by serotyping and amplification of the ribosomal DNA spacer regions*. In: *Applied Environmental Microbiology*; 2000
6. Berndt A., Wilhelm A., Jugert C., Pieper J., Sachse K., Methner U., *Chicken cecum immune response to Salmonella enterica serovars of different levels of invasiveness*. In: *Infection and Immunity*; 2007
7. Berghaus R.D., Thayer S.G., Law B.F., Mild R.M., Hofacre C.L., Singer R.S., *Enumeration of Salmonella and Campylobacter spp. in environmental farm samples and processing plant carcass rinses from commercial broiler chicken flocks*. In: *Applied Environmental Microbiology*; 2013
8. Borland E.D., *Salmonella infection in dogs, cats, tortoises and terrapins*. In: *Veterinary Record*, vol. 96; 1975
9. Buhr R.J., Spickler J.L., Ritter A.R., Bourassa D.V., Cox N.A., Richardson L.J., Wilson J.L., *Efficacy of combination chemicals as sanitizers of Salmonella-inoculated broiler hatching eggshells*. In: *Applied Poultry Results*; 2012
10. Caldwell M.E. and Reyrson D.L., *Salmonellosis in certain reptiles*. In: *Journal of Infectious Diseases*, vol. 65, 1939
11. Carrique-Mas J.J., Marín C., Breslin M., McLaren I., Davies R.H., *A comparison of the efficacy of cleaning and disinfection methods in eliminating Salmonella spp. from commercial egg laying houses*. In: *Avian Pathologies*; 2009
12. Coble D.J., Redmond S.B., Hale B., Lamont S.J., *Distinct lines of chickens express different splenic cytokine profiles in response to Salmonella Enteritidis challenge*. In: *Poultry Sciences*; 2011
13. Corcoran M., Morris D., De Lappe N., O'Connor J., Lalor P., Dockery P., Cormican M., *Commonly used disinfectants fail to eradicate Salmonella enterica biofilms from food contact surface materials*. In: *American Society for Microbiology Journal*; 2014

14. Cox N.A., Richardson L.J., Buhr R.J., Musgrove M.T., Berrang M.W., Bright W., *Bactericidal effect of several chemicals on hatching eggs inoculated with Salmonella serovar Typhimurium*. In: *Applied Poultry Results*; 2007
15. D'Aoust J. and Maurer J., *Salmonella species in Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. ASM Press, Washington, DC, USA, 3rdEd.; 2007
16. Davies R.H. and Breslin M., *Investigation of Salmonella contamination and disinfection in farm egg-packing plants*. In: *Journal of Applied Microbiology*, vol. 94; 2003
17. 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
18. 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
19. 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
20. Donlan R.M. and Costerton J.W., *Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms*; 2002
21. European Food and Safety Authority (EFSA), *Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline survey on the prevalence of Salmonella in turkey flocks, in the EU, 2006-2007: Part B: factors related to Salmonella flock "prevalence and distribution of Salmonella serovars*; 2008
22. European Food and Safety Authority (EFSA) and European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), *The European Union One Health 2020 Zoonoses Report*; 2020
23. Enter-Vet, *Report Dati 2019*. Centro di referenza nazionale per le salmonellosi Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe); 2019
24. Fagerberg D.J., Quarles C.L., Ranson J.A., Williams R.D., Williams L.P., Hancock C.B., Seaman S.L., *Experimental procedure for testing the effects of low levels antibiotic feeding and therapeutic treatment on Salmonella Typhimurium var. Copenhagen infection in broiler chicks*. In: *Poultry Sciences*, vol. 55; 1976
25. Forsythe R.H., Ross W.J., Ayres J.C. *Salmonella recovery following gastrointestinal and ovarian inoculation in the domestic fowl*. In: *Poultry Sciences*; 1967
26. Gast R.K. and Beard C.W., *Age-related changes in the persistence and pathogenicity of Salmonella typhimurium in chicks*; 1989
27. Gast R.K. and Benson S.T., *Intestinal colonization and organ invasion in chicks experimentally infected with Salmonella enteritidis phage type 4 and other phage types isolated from poultry in the United States*. In: *Avian Diseases*; 1996

