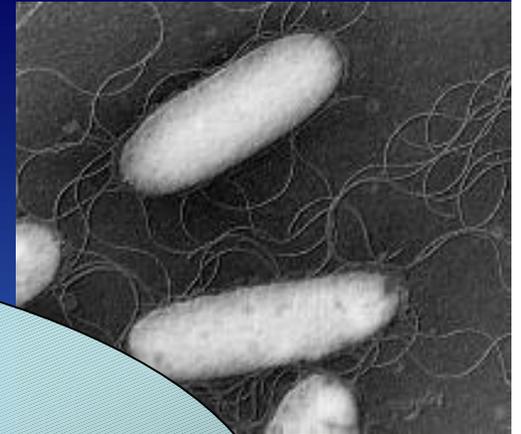


Salmonella spp. e igiene degli alimenti

Valerio Giaccone

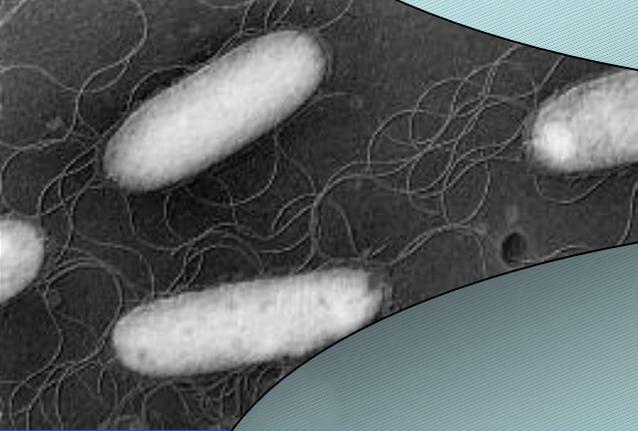
Dipartimento di Sanità pubblica,
Patologia comparata e Igiene veterinaria
Padova

Classificare le salmonelle ...
... navigando tra biotipi, sierotipi,
fagotipi, ribotipi e pulsotipi

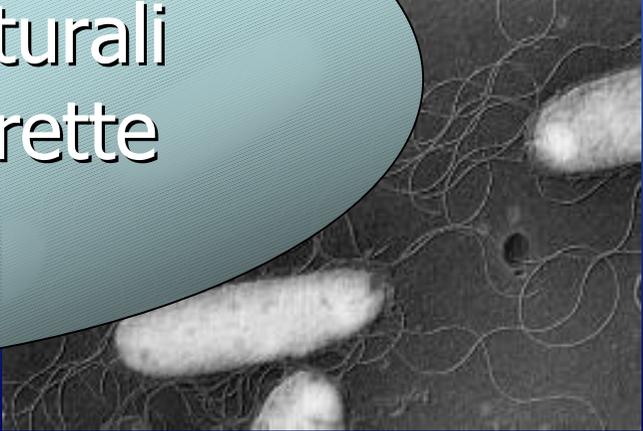




I "tipi" sono cloni (ceppi) del batterio
che hanno in comune fra loro ...

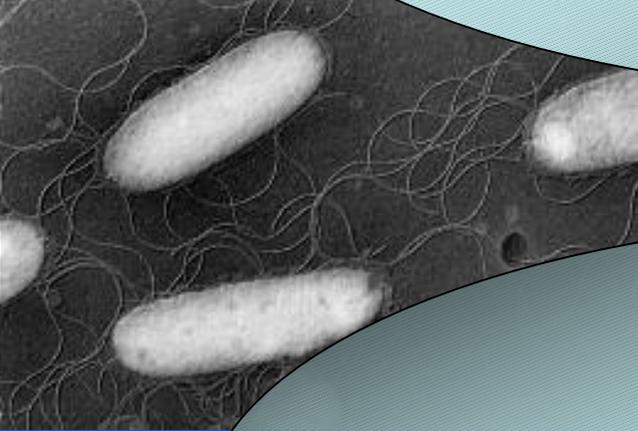


... caratteristiche strutturali
e fisiologiche molto strette



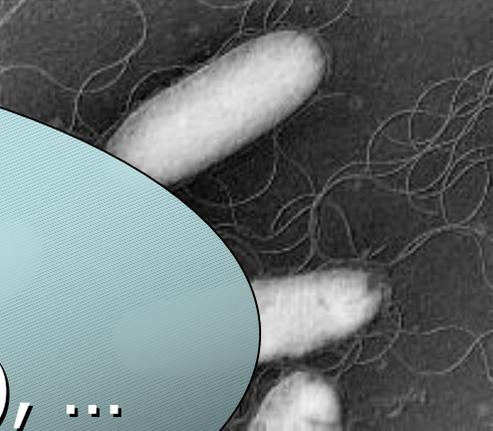


Queste analogie o identità possono essere di natura biochimica (biotipi), ...

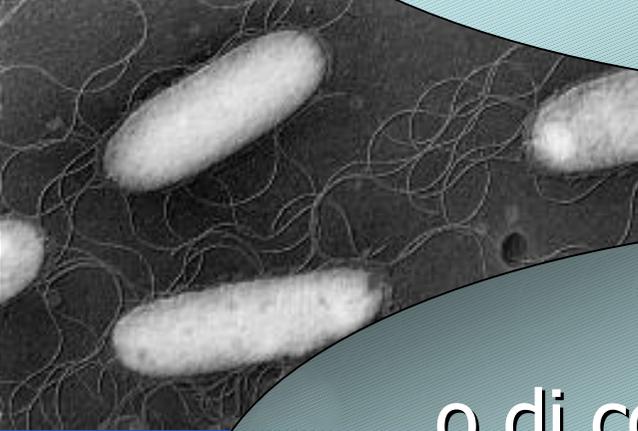


... antigenica (sierotipi),
di sensibilità ai virus batteriofagi, ...

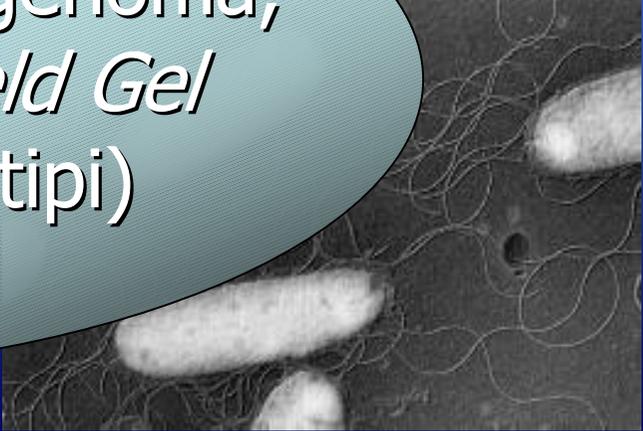


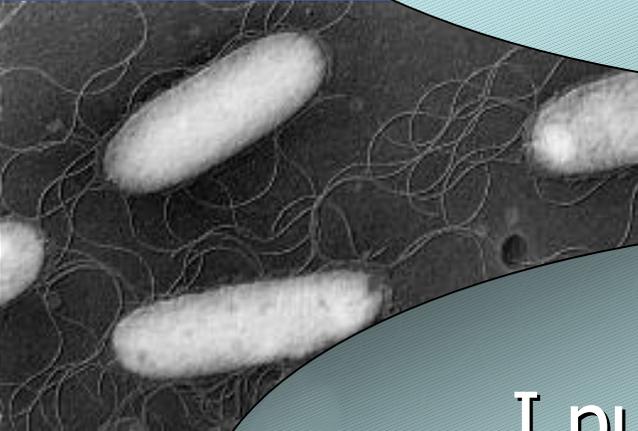
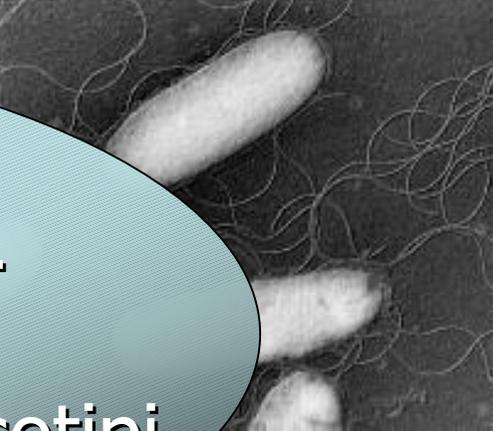


... di composizione dei
ribosomi intracellulari (ribotipi), ...



... o di composizione del genoma,
studiato con *Pulsed Field Gel
Electrophoresis* (pulsotipi)

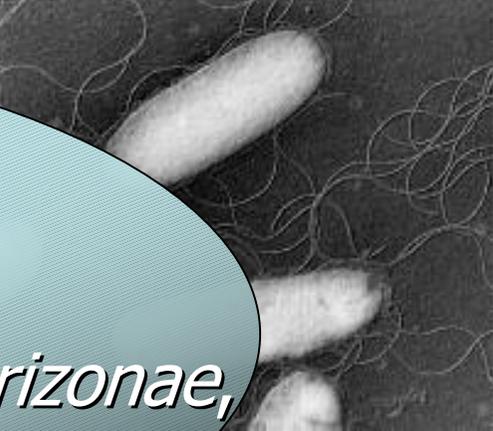




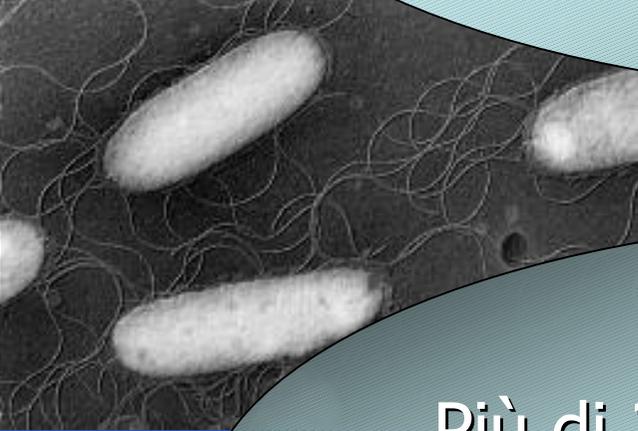
Classificare le salmonelle ...
... navigando tra biotipi,
sierotipi, fagotipi, ribotipi e pulsotipi

I pulsotipi sono frutto di
una specifica analisi del genoma, la
Pulsed Field Gel Electrophoresis





Genere *Salmonella*,
1 specie *Salmonella enterica*
7 sottospecie: *enterica*, *arizonae*, *diarizonae*,
indica, *salamae*, *bongori*, *houtenae*

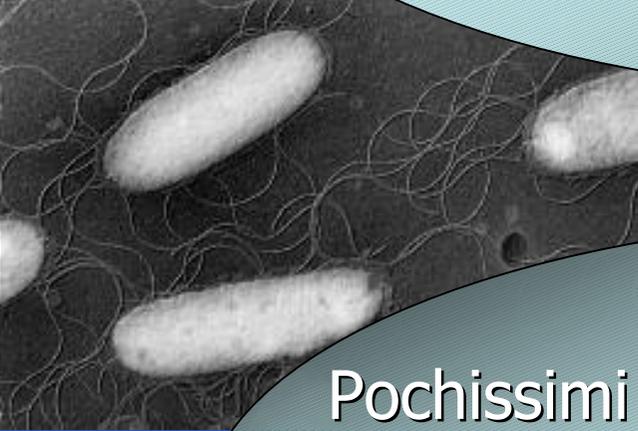


Più di 2.300 sierotipi conosciuti,
di cui la maggior parte afferiscono a
S. enterica, subsp. *enterica*



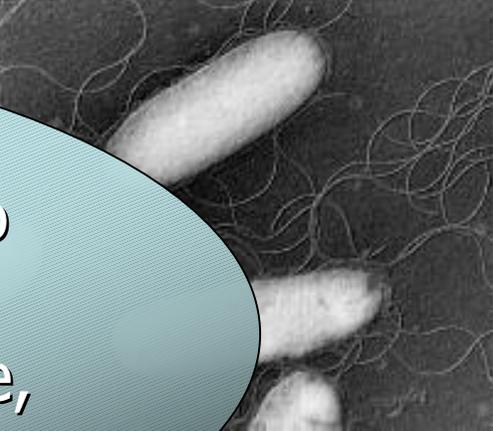


Quasi tutti sono causa delle salmonellosi alimentari o "salmonellosi minori" che si manifestano sotto forma di grave enterocolite



Pochissimi (*S. typhi*, *S. paratyphi* A, B, C) sono agenti del **tifo petecchiale** nell'uomo, (salmonellosi "maggiore") e quasi mai trasmessi da alimenti

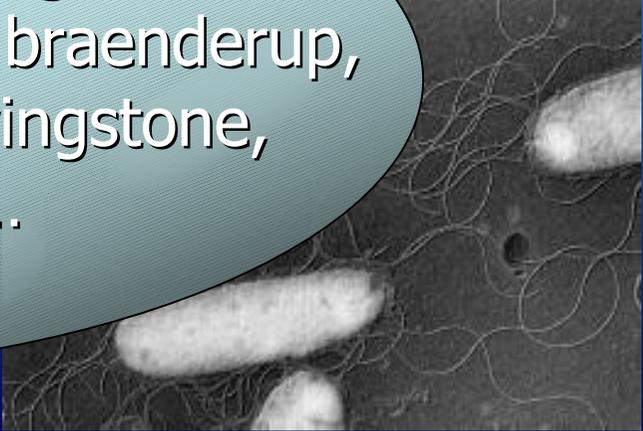




Un centinaio di sierotipi si isolano comunemente dagli alimenti e sono causa di malattia alimentare, tra cui ...

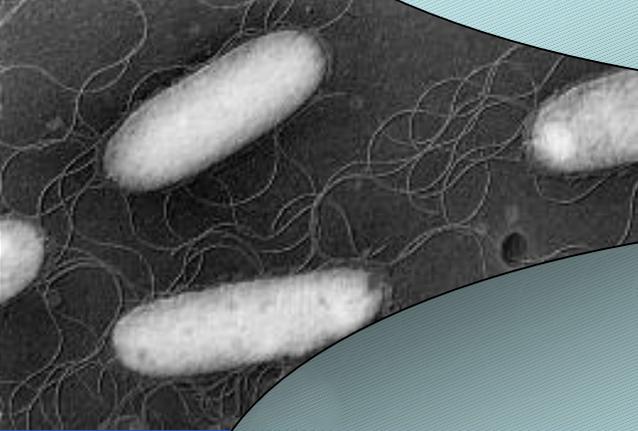


... typhimurium, enteritidis, agona, anatum, bredeney, brandenburg, braenderup, infantis, hadar, manhattan, livingstone, thompson, blockley, ...





... agona, dublin, london, virchow,
poona, blockley, goldcoast, newport, indiana,
senftenberg, kottbus, muenchen, veneziana
ecc. ecc. ecc.

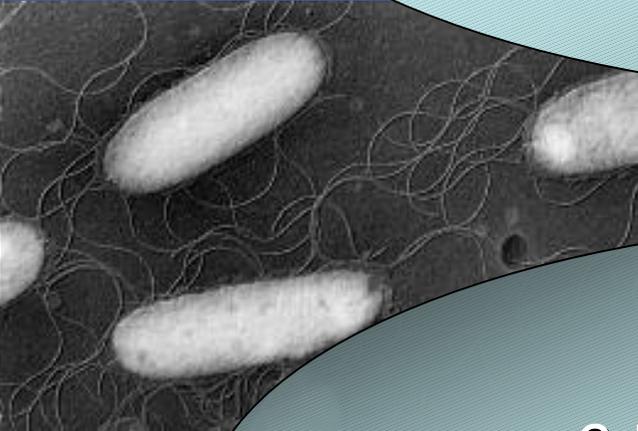


Sierotipi "strani"
S. mbandaka, irumu, brazzaville, kinshasa,
ecc. ecc.....

