



# UNIVERSITÀ DI PARMA

FACOLTÀ DI MEDICINA VETERINARIA  
DIPARTIMENTO DI SCIENZE MEDICO-VETERINARIE

LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA VETERINARIA

***Salmonella* nella filiera del suino,  
dall'allevamento al macello, e relative  
misure di controllo e prevenzione.**

***Salmonella in the pig supply chain, from the farm to  
the slaughterhouse, and related control and  
prevention measures.***

Relatore

Chiar.ma Prof.ssa

SILVIA BONARDI

Laureando

SILVIA MONDINI

ANNO ACCADEMICO 2020/2021

## **SOMMARIO**

ABSTRACT .....	4
1. INTRODUZIONE .....	7
2. IL GENERE SALMONELLA.....	8
2.1 CARATTERISTICHE GENERALI .....	8
2.2 CONDIZIONI DI CRESCITA.....	9
2.3 STRUTTURA ANTIGENICA .....	9
2.3.1 ANTIGENE O .....	9
2.3.2 ANTIGENE H .....	9
2.3.3 ANTIGENE Vi .....	10
2.4 FORMAZIONE DI BIOFILM.....	10
2.5 INTERFACCIA CON L'OSPITE .....	11
2.6 TASSONOMIA.....	13
3. ASPETTI CLINICI DELLA SALMONELLOSI NELL'UOMO E NEL SUINO .....	15
3.1 QUADRI CLINICI NELL'UOMO .....	15
3.2 QUADRI CLINICI NEL