28. Gast R.K. and Holt P.S., *Persistence of Salmonella enteritidis from one day of age until maturity in experimentally infected layer chickens*. In: *Poult Sciences*; 1998
29. Graziani C., Galetta P., Busani L., Dionisi A.M., Filetici E., Ricci A., Caprioli A., Luzzi I., *Le infezioni da Salmonella: diagnostica, epidemiologia e sorveglianza*. Rapporti ISTISAN, Istituto Superiore di Sanità (ISS); 2005
30. Grimont P.A.D., Grimont, F., Bouvet P., *Taxonomy of the Genus Salmonella*. In: Wray C. and Wray A., *Salmonella in Domestic Animals*. CAB International, Wallingford, UK; 2000
31. Grimont P.A.D. and Weill F.X., *Antigenic formulae of the Salmonella serovars*. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella, Institute Pasteur; 2007
32. Hinshaw W.R., *Fowl typhoid of turkeys*. In: *Veterinary Medicine*, vol. 25; 1930
33. Hinshaw W.R. and McNeil E., *The occurrence of type 10 paracolony in turkeys*. In: *Journal of Bacteriology*, vol. 53; 1946
34. Holt P.S., Gast R.K., Porter R.E., Stone H.D., *Hyporesponsiveness of the systemic and mucosal humoral immune systems in chickens infected with Salmonella enterica serovar enteritidis at one day of age*. In: *Poultry Sciences*; 1999
35. Huberman Y.D., Velilla A.V., Terzolo H.R., *Evaluation of different live Salmonella enteritidis vaccine schedules administered during layer hen rearing to reduce excretion, organ colonization, and egg contamination*. In: *Poultry Sciences*, vol. 98; 2019
36. Humphrey T.J., Chart T., Rowe B., Baskerville A., *Serological response of chickens to Salmonella enteritidis infection*. In: *Epidemiology and Infections*, vol. 104; 1990
37. Istituto di Servizi per il Mercato Agricolo Alimentare (ISMEA), *Tendenze e dinamiche recenti, Avicoli – maggio 2022*; 2022
38. Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe), *Salmonella Infantis in allevamenti di polli da carne: procedure di pulizia e disinfezione, una questione da esplorare*; 2021
39. Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe) e Ministero della Salute, *Biosicurezza negli allevamenti avicoli: linee guida per l'applicazione della check list di categorizzazione del rischio*; 2022
40. Johnson D.C., David M., Goldsmith S., *Epizootiological investigation of an outbreak of pullorum disease in an integrated broiler operation*. In: *Avian Disease*; 1992
41. Jones F.T., Axtell R.C., Rives D.V., Scheideler S.E., Tarver F.R., Walker R.L., Wineland R.J., *A Survey of Salmonella Contamination in Modern Broiler Production*. In: *Journal of Food Protection*, vol. 54; 1994
42. Jones F.T. and Richardson K.E., *Salmonella in Commercially Manufactured Feeds*. In: *Poultry Science*, vol. 83; 2004
43. Kauffmann F., *The Bacteriology of Enterobacteriaceae*. Baltimore, Md, USA: Williams & Wilkins; 1966