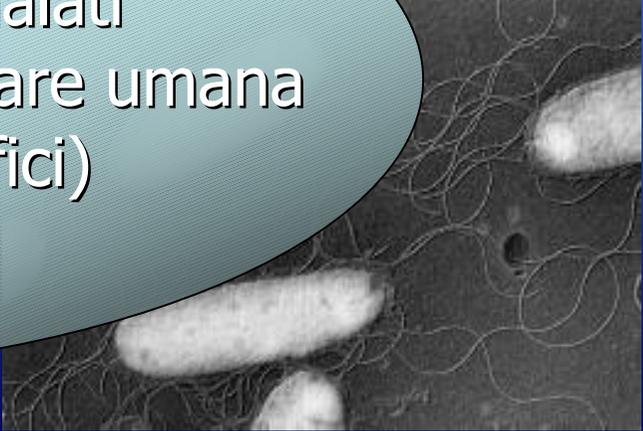


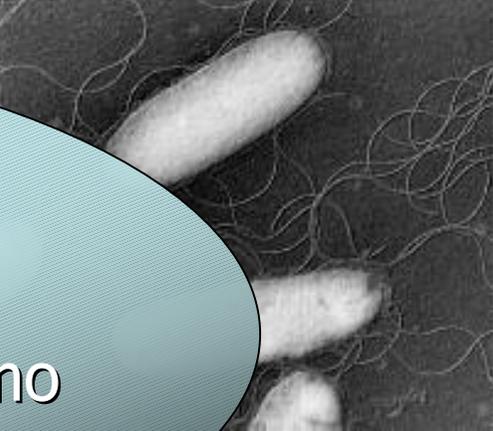


Il resto dei sierotipi si isola
da animali a sangue freddo o dall'ambiente e
non sono quasi mai documentati
negli alimenti ...

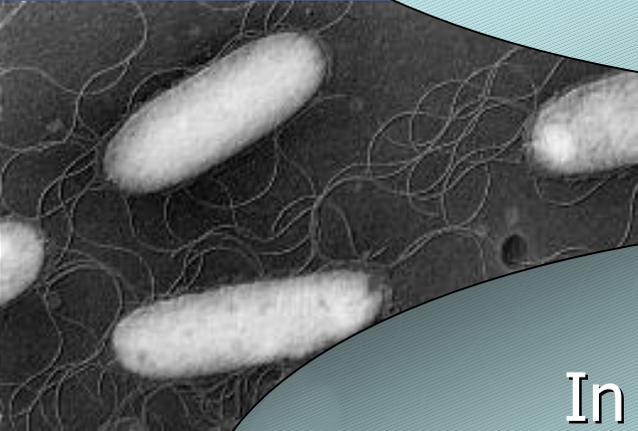


... e nemmeno sono segnalati
come causa di malattia alimentare umana
(mancanza di dati specifici)



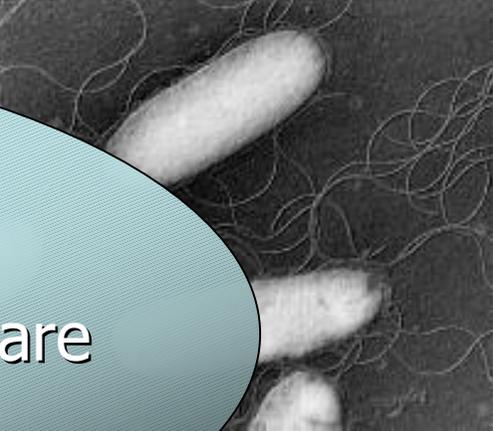


Ultimi 20 anni
aumento notevole dei focolai
di "salmonellosi minori" da consumo
di alimenti

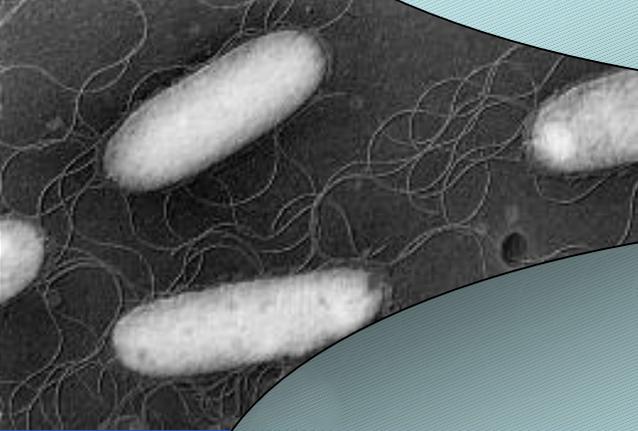


In tutti i paesi occidentali
le salmonelle sono la maggiore fonte di casi
di malattia alimentare (in alcuni stati,
insieme a *Campylobacter*)

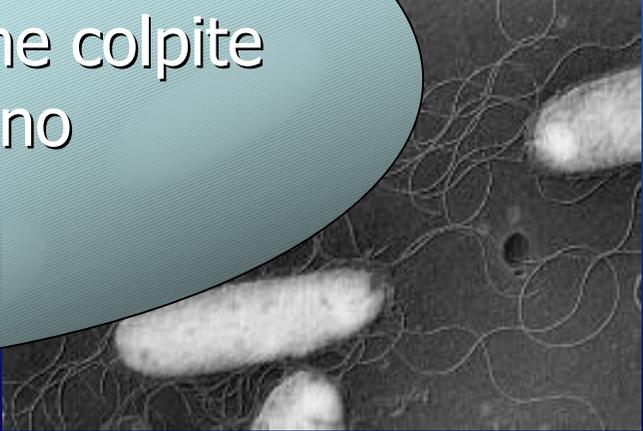


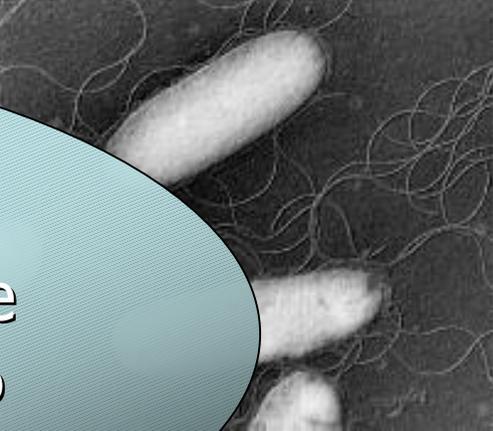


Negli USA ogni anno
250.000 episodi di malattia alimentare
e il 45% è causato da Salmonella, ...



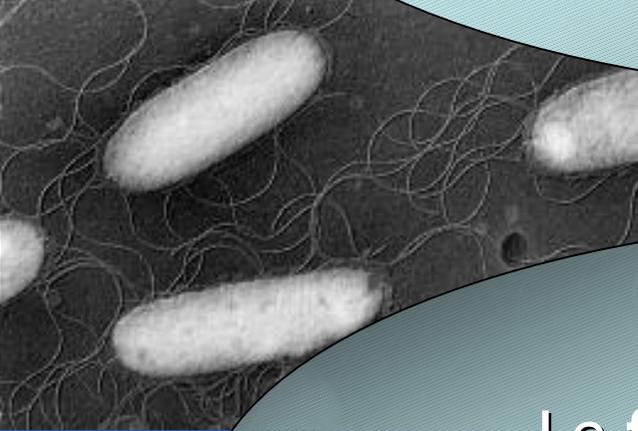
... con oltre 4 milioni di persone colpite
e circa 9000 decessi/anno



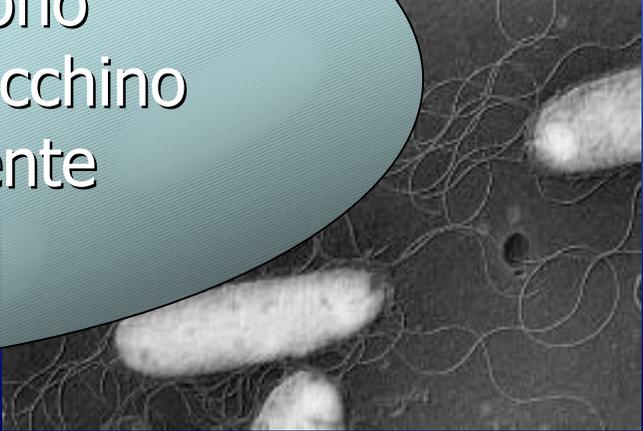


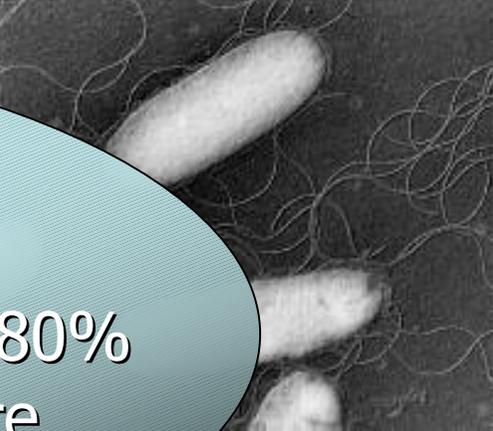
USA

tra il 1973 e il 1987 le salmonelle
hanno sostenuto da sole il **59%**
di tutti gli episodi morbosi

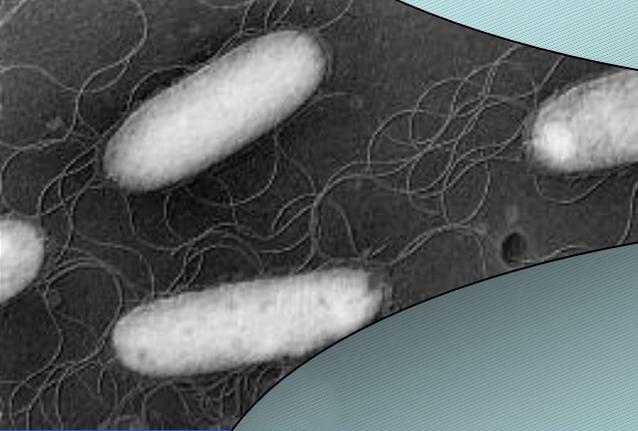


Le **fonti più comuni** sono
le carni avicole di pollo e tacchino
manipolate impropriamente

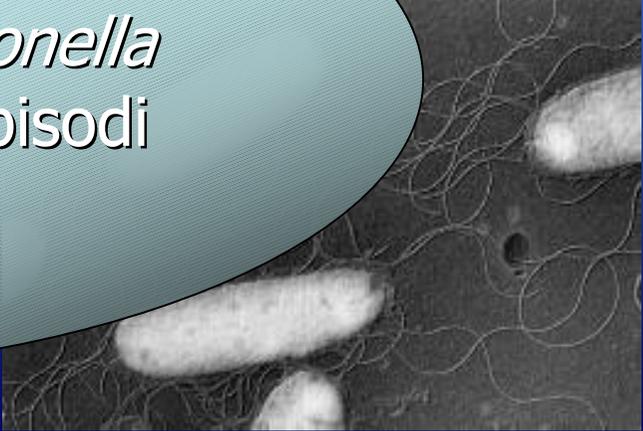




In Francia le salmonelle
sono responsabili, mediamente, dell'80%
di tutti i casi di malattia alimentare

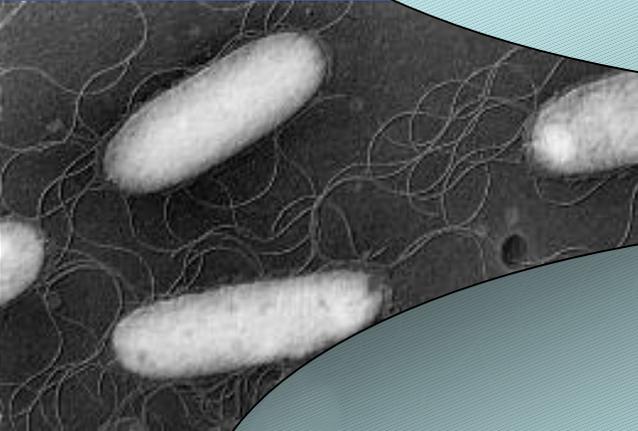


Nel 1997 in Francia, *Salmonella*
ha causato il 75% degli episodi

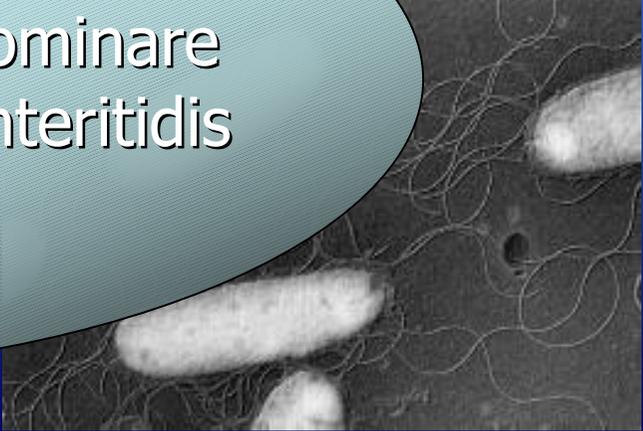




In Italia, 45.000 episodi nel 1997, scesi a 25.000 nel 2000 e risaliti a 35.000 nel 2003

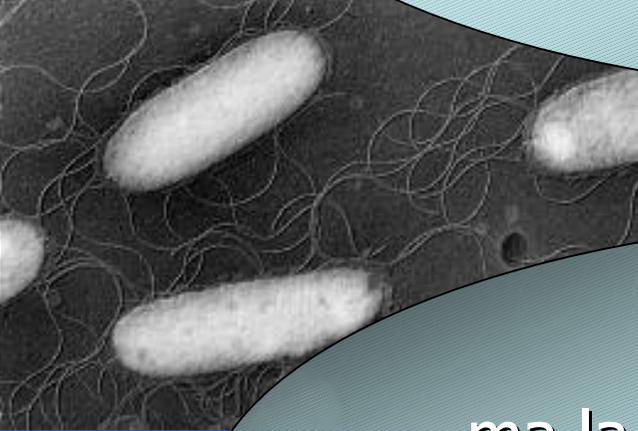


Continuano, per ora, a predominare i sierotipi Typhimurium ed Enteritidis



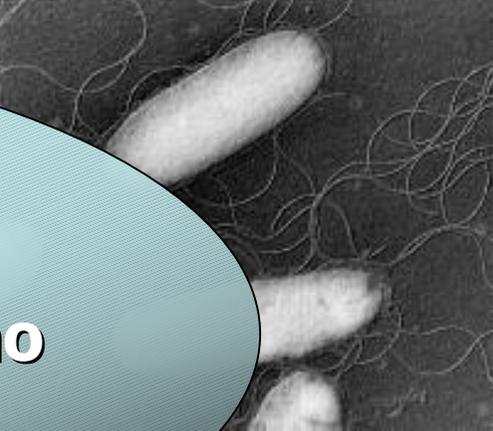


A rigore, tutti i sierotipi di *Salmonella*
devono essere considerati
potenzialmente patogeni, ...

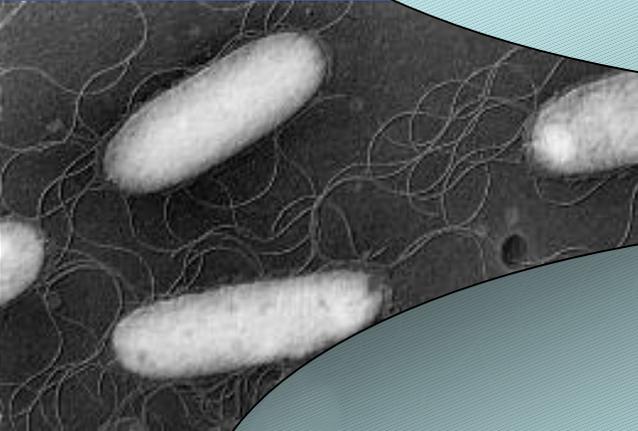


... ma la virulenza dei singoli sierotipi
può variare, in base a tre fattori, e questo
condiziona l'incidenza della malattia



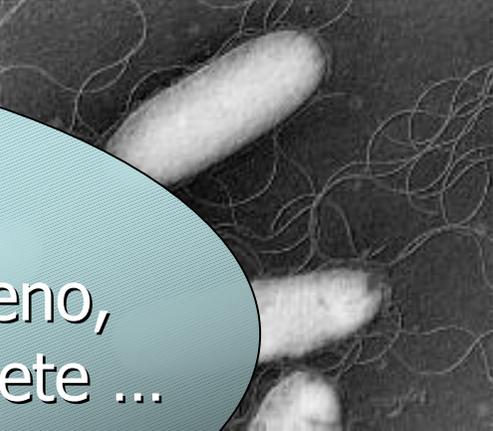


Fattori legati al microrganismo

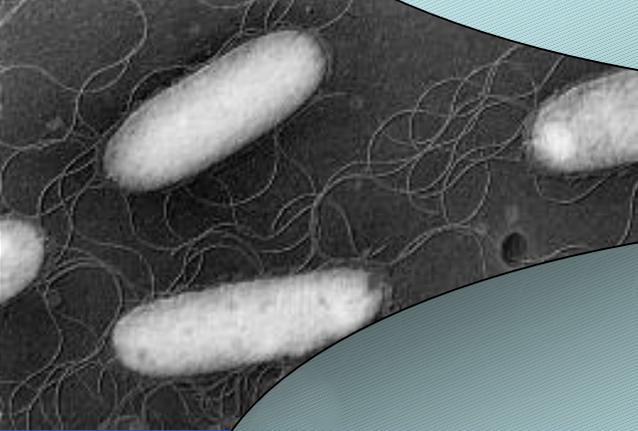


Un ceppo salmonellare può essere
100.000 volte più virulento di un altro

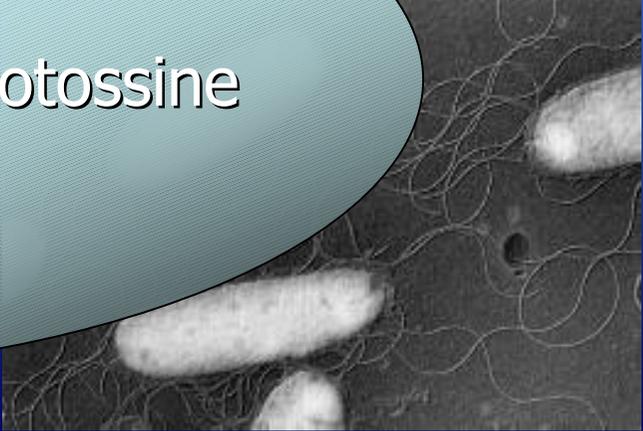


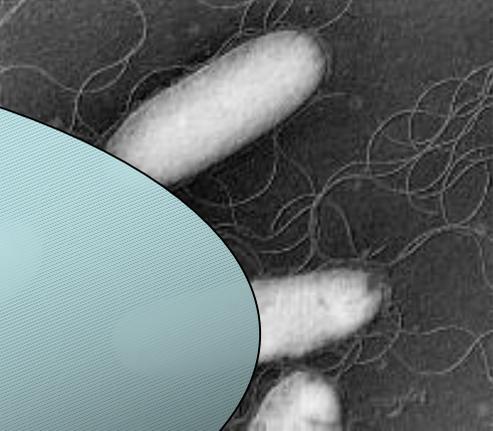


La virulenza dipende dall'avere o meno,
nel genoma, sequenze geniche complete ...