44. Keller L.H., Benson C.E., Krotec K., Eckroade R.J., *Salmonella enteritidis* colonization of the reproductive tract and forming and freshly laid eggs of chickens. In: *Infection and Immunity*; 1995
45. Langridge G.C., Nair S., Wain J., *Nontyphoidal Salmonella Serovars Cause Different Degrees of Invasive Disease Globally*. In: *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 199; 2009
46. Lapuz R., Tani H., Sasai K., Shiota K., Katoh H., Baba E., *The role of roof rats (Rattus rattus) in the spread of Salmonella Enteritidis and S. Infantis contamination in layer farms in eastern Japan*. In: *Epidemiology and Infection*, vol. 136; 2008
47. Le Minor L., *The genus Salmonella*. In: Balow H., Truper H.G., Dworkin M., Harder W., Schleifer, K.H. *The Prokaryotes*, 2nd Ed., vol. 3. Springer-Verlag, New York; 1991
48. Le Minor L. and Popoff M.Y., *Request for an opinion: designation of Salmonella enterica sp. nov., as the type and only species of the genus Salmonella*. In: *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol. 37; 1987
49. Löfström C., Hintzmann A.S., Sørensen G., Baggesen D.L., *Outbreak of Salmonella enterica serovar Typhimurium phage type DT41 in Danish poultry production*. In: *Veterinary Microbiology*; 2015
50. Long J.R., DeWitt W.F., Ruet J.L., *Studies on Salmonella from floor litter of 60 broiler chicken houses in Nova Scotia*. In: *Canadian Veterinary Journal*; 1980
51. Massi P., *Concetti generali di biosicurezza negli allevamenti e fattori di rischio; biosicurezza negli allevamenti avicoli*. In: *La biosicurezza in veterinaria*, Vol. 74; 2009
52. Meerburg B.G., Jacobs-Reitsma W.F., Wagenaar J.A., Kijlstra A., *Presence of Salmonella and Campylobacter spp. in wild small mammals on organic farms*. In: *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 72; 2006
53. Melloul A.A., Hassani L., Rafouk L., *Salmonella contamination of vegetables irrigated with untreated wastewater*. In: *World Journal of Microbiology and Biotechnology*; 2001
54. Miller T., Prager R., Rabsch W., Fehlhaber K. and Voss M., *Epidemiological relationship between Salmonella Infantis isolates of human and broiler origin*. In: *Lohmann Information*, vol. 45; 2010
55. Ministero della Salute, *Piano nazionale di controllo delle salmonellosi negli avicoli*; 2019/2021
56. Morningstar-Shaw B.R., Barker D.A., Mackie T.A., Muonz M.I., Palmer E.A., Kane M.A., Cook L.K., Erdman, M.M., *Salmonella serotypes isolated from animals in the United States: January 1 to December 31, 2010*. Proceedings 115th Annual Meeting US Animal Health Association; 2012
57. Nakamura M., Nagamine N., Takahashi T., Suzuki S., Kijima M., Tamura Y., Sato, S. *Horizontal transmission of Salmonella enteritidis and effect of stress on shedding in laying hens*. In: *Avian Diseases*, vol. 38; 1994
58. Opara O.O., Carr L.E., Russek-Cohen E., Tate C.R., Mallinson E.T., Miller R.G., Stewart L.E., Johnston R.W., Joseph S.W., *Correlation of water activity and other environmental conditions with repeated detection of Salmonella contamination on poultry farms*. In: *Avian Diseases*, vol. 36; 1992

59. Osservatorio Economico Agroalimentare, *L'avicoltura da carne con focus Veneto*. In: *Veneto Agricoltura*, 2020
60. Stevens M.P., Humphrey T.J., Maskell D.J., *Molecular insights into farm animal and zoonotic Salmonella infections*. In: *Philosophical transactions of the royal society biological sciences*, vol. 364; 2009
61. Poli G., Cocilovo A., Dall'Ara P., Martino P.A., Ponti W., *Microbiologia e immunologia veterinaria*. UTET, 2ndEd.; 2005
62. Qin A.R., Fukata T., Baba E., Arakawa A., *Effect of Eimeria tenella infection on Salmonella enteritidis infection in chickens*. In: *Poultry Sciences*; 1995
63. Reeves M.W., Evins G.M., Heiba A.A., Plikaytis B.D., Farmer J.J., *Clonal nature of Salmonella typhi and its genetic relatedness to other salmonellae as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of Salmonella bongori*. In: *Journal of Clinical Microbiology*; 1989
64. Regolamento (CE) n. 178/2002 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 28 gennaio 2002, che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare
65. 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
66. Regolamento (CE) N. 1177/2006 della Commissione del 1o agosto 2006 che applica il regolamento (CE) n. 2160/2003 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda le prescrizioni per l'impiego di metodi di controllo specifici nel quadro dei programmi nazionali per il controllo della salmonella nel pollame
67. Regolamento (CE) n. 213/2009 della Commissione, del 18 marzo 2009, che modifica il regolamento (CE) n. 2160/2003 del Parlamento europeo e del Consiglio e il regolamento (CE) n. 1003/2005 per quanto riguarda le modalità di controllo e di analisi della Salmonella nei gruppi da riproduzione di Gallus gallus e di tacchini
68. Regolamento (UE) 2016/429 del Parlamento europeo e del Consiglio del 9 marzo 2016 relativo alle malattie animali trasmissibili e che modifica e abroga taluni atti in materia di sanità animale («normativa in materia di sanità animale»)
69. Rettger L. F., *The genus salmonella lignieres*. In: *New York Medical Journal*; 1900
70. Ryan M.P., O'Dwyer J., Adley C.C., *Evaluation of the Complex Nomenclature of the Clinically and Veterinary Significant Pathogen Salmonella*. In: *BioMed Research International*; 2017
71. Semenov A.V., *Ecology and modelling of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella enterica serovar Typhimurium in cattle manure and soil*. PhD Thesis, Department of Biological Farming Systems Group, Wageningen University, the Netherlands; 2008
72. Shahata M.A., El-Timawy A.A.M., El-Dimerdash M.Z., *Some studies on Salmonellosis of turkeys*. In: *Assuit Veterinary Medicine Journal*, vol. 11; 1984

73. Shivaprasad H.L., *Fowl Typhoid and Pullorum Disease*. In: *Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties*; 2000
74. Shivaprasad H.L., *Arizonosis*. In: *Diseases of Poultry*, 12th Ed.; 2008
75. Shivaprasad H.L. and Barrow P.A., *Pullorum Disease and Fowl Typhoid*. In: *Diseases of Poultry*, 12th Ed.; 2008
76. Smid J.H., Van Hoekb A.H.A.M., Aarts H.J.M., Havelaar A.H., Heresc L., de Jonge R., Pielaat A., *Quantifying the sources of Salmonella on dressed carcasses of pigs based on serovar distribution*. In: *Meat Science*, vol. 96; 2014
77. Smith H.W. and Tucker J.F. *The virulence of Salmonella strains for chickens; their excretion by infected chicken*. In: *Journal of Hygiene*; 1980
78. Solano C., García B., Valle J., Berasain C., Ghigo JM., Gamazo C., Las I., *Genetic analysis of Salmonella enteritidis biofilm formation: critical role of cellulose*. In: *Molecular Microbiology*; 2002
79. Tauxe R.V. and Pavia A.T., *Salmonellosis: nontyphoidal*. In: *Bacterial Infection of humans: epidemiology and control*; 1998
80. The Guardian, *Dangerous strain of Salmonella becoming more common in UK meat*; 2022
81. Veneto Agricoltura, *La filiera avicola del Veneto*; 2004
82. Wales A., Breslin M., Carter B., Sayers A.R., Davies R., *A longitudinal study of environmental Salmonella contamination in caged and free-range layer flocks*. In: *Avian Pathology*, vol. 36; 2007
83. Whyte P., McGill K., Collins J.D., *A survey of the prevalence of salmonella and other enteric pathogens in a commercial poultry feed mill*. In: *Journal of Food Safety*, vol.23; 2007
84. Williams J.E., Dillard L.H., Hall G.O., *The penetration patterns of Salmonella typhimurium through the outer structures of chicken eggs*. In: *Avian Diseases*; 1968
85. Woodward D.L., Khakhria R., Johnson W.M., *Human salmonellosis associated with exotic pets*. In: *American Society for Microbiology Journals*, vol. 35; 1997
86. Zavanella M., *Tipizzare le salmonelle*. Brescia: Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche; 2001