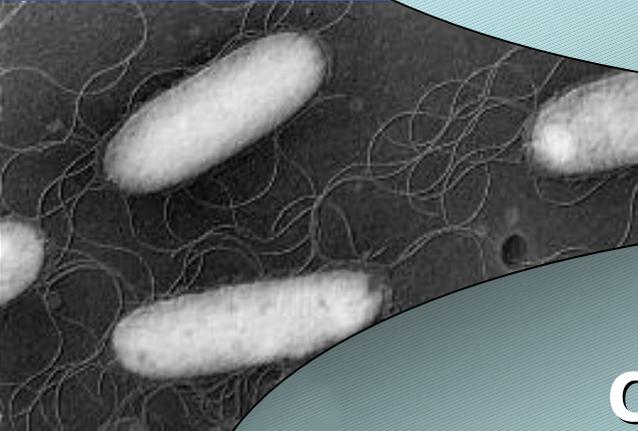


... che codificano
la sintesi di enterotossine, citotossine
e fattori di adesività





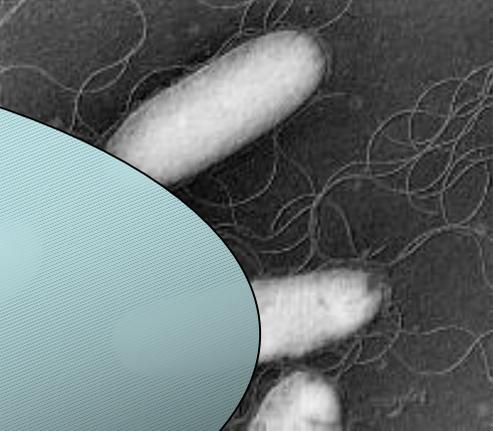
Fattori dell'ospite



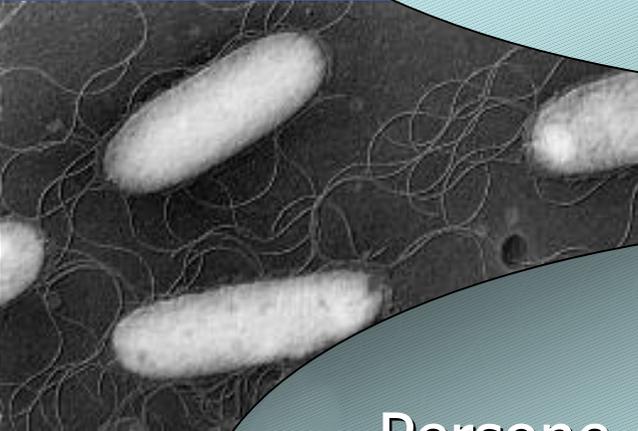
Condizioni di salute

i soggetti molto giovani, anziani o con patologie croniche sono più esposti a pericolo di infezione salmonellare

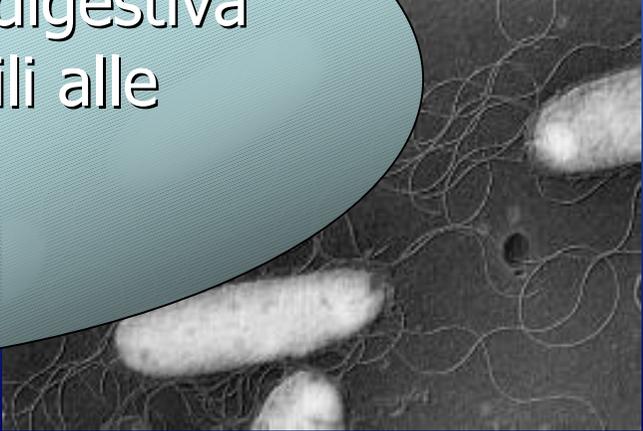


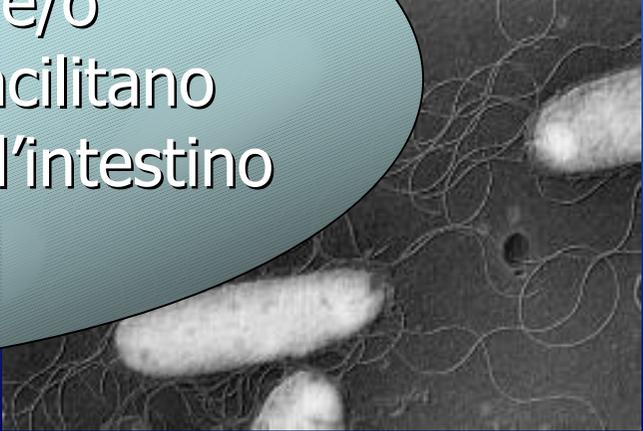
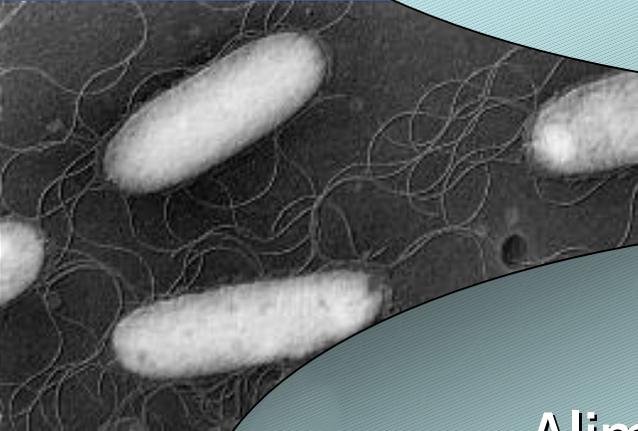
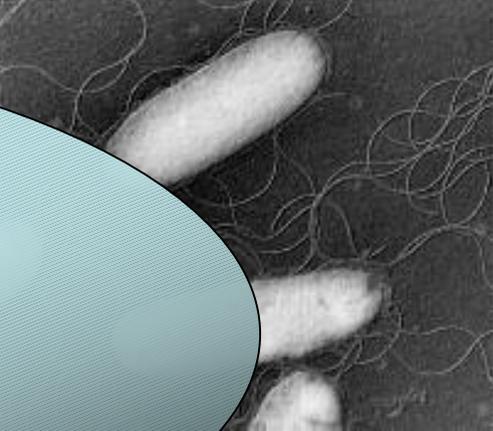


Ipocloridria gastrica



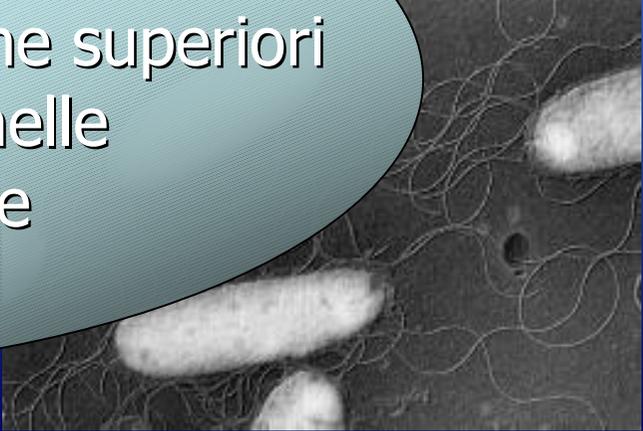
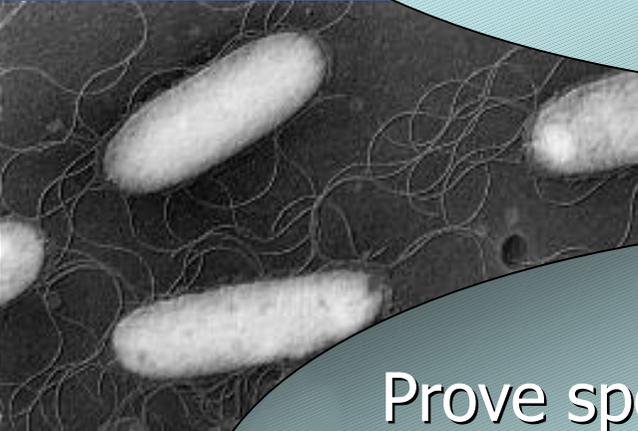
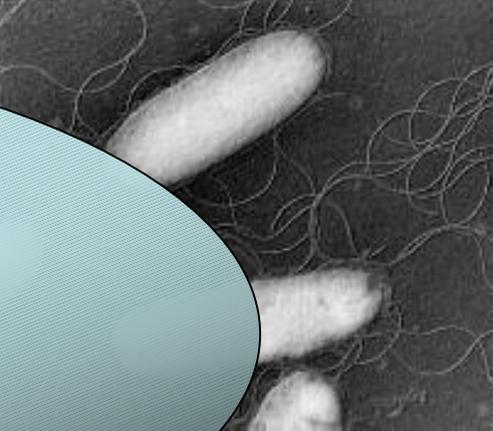
Persone con ridotta capacità digestiva
possono essere più sensibili alle
infezioni salmonellari





Caratteristiche dell'alimento

Alimenti ricchi di grasso e/o
mangiati a stomaco vuoto facilitano
il transito di *Salmonella* verso l'intestino

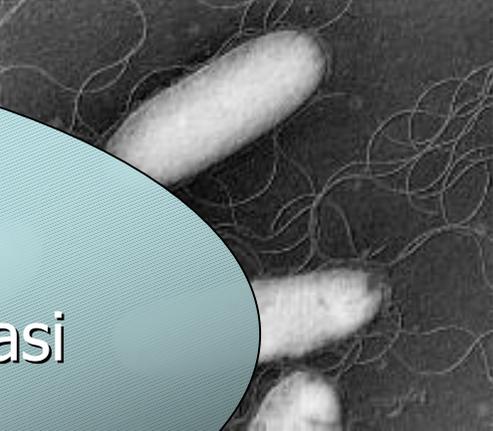


Il “problema” della carica infettante

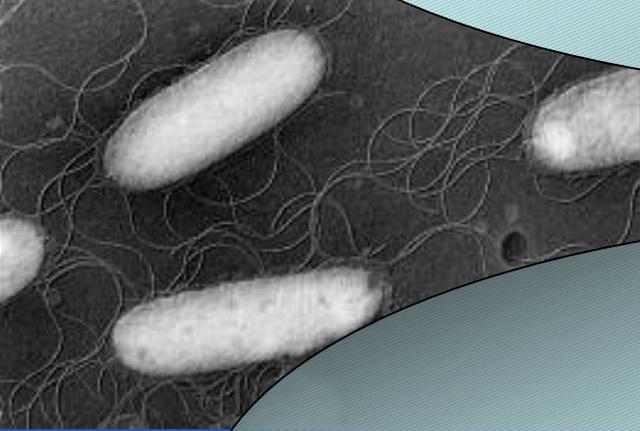
Prove sperimentali su volontari umani
dimostrano che occorrono cariche superiori
a 10.000 ufc/g di salmonelle
per dare gastroenterite

Dosi minime infettanti dei principali patogeni alimentari,
determinate su volontari umani

Microrganismo	Dose minima infettante
<i>Campylobacter jejuni</i>	50
<i>Escherichia coli</i>	
enteropatogeni (EPEC)	10 ⁶
enterotossigeni (ETEC)	10 ⁷
verocitotossici (VTEC)	10
<i>Salmonella</i> ser. anatum	5,9 x 10 ⁵
<i>Salmonella</i> ser. barreilly	1,3 x 10 ⁵
<i>Salmonella</i> ser. derby	1,5 x 10 ⁷
<i>Salmonella</i> ser. meleagridis	7,6 x 10 ⁶
<i>Shigella dysenteriae</i>	10
<i>Vibrio cholerae</i> (classico)	10 ⁴
<i>Vibrio cholerae</i> (El Tor)	10 ³
<i>Vibrio cholerae</i> (O139)	10 ⁴
<i>Vibrio cholerae</i> (non O1)	10 ⁶
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	3,0 x 10 ⁷

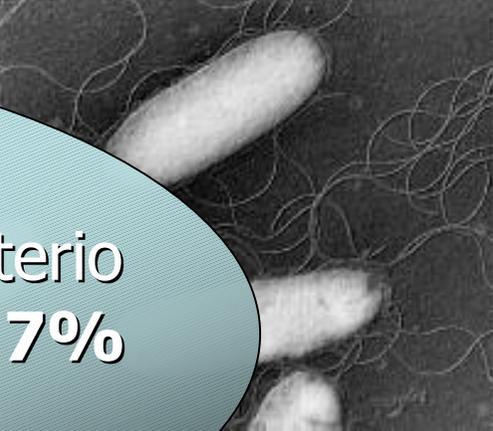


In bibliografia, però,
sono documentati **alcuni (rari)** casi
di salmonellosi alimentare ...

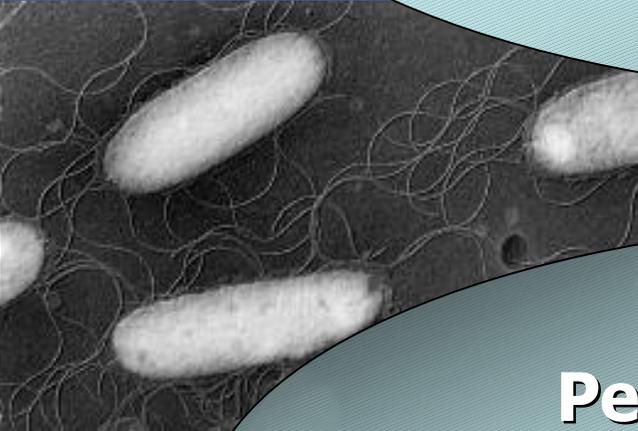


... causati da alimenti
contenenti meno di 1.000 o di 100 ufc/g
di *Salmonella* spp.

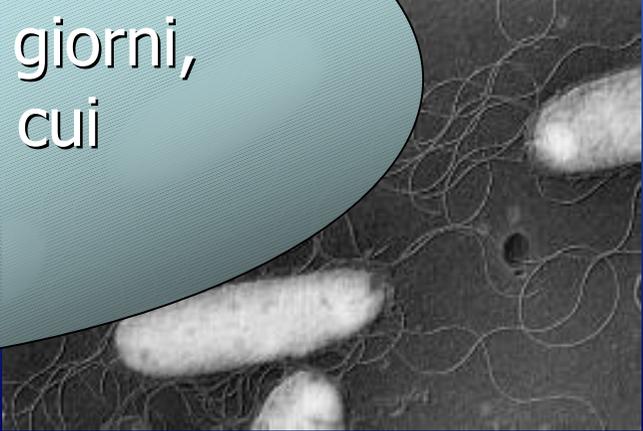




La **percentuale di attacco** del batterio (*attack rate*) è stimata in media **dal 7% al 10%** delle persone esposte

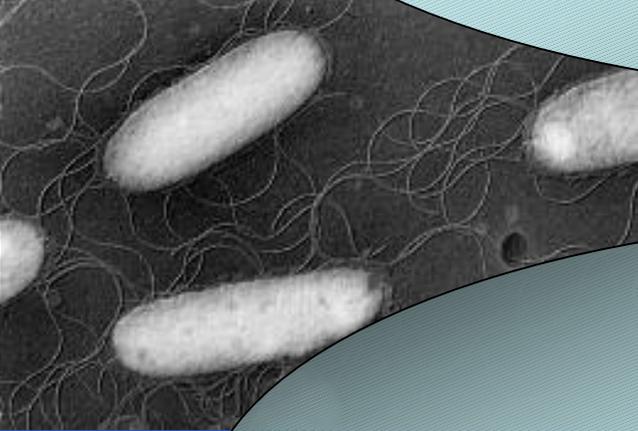


Periodo di incubazione
da meno di 24 ore a oltre 9 giorni,
in base a vari fattori, tra cui
la carica infettante

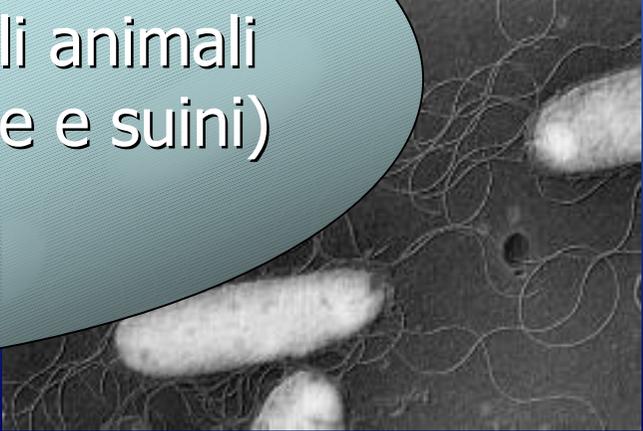


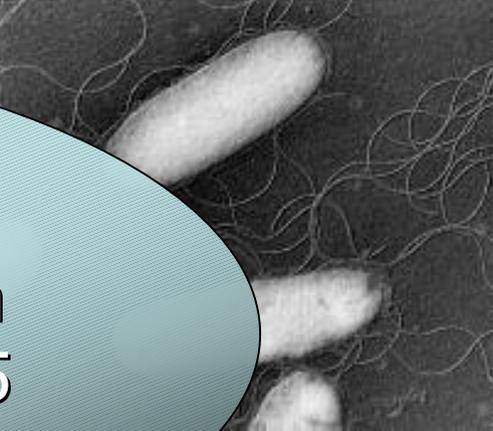


Il batterio è ubiquitario nell'ambiente, ma il principale serbatoio di diffusione resta ...

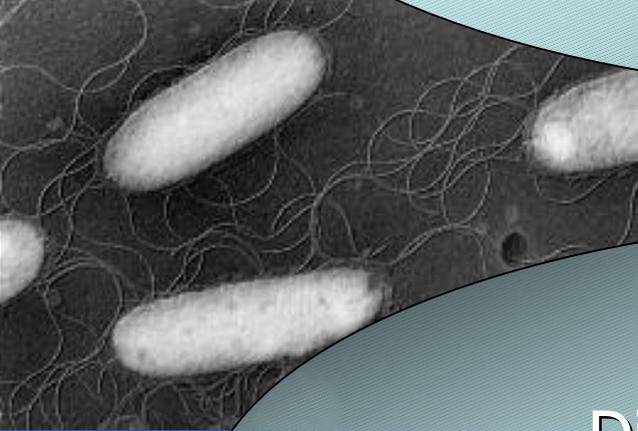


... il contenuto intestinale degli animali da reddito (soprattutto pollame e suini)

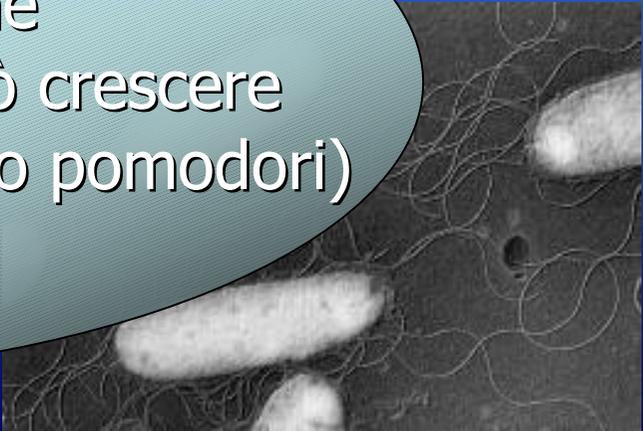


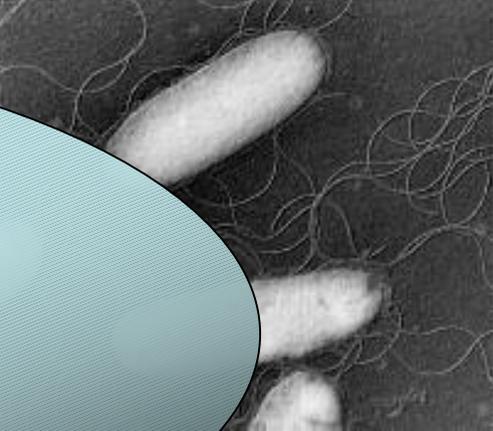


Falso che *Salmonella* non cresca
in alimenti con pH inferiore a 4,5

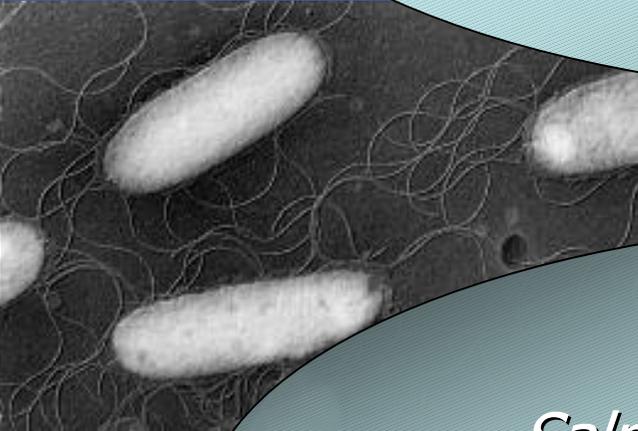


Dimostrato, invece, che
in condizioni particolari può crescere
anche fino a pH 4,1 (es., yogurt o pomodori)





Conta il tipo di acido organico
presente nell'alimento o
utilizzato per acidificare

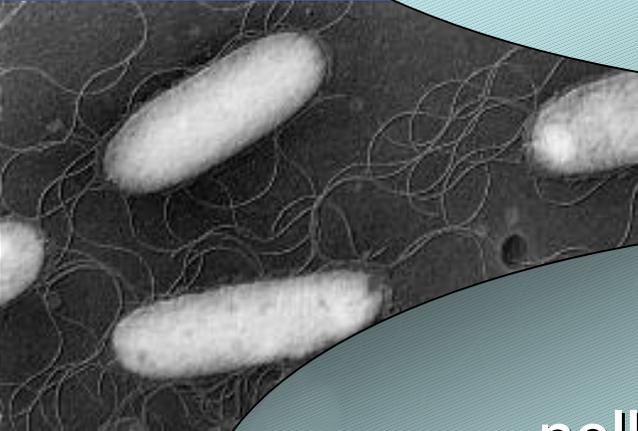


Salmonella è molto sensibile
ad acido acetico e lattico, molto più resistente
all'acido citrico (frutta, pomodori)

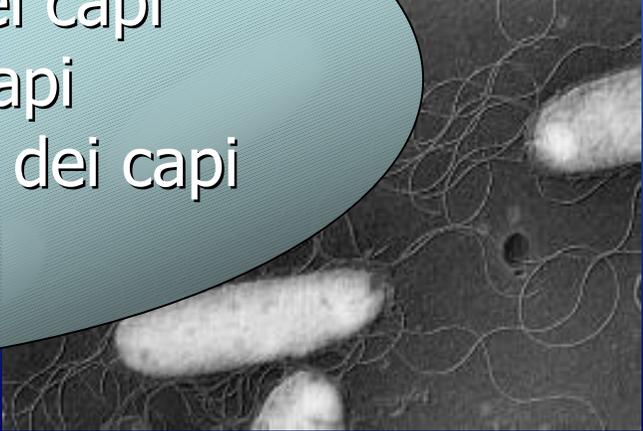




Incidenza stimata dei portatori asintomatici
di *Salmonella* nel tratto gastroenterico
fra gli animali da reddito ...

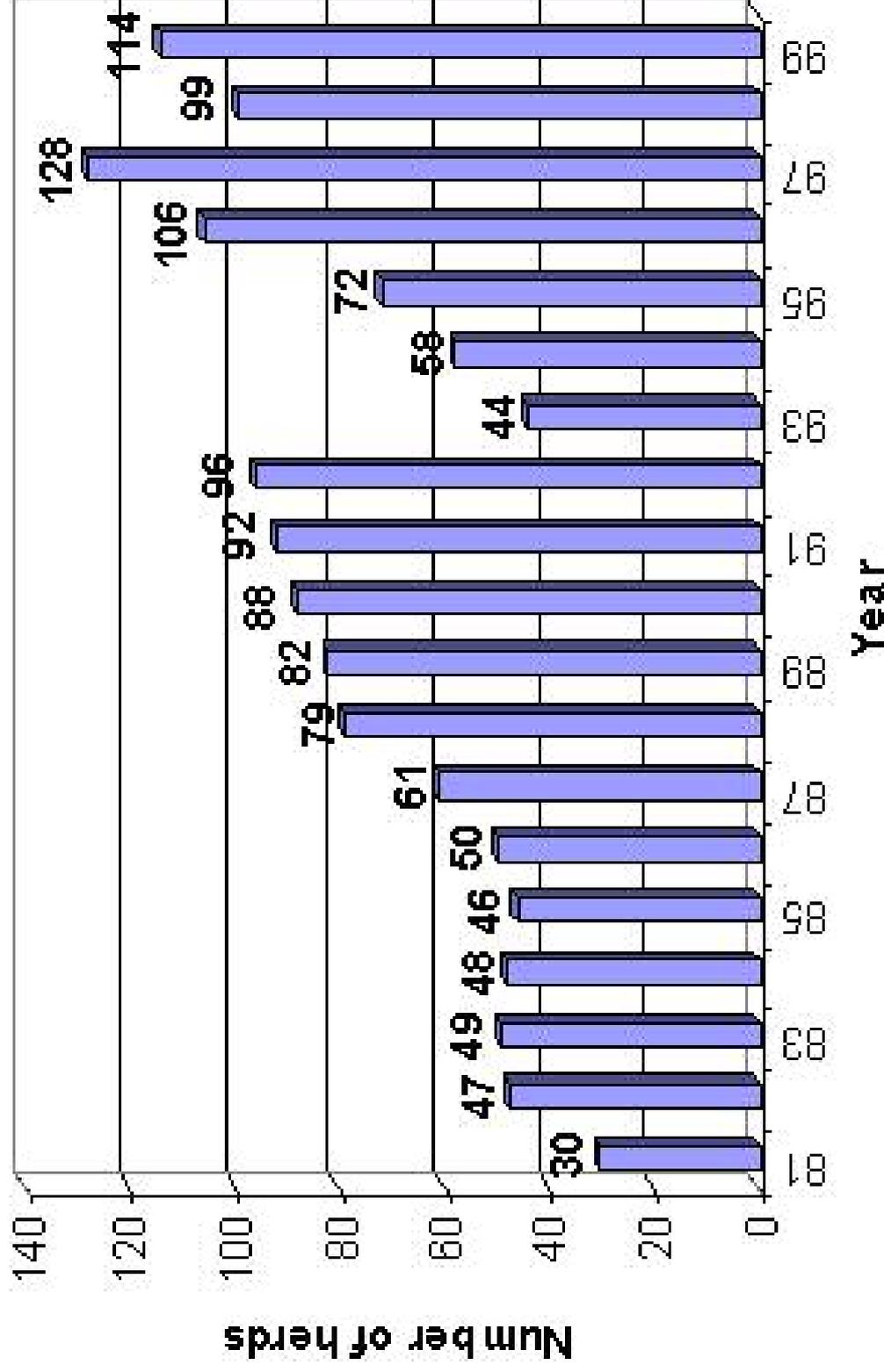


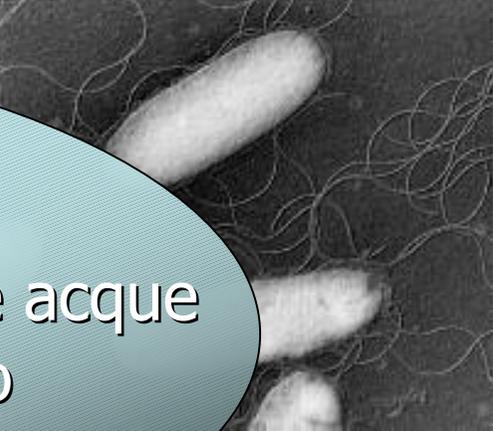
... pollame: fino all'80% dei capi
suini: fino al 60% dei capi
bovini ed equini: fino al 30% dei capi



Animal Health Status of Switzerland

Salmonellosis

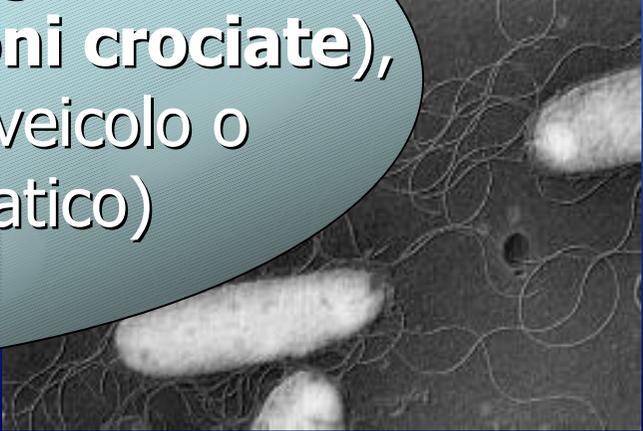




Sono, quindi, fonti di diffusione di *Salmonella*, il terreno concimato e le acque superficiali, gli animali da reddito e da compagnia, ...



... vegetali e frutta, uova in guscio, superfici di lavoro (**contaminazioni crociate**), il personale lavorante (come veicolo o soggetto portatore asintomatico)



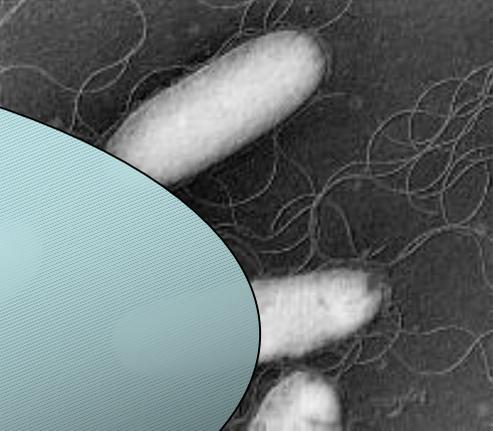


Uno dei punti in cui si ha più spesso diffusione di salmonelle alle carni è il **macello**, specialmente quello avicolo

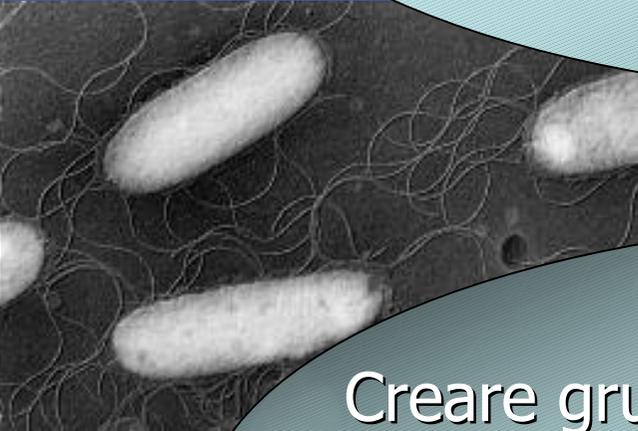


Da lì, *Salmonella* può poi diffondere lungo tutta la filiera delle carni (sezionamento, carni trite, salumificio, macellerie)



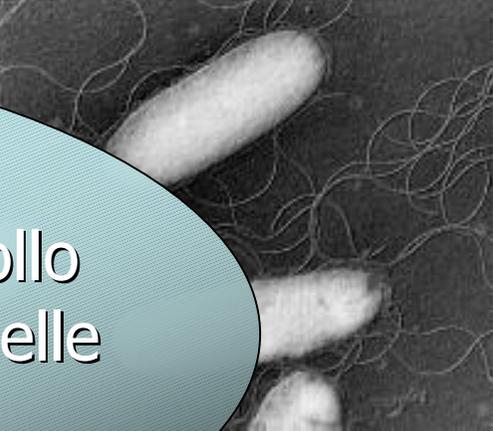


**Sistemi possibili
di prevenzione**

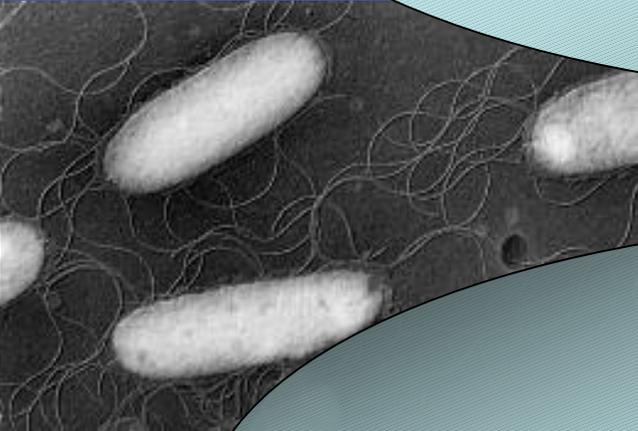


Creare gruppi di animali *Salmonella-free*
già in allevamento e curare il più possibile
le **Buone Prassi Igieniche** di lavorazione
in tutte le industrie alimentari

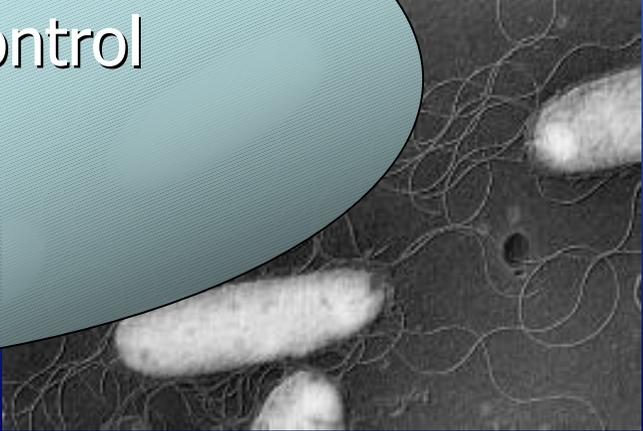




Istituzione dei programmi di controllo speciali europei per l'eradicazione delle salmonellosi animali, come ...

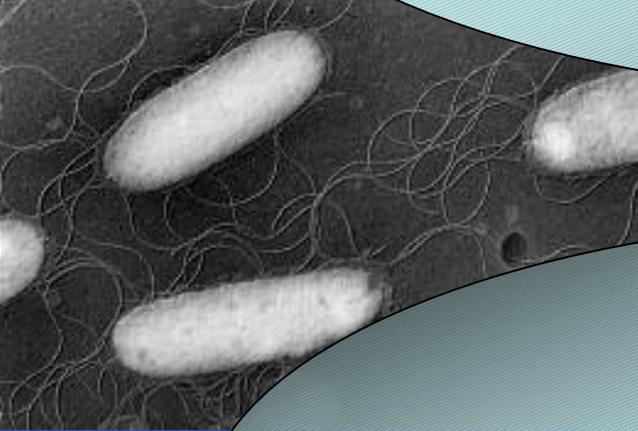


... il Finnish *Salmonella* Control Program (FSCP)

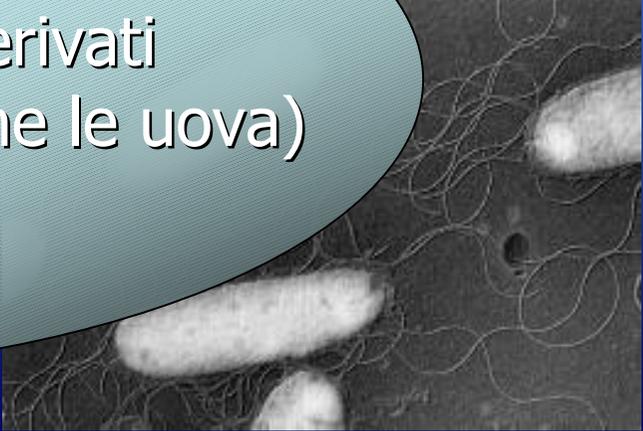


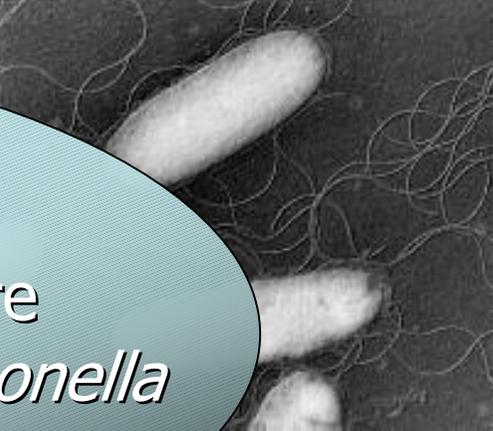


Scopo di questo programma,
ridurre sotto l'1% l'incidenza annua di
Salmonella spp. in animali allevati ...

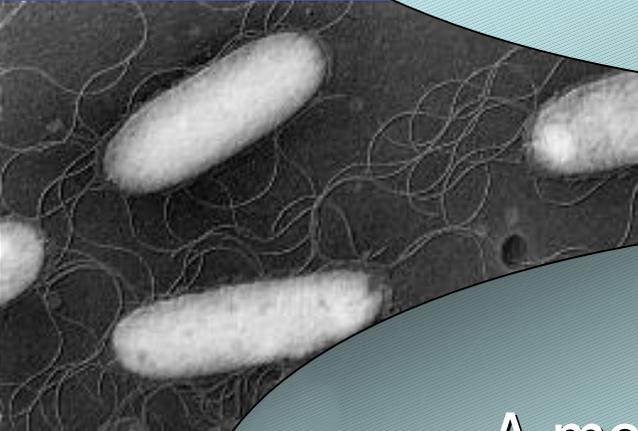


... e nei prodotti da essi derivati
(in particolare le carni, ma anche le uova)

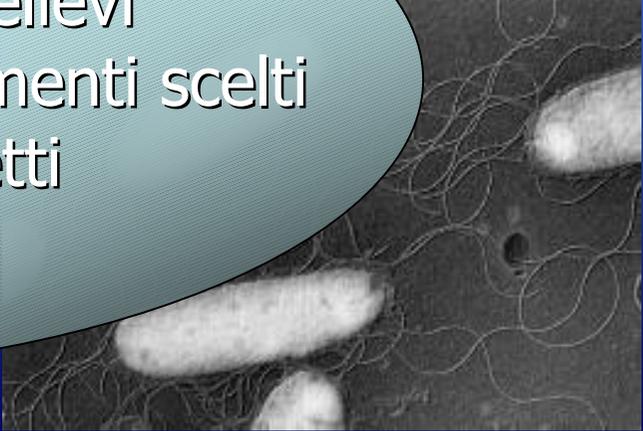


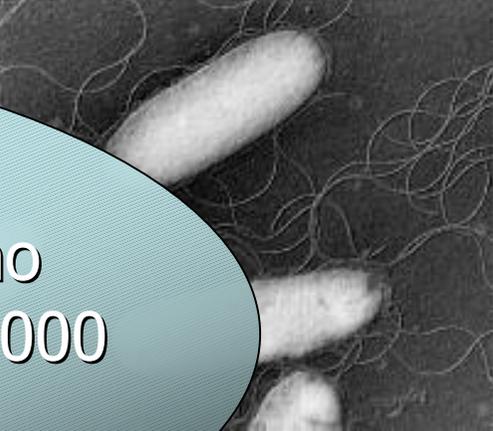


Il programma è mirato a prevenire
la diffusione di tutti i sierotipi di *Salmonella*

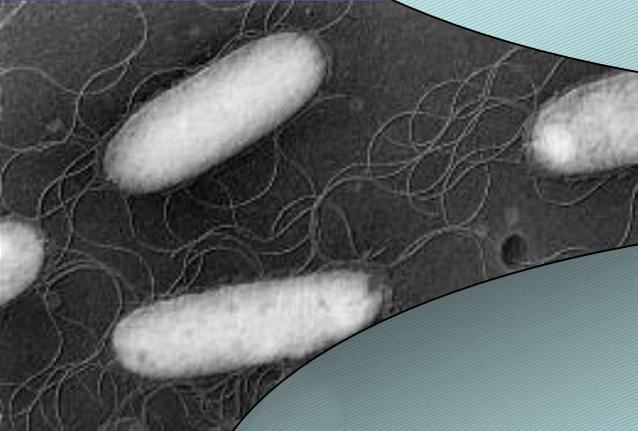


A monte, si effettuano prelievi
di feci da animali vivi da allevamenti scelti
a caso e di quelli sospetti

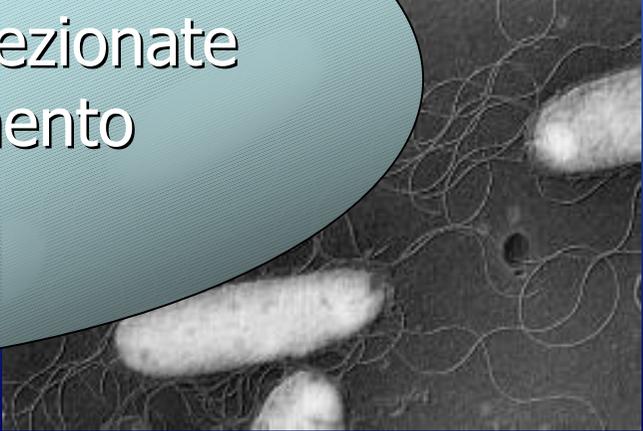


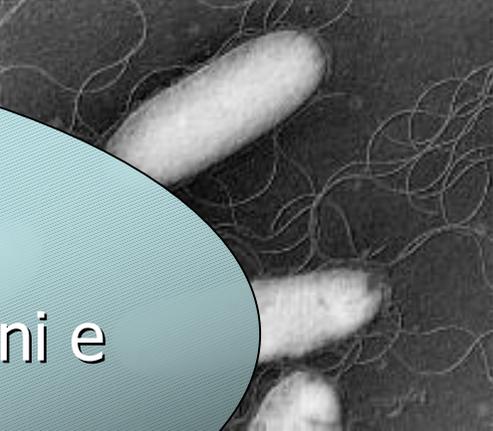


Nei macelli, si prelevano ogni anno
linfonodi e tamponi superficiali da 3000
maiali all'ingrasso e 3000 scrofe, ...

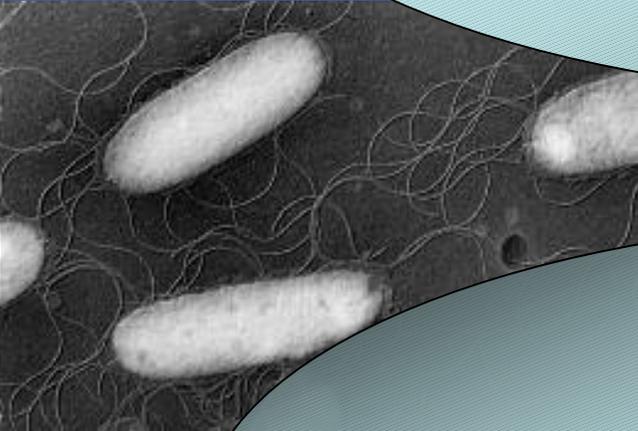


... e 3000 campioni di carni sezionate
nei laboratori di sezionamento

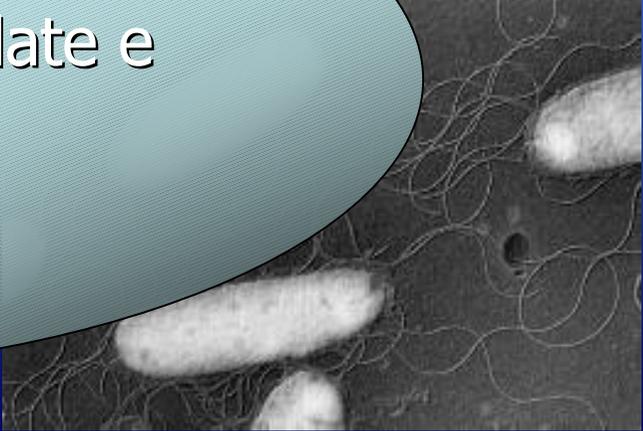




Procedure analoghe si seguono
per i controlli negli allevamenti bovini e
di pollame (compresi gli incubatoi) ...

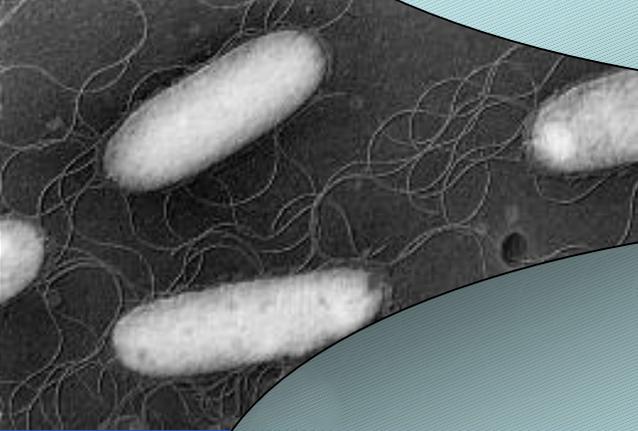


... e per le carcasse macellate e
le carni sezionate





Per gli alimenti importati dall'estero,
devono essere scortati da una dichiarazione
che certifichi l'assenza di ...

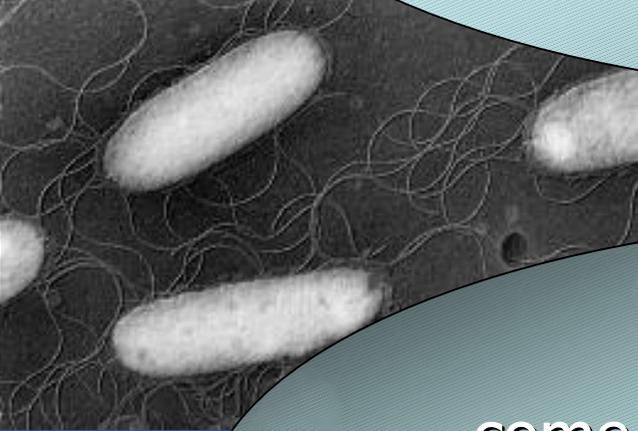


... *Salmonella* nella partita, con analisi
eseguite a carico del paese speditore



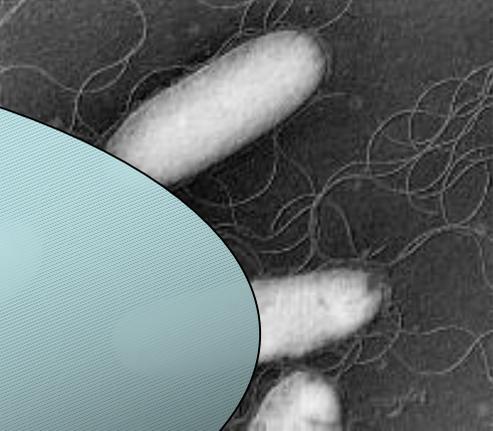


Majjala e collaboratori (2004)
tra il 1995 e il 2001 il programma ha raggiunto
i bersagli previsti, restare sotto l'1% ...

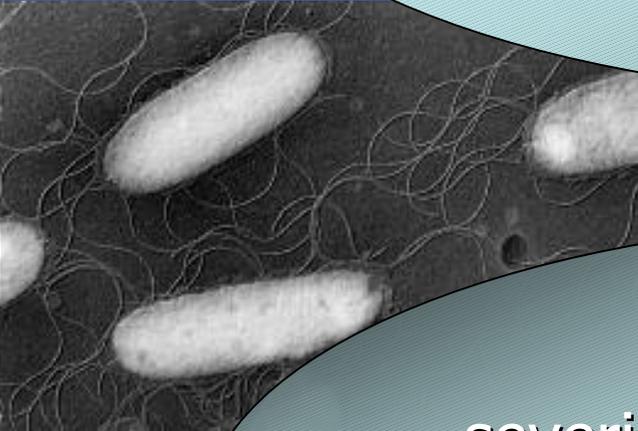


... come prevalenza di salmonelle sia
tra gli animali da reddito in allevamento
che nelle carni da essi ricavate

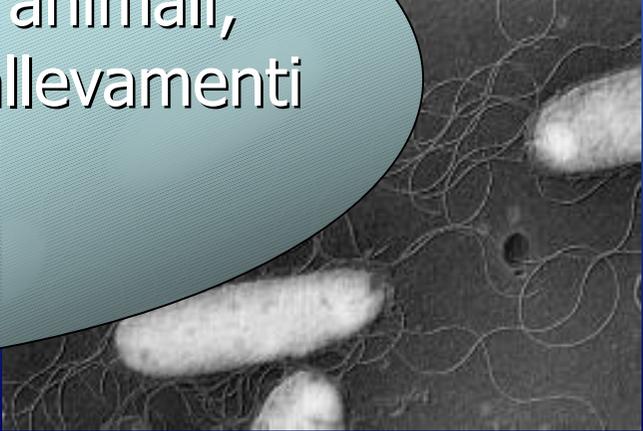


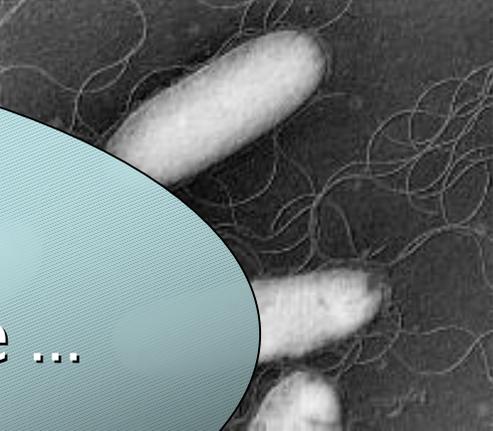


Per creare gruppi
di animali *Salmonella-free* ...

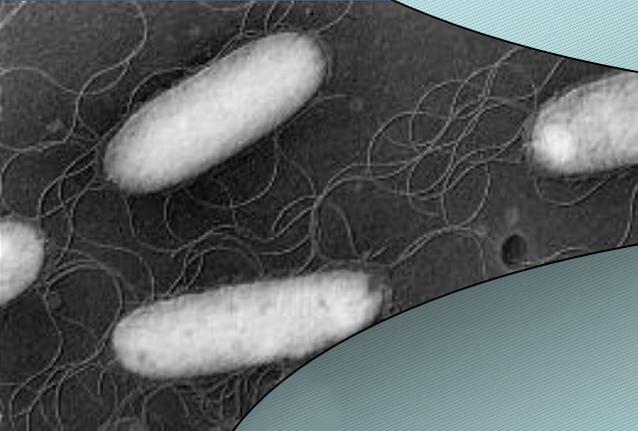


... severi controlli sulle farine animali,
lotta a insetti, topi e uccelli in allevamenti
e industrie alimentari





Sugli animali è possibile intervenire ...

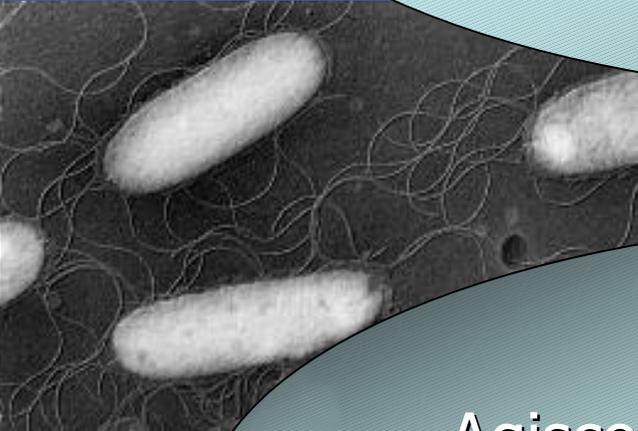


... vaccinandoli o somministrando loro
batteri probiotici (Esclusione Competitiva)





Si utilizzano *Bacteroides* spp. o *Eubacterium* spp., anaerobi, in grado di aderire alla mucosa enterica del cieco

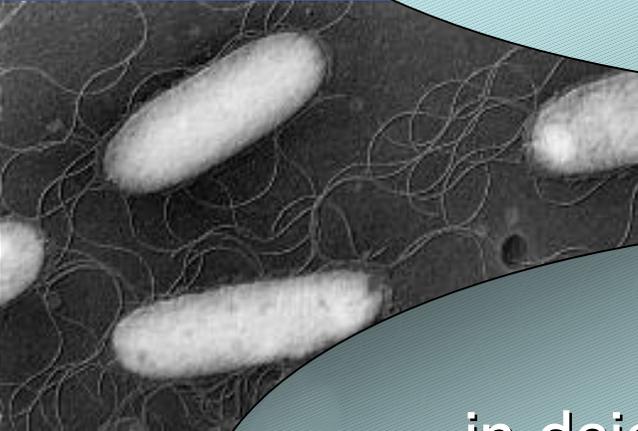


Agiscono per azione meccanica e poi chimica (produzione di acidi grassi volatili e altri composti antimicrobici)





Persistenza di *Salmonella*, *Campylobacter*,
E. coli O157:H7 e *Listeria monocytogenes* ...

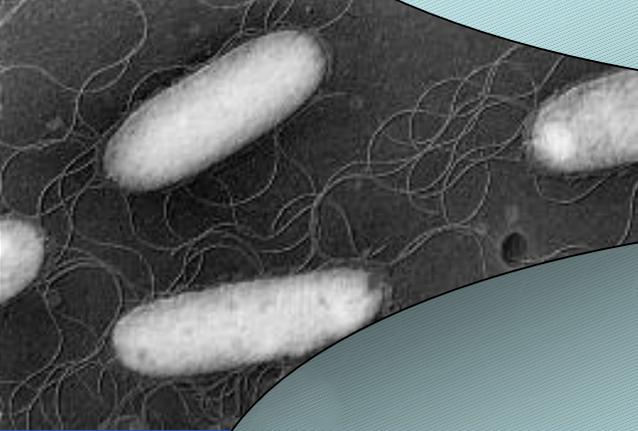


... in deiezioni animali liquide e solide
disperse sui campi come concimazione
(Nicholson *et al.*, 2004)

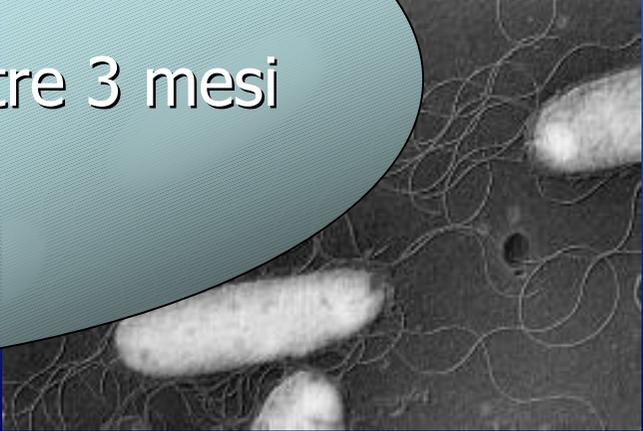




Nel liquame, *Salmonella*, *Campylobacter* e *E. coli* O157:H7 persistono fino a 3 mesi ...

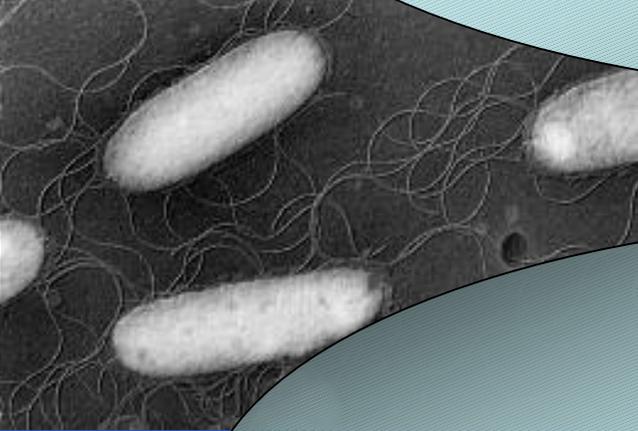


... *L. monocytogenes* anche oltre 3 mesi

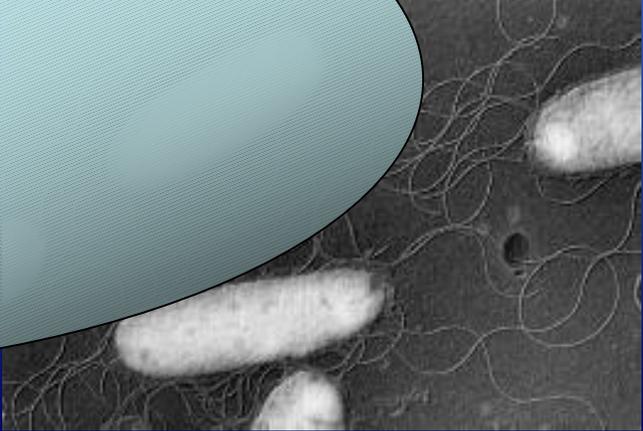




Nel letame solido,
Salmonella, *Campylobacter* e *E. coli*
persistono non più di 1 mese ...

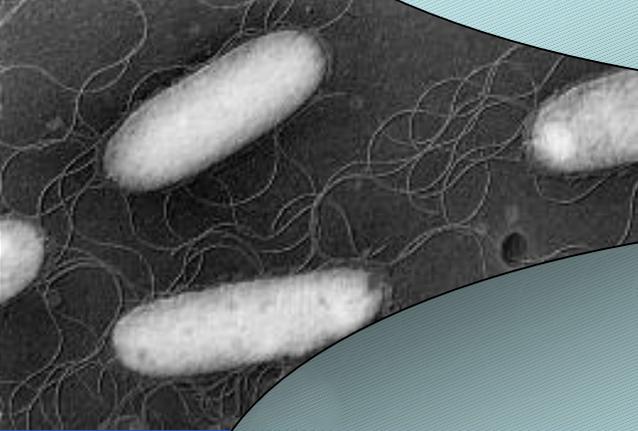


... e nemmeno
L. monocytogenes

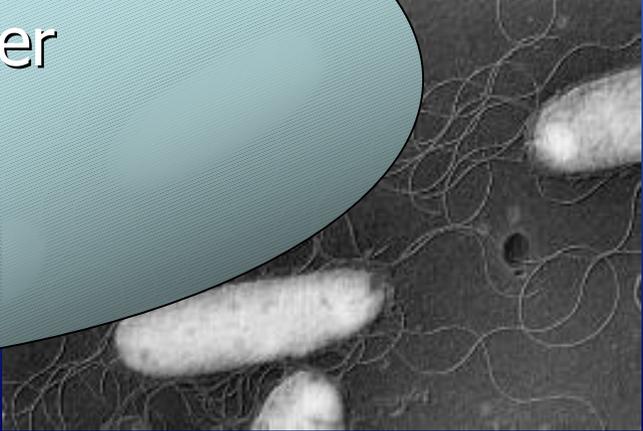


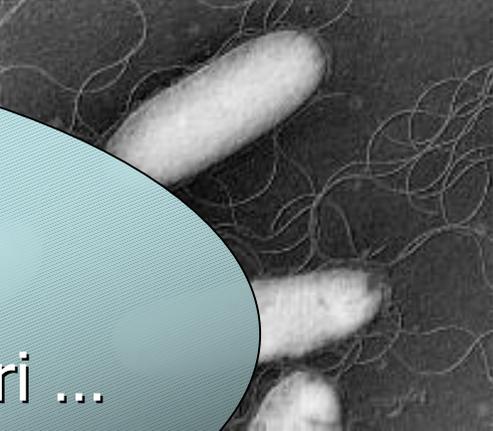


Nel terreno concimato,
Salmonella, *Campylobacter* e *E. coli*
persistono circa per 1 mese ...

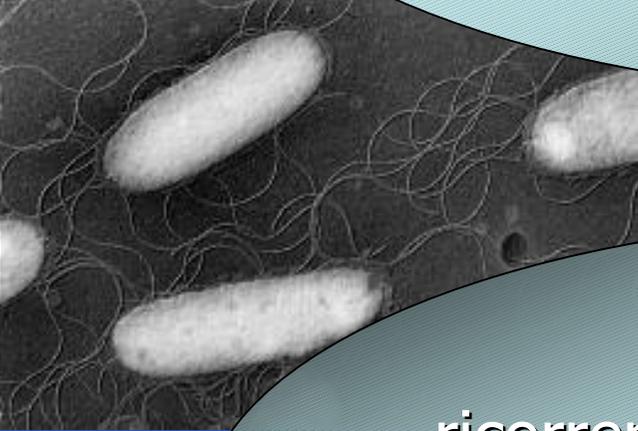


... *L. monocytogenes* per
più di 1 mese



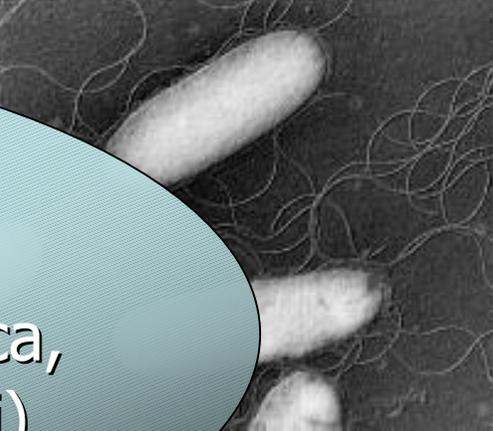


Per limitare l'inquinamento
da *Salmonella* nei prodotti alimentari ...

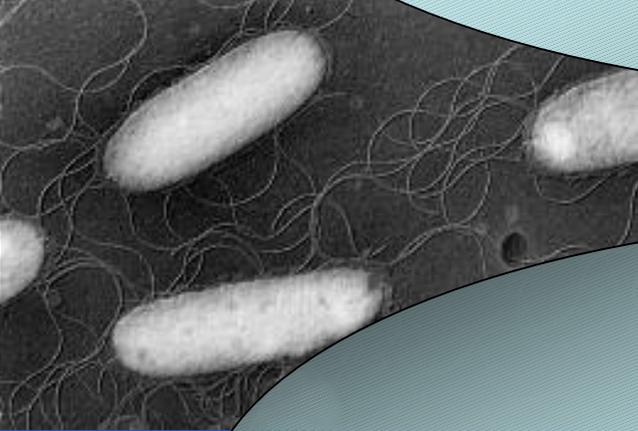


... ricorrere a tecniche di conservazione
che assicurino l'inattivazione del batterio
o nel rallentino molto la crescita, ...

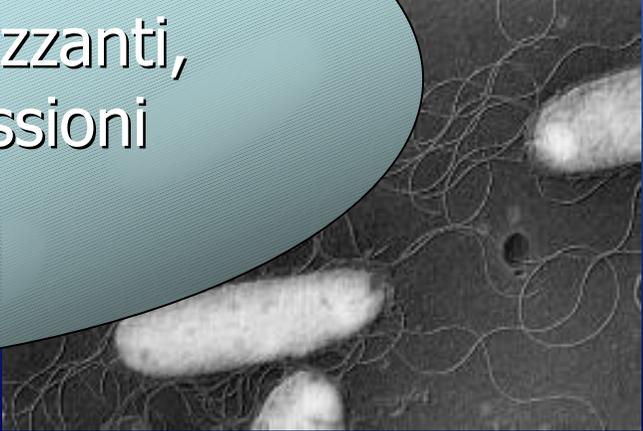


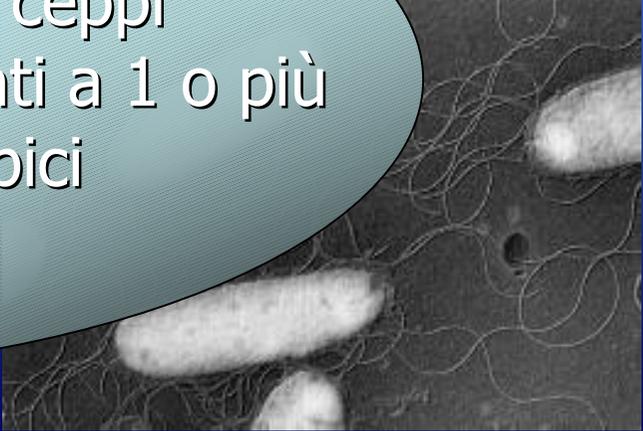
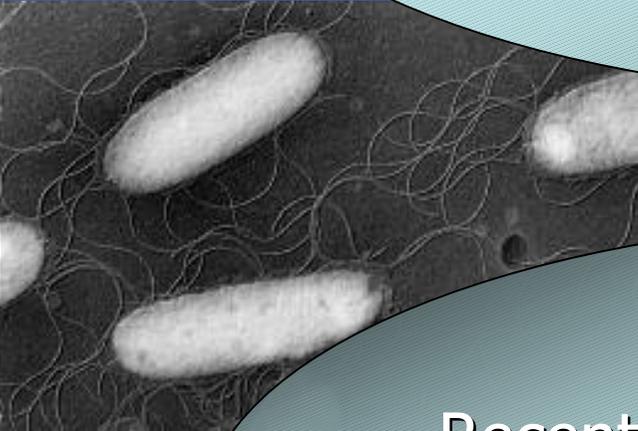
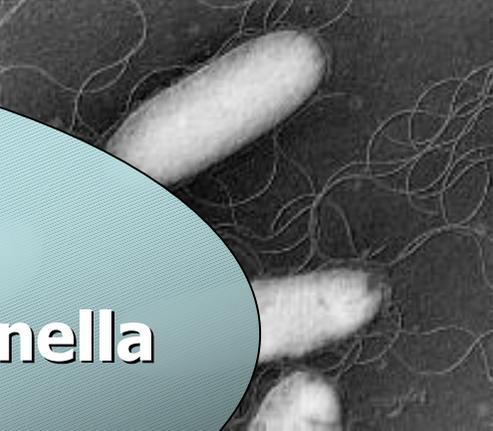


... come trattamenti termici,
processi di fermentazione microbica,
aggiunta di additivi alimentari (nitriti), ...



... impiego di radiazioni ionizzanti,
microfiltrazione e alte pressioni



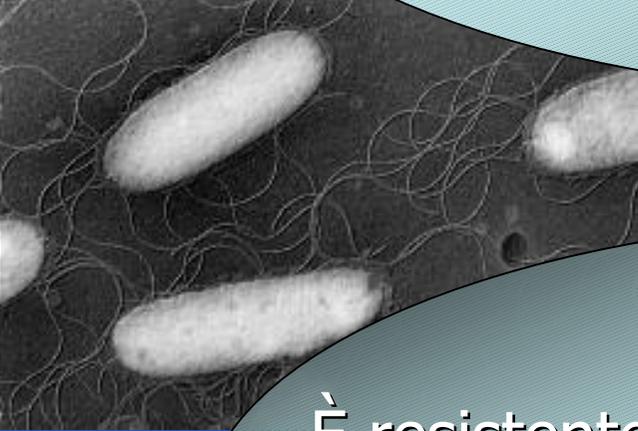


L'antibiotico-resistenza in *Salmonella*

Recente, forte diffusione di ceppi di *Salmonella* non tifoide resistenti a 1 o più antibiotici o chemioterapici



Primeggia il “distinguished type”
DT104 di *Salmonella* ser. typhimurium,
ma se ne conoscono altri

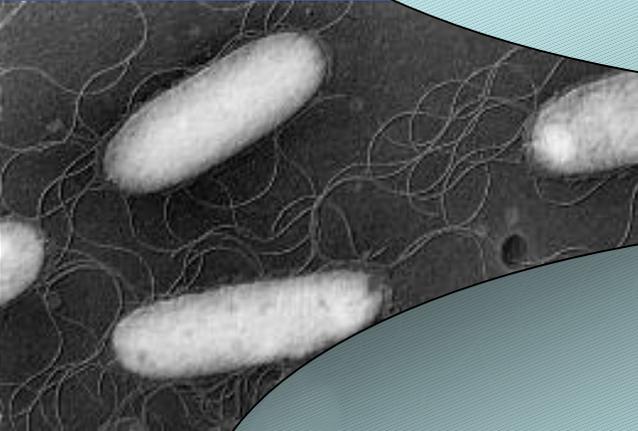


È resistente ad ampicillina, cloramfenicolo,
streptomicina, sulfamidici e tetracicline,
da cui l'acronimo di “fenotipo ACSSuT”

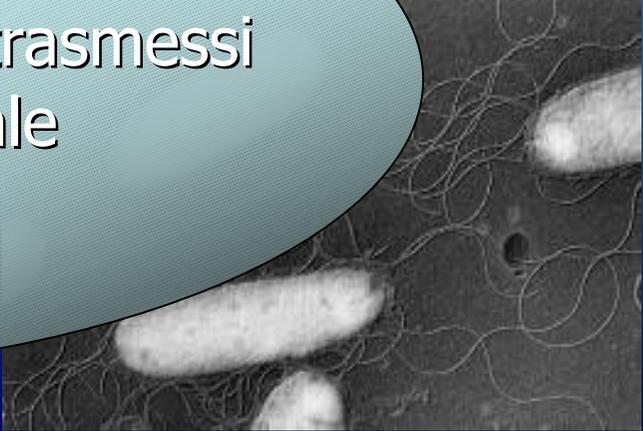


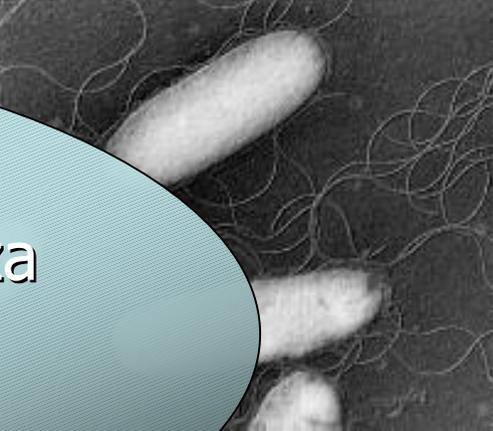


I geni che codificano la resistenza sono posti su due "integroni" che sono stati ritrovati anche sul clone DT120

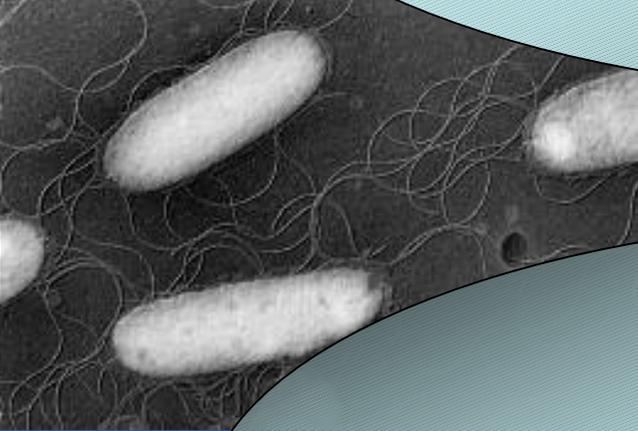


Gli integroni possono essere trasmessi anche per via orizzontale

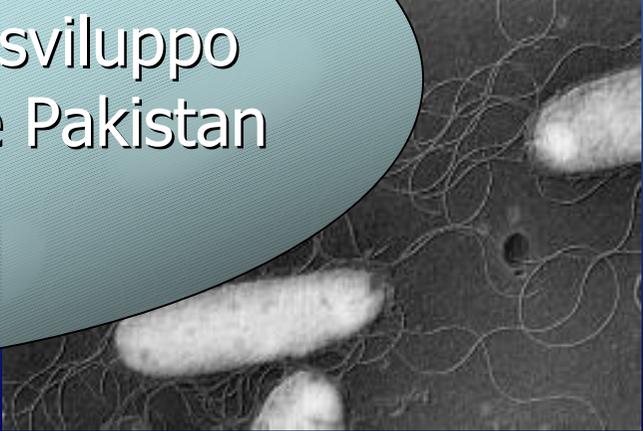


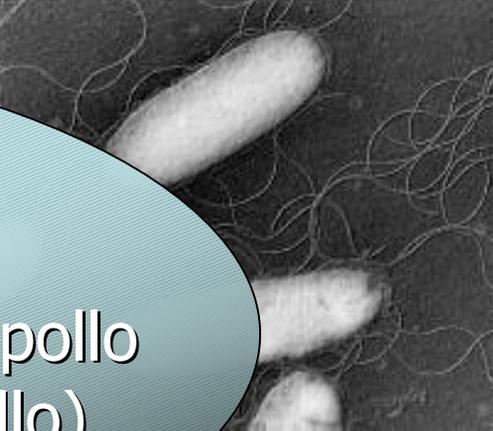


L'aumento di antibiotico-resistenza
è segnalato anche per ceppi di
Salmonella ser. typhi, soprattutto ...

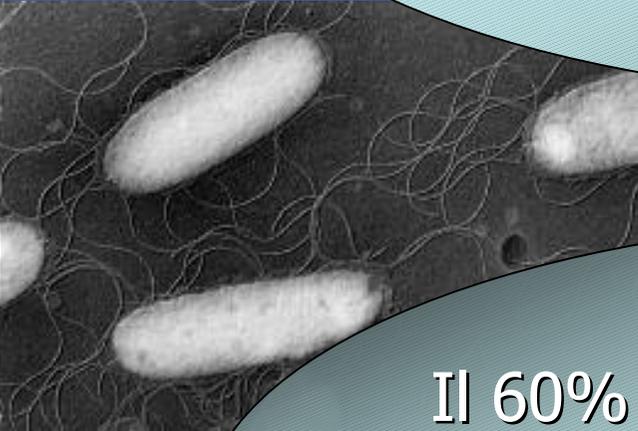


... nei paesi asiatici in rapido sviluppo
economico come Cina, India e Pakistan

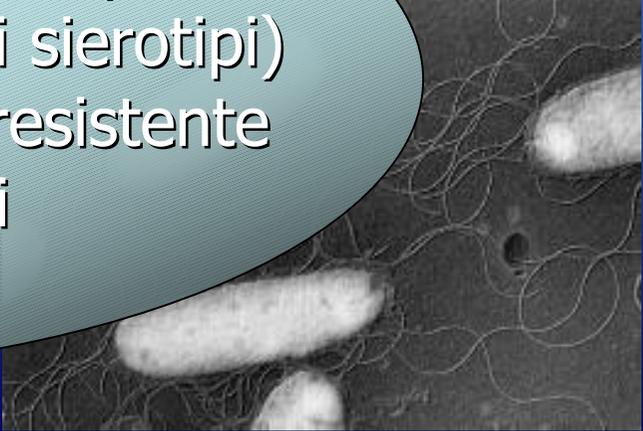




Antunes e coll. (2003)
effettuano controlli su 60 carcasse di pollo
nelle macellerie di Oporto (Portogallo)

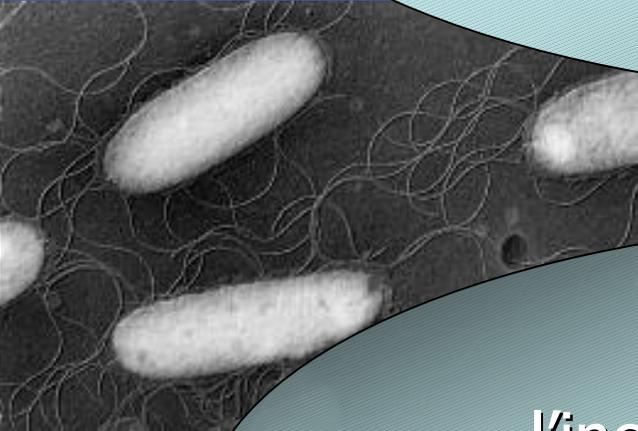


Il 60% dei campioni è positivo per
Salmonella (isolati 10 differenti sierotipi)
Il 75% dei sierotipi è risultato resistente
a uno o più antibiotici

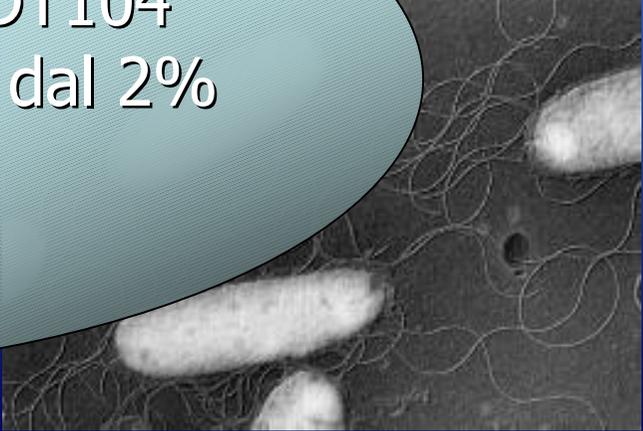




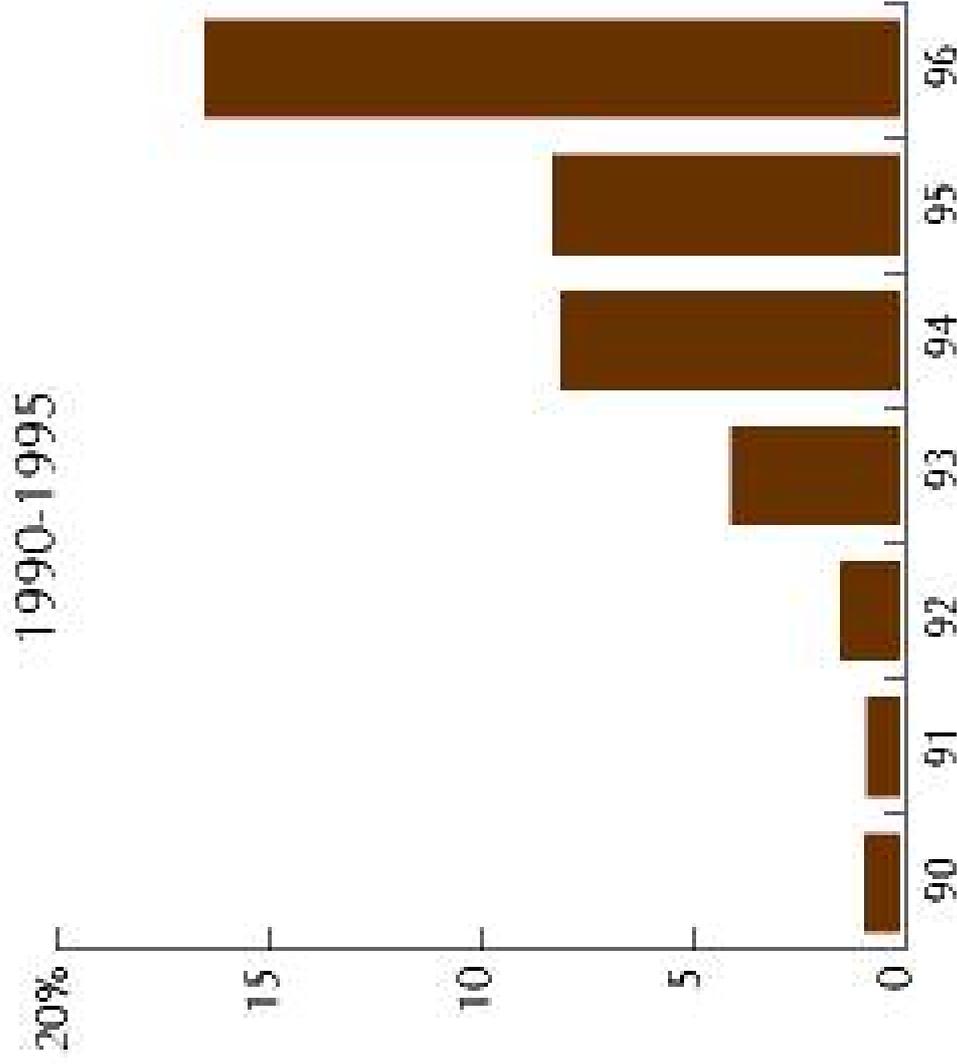
In Germania, tra il 1990 e il 1995
sul totale dei ceppi salmonellari isolati da
animali, alimenti e persone colpite
da salmonellosi ...



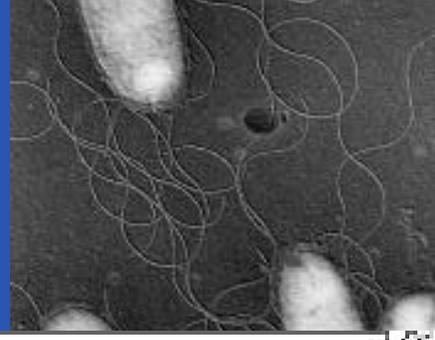
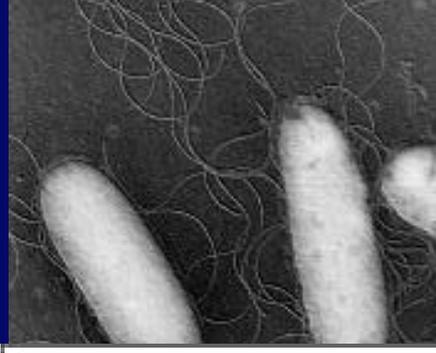
... l'incidenza del fagotipo DT104
di *S. typhimurium* è passata dal 2%
al 17%



**SALMONELLA RESISTANCE
IN GERMANY:
% *S. typhimurium* DT1104**

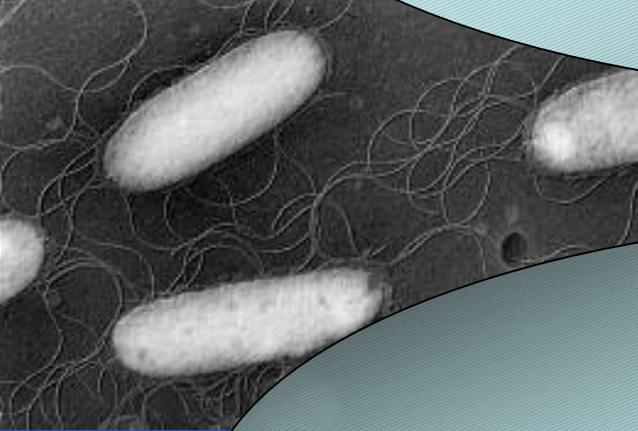


Source: World Health Organization/CSR

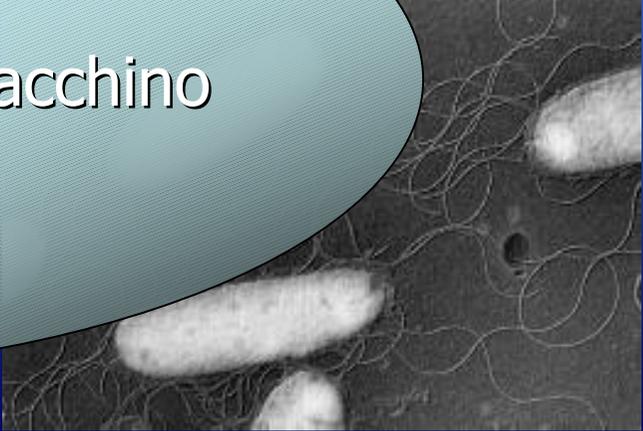


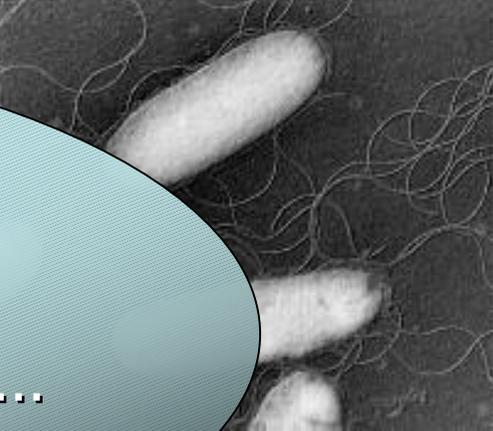


Midwest degli USA
Olah e coll. (2004) analizzano ceppi di
Salmonella e *Campylobacter* ...

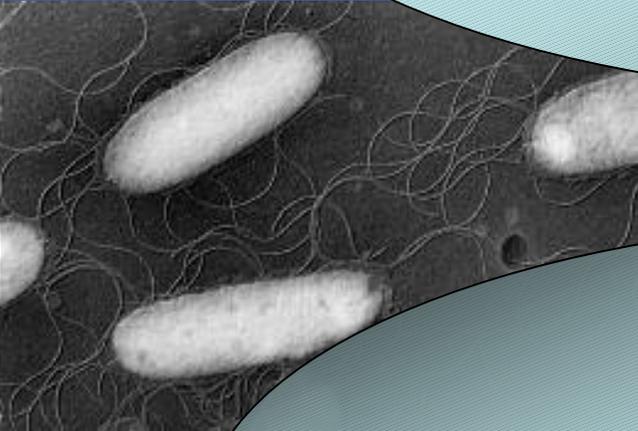


... isolati da 94 carcasse di tacchino

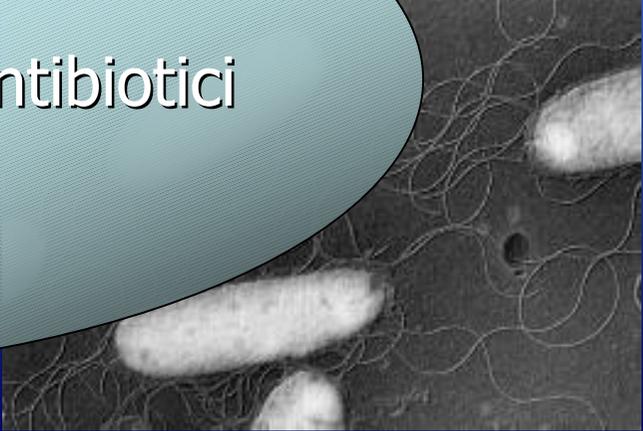


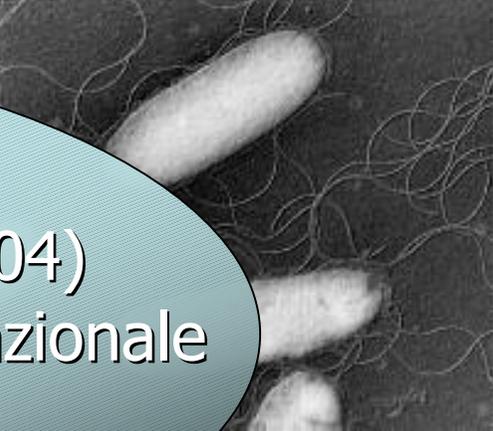


Il 44% dei cloni di Salmonella è risultato resistente a 4 antibiotici ...

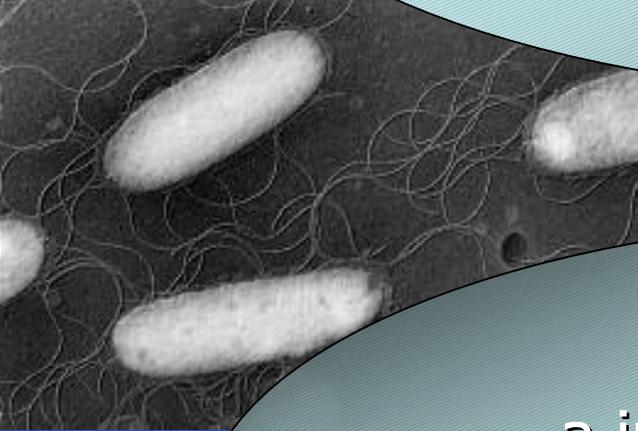


... e un altro 38% a cinque antibiotici

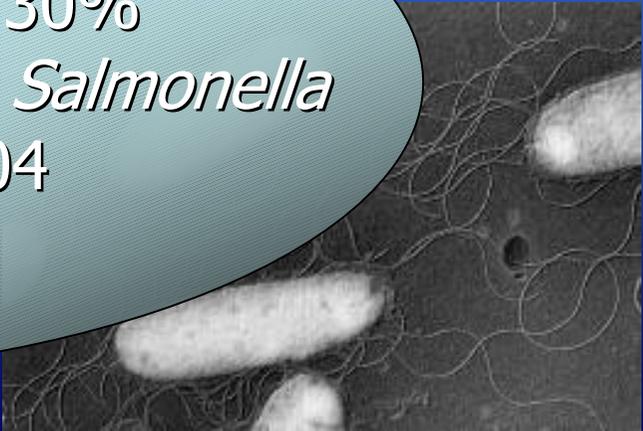


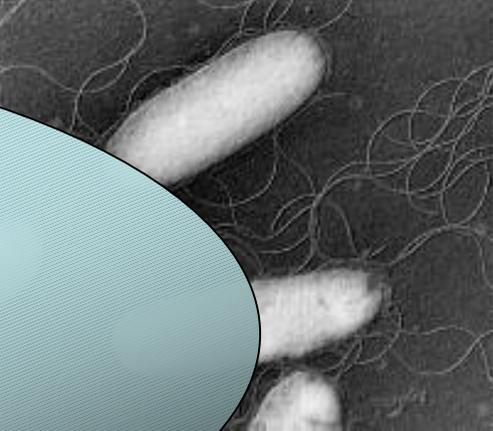


In Danimarca, Rugbjerg e coll. (2004)
ipotizzano che il sistema di controllo nazionale
per le salmonelle riesca

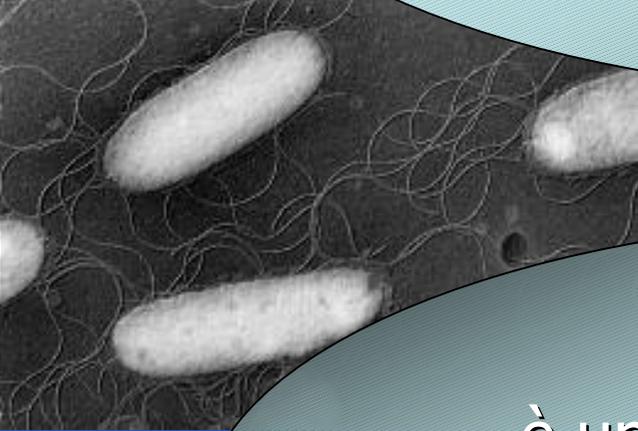


... a individuare appena il 30%
degli allevamenti suini infetti da *Salmonella*
ser. typhimurium DT104



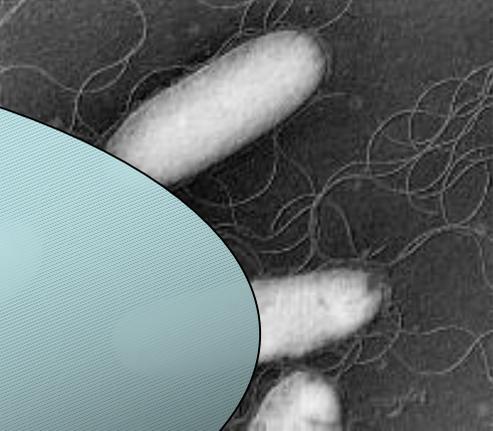


In sintesi, ...
l'impiego irrazionale e smodato
di antibiotici in zootecnia ...

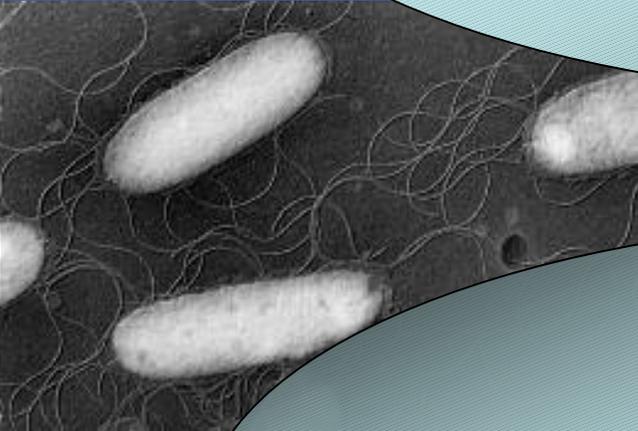


... è uno dei fattori più importanti
che determinano la nascita di nuovi
cloni batterici antibiotico-resistenti



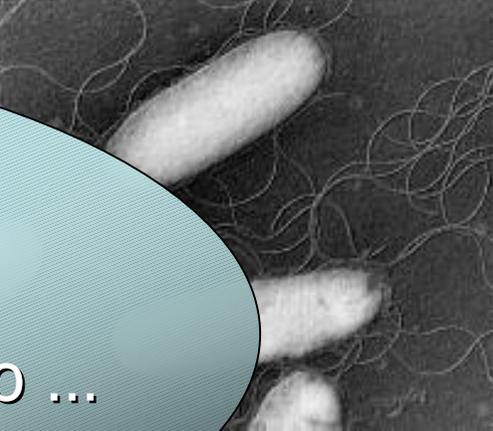


Una volta selezionatisi
fra gli animali da reddito, ...

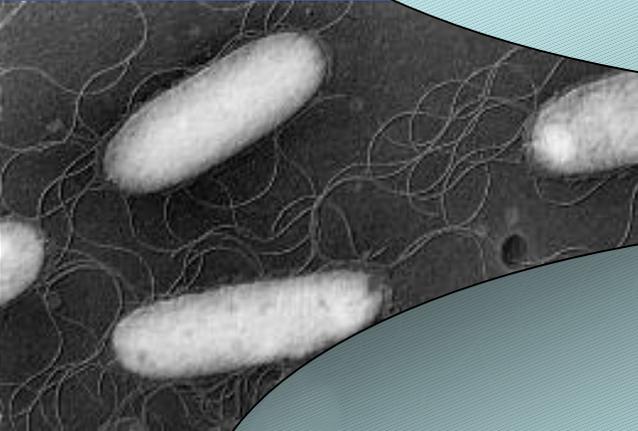


... questi cloni possono trasferirsi
alle derrate alimentari (carni fresche e uova)

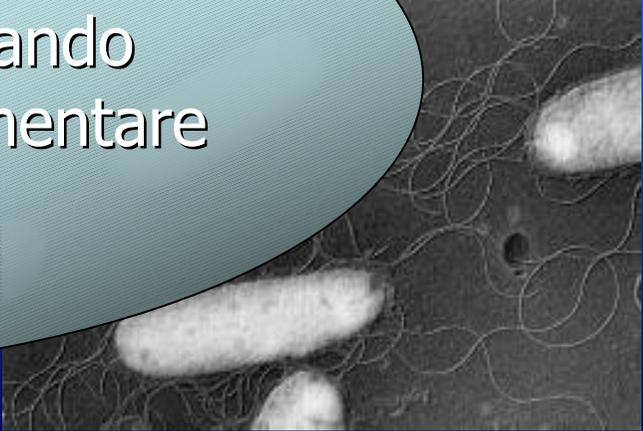


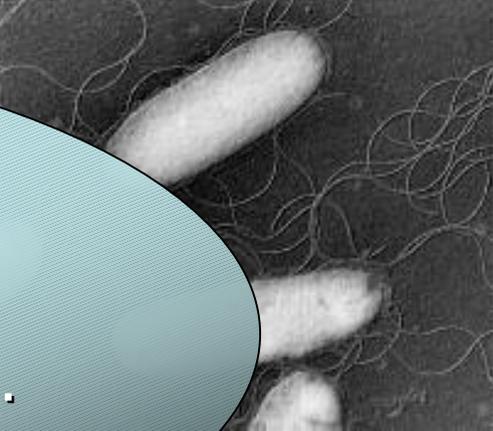


Tramite gli alimenti,
i ceppi antibiotico-resistenti possono ...

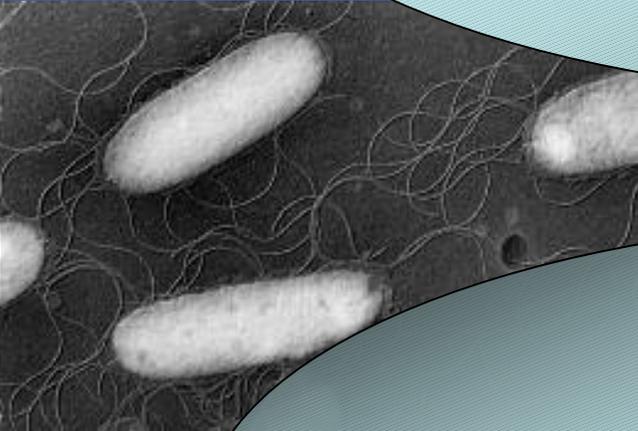


... arrivare all'uomo, causando
gravi episodi di malattia alimentare





Grazie a scambi internazionali
di animali e derrate alimentari, ...



... i ceppi antibiotico-resistenti
stanno diffondendosi su scala mondiale