ALLEGATO 1

Allevamenti di polli da carne positivi e negativi a *Salmonella*

VARIABILI	N allevamenti positivi	% allevamenti positivi	N allevamenti negativi	% allevamenti negativi
x < 5 gruppi	27	81,82%	22	95,65%
5 ≤ x ≤ 10 gruppi	5	15,15%	1	4,35%
x > 10 gruppi	1	3,03 %	0	0,00%
x < 50.000 capacità	12	36,36%	21	77,78%
50.000 ≤ x ≤ 100.000 capacità	12	36,36%	3	11,11%
x > 100.000 capacità	9	27,27%	3	11,11%
personale familiare non dipendente	22	66,67%	22	81,48%
personale esterno (non familiare) dipendente	9	27,27%	5	18,52%
personale esterno qualificato non dipendente	32	96,97%	19	70,37%
area di disinfezione dei mezzi con fondo impermeabile, omogeneo e di dimensioni adeguate	29	87,88%	22	81,48%
impianto di disinfezione fisso	28	84,85%	15	60,00%
impianto di disinfezione a pompa	6	18,18%	10	40,00%
zona filtro presente	30	90,91%	24	88,89%
zona filtro idonea e conforme	24	72,73%	19	70,37%
piazzole di carico - scarico dei materiali d'uso e degli animali idonee ed omogenee	16	48,48%	16	61,54%
dogana danese (presente e correttamente utilizzata)	31	93,94%	22	81,48%
strutture dei capannoni integre ed omogenee (chiusure, pavimento, pareti, soffitto)	32	96,97%	24	88,89%
ventilazione naturale	9	27,27%	9	33,33%
ventilazione forzata (estrattiva)	28	84,85%	20	74,07%
manutenzione aree circostanti i capannoni (conformità)	23	63,70%	20	74,07%
idropulitrice	22	66,67%	15	55,56%
pompa a trattore (o sommersa)	29	87,88%	24	88,89%
impianto fisso a pressione/impianto utilizzato per irrigazione	19	57,57%	13	48,15%
fresatura della lettiera durante il ciclo	31	96,88%	22	84,62%
aggiunta di lettiera durante il ciclo	12	37,50%	12	46,15%
stoccaggio della lettiera	11	33,33%	10	37,04%
lettiera smaltita tramite ditta autorizzata	19	57,58%	15	57,69%
lettiera smaltita tramite smaltimento agronomico autorizzato in campi di proprietà	21	63,64%	14	53,85%
lettiera ceduta a terzi	13	39,39%	5	19,23%
attività agricola del conduttore	29	87,88%	24	88,89%
altri allevamenti di proprietà dell'allevatore o di familiari	16	48,48%	13	48,15%

ALLEGATO 2

Allevamenti di polli da carne positivi a *S. Infantis* ed altri sierotipi di *Salmonella*

VARIABILI	N allevamenti positivi	% allevamenti positivi
x < 5 gruppi	13	72,22%
5 ≤ x ≤ 10 gruppi	4	22,22%
x > 10 gruppi	1	5,56 %
x < 50.000 capacità	6	33,33%
50.000 ≤ x ≤ 100.000 capacità	5	27,78%
x > 100.000 capacità	8	44,44%
personale familiare non dipendente	12	66,67%
personale esterno (non familiare) dipendente	4	22,22%
personale esterno qualificato non dipendente	17	94,44%
area di disinfezione dei mezzi con fondo impermeabile, omogeneo e di dimensioni adeguate	16	88,89%
impianto di disinfezione fisso	17	94,44%
impianto di disinfezione a pompa	1	5,56%
zona filtro presente	16	88,89%
zona filtro idonea e conforme	13	72,22%
piazzole di carico - scarico dei materiali d'uso e degli animali idonee ed omogenee	12	66,67%
dogana danese (presente e correttamente utilizzata)	17	94,44%
strutture dei capannoni integre ed omogenee (chiusure, pavimento, pareti, soffitto)	18	100,00%
ventilazione naturale	3	16,67%
ventilazione forzata (estrattiva)	16	88,89%
manutenzione aree circostanti i capannoni (conformità)	14	77,78%
idropulitrice	13	72,22%
pompa a trattore (o sommersa)	16	88,89%
impianto fisso a pressione/impianto utilizzato per irrigazione	11	61,11%
fresatura della lettiera durante il ciclo	16	94,12%
aggiunta di lettiera durante il ciclo	4	23,53%
stoccaggio della lettiera	9	50,00%
lettiera smaltita tramite ditta autorizzata	11	61,11%
lettiera smaltita tramite smaltimento agronomico autorizzato in campi di proprietà	11	61,11%
lettiera ceduta a terzi	6	33,33%
attività agricola del conduttore	17	94,44%
altri allevamenti di proprietà dell'allevatore o di familiari	7	38,89%

ALLEGATO 3

Allevamenti di tacchini da ingrasso positivi e negativi a *Salmonella*

VARIABILI	N allevamenti positivi	% allevamenti positivi	N allevamenti negativi	% allevamenti negativi
x < 5 gruppi	20	83,33%	6	75,00%
5 ≤ x ≤ 10 gruppi	4	16,67%	2	25,00%
x > 10 gruppi	0	0,00%	0	0,00%
x < 50.000 capacità	24	100,00%	8	100,00%
50.000 ≤ x ≤ 100.000 capacità	0	0,00%	0	0,00%
x > 100.000 capacità	0	0,00%	0	0,00%
personale familiare non dipendente	18	78,26%	6	85,71%
personale esterno (non familiare) dipendente	2	8,70%	3	37,50%
personale esterno qualificato non dipendente	16	80,00%	6	85,71%
area di disinfezione dei mezzi con fondo impermeabile, omogeneo e di dimensioni adeguate	23	95,83%	8	100,00%
impianto di disinfezione fisso	17	70,83%	6	75,00%
impianto di disinfezione a pompa	7	29,16%	2	25,00%
zona filtro presente	24	100,00%	8	100,00%
zona filtro idonea e conforme	19	79,19%	6	75,00%
piazzole di carico - scarico dei materiali d'uso e degli animali idonee ed omogenee	14	58,33%	3	37,50%
dogana danese (presente e correttamente utilizzata)	24	100,00%	8	100,00%
strutture dei capannoni integre ed omogenee (chiusure, pavimento, pareti, soffitto)	21	87,50%	8	100,00%
ventilazione naturale	17	70,83%	6	75,00%
ventilazione forzata (estrattiva)	12	50,00%	3	37,50%
manutenzione aree circostanti i capannoni (conformità)	17	70,83%	6	75,00%
idropulitrice	23	95,83%	6	75,00%
pompa a trattore (o sommersa)	24	100,00%	8	100,00%
impianto fisso a pressione/impianto utilizzato per irrigazione	1	4,17%	2	25,00%
fresatura della lettiera durante il ciclo	23	95,83%	8	100,00%
aggiunta di lettiera durante il ciclo	9	37,50%	3	37,50%
stoccaggio della lettiera	13	54,17%	4	50,00%
lettiera smaltita tramite ditta autorizzata	9	37,50%	4	50,00%
lettiera smaltita tramite smaltimento agronomico autorizzato in campi di proprietà	16	66,66%	7	87,50%
lettiera ceduta a terzi	8	33,33%	4	50,00%
attività agricola del conduttore	21	87,50%	8	100,00%
altri allevamenti di proprietà dell'allevatore o di familiari	7	30,43%	6	75,00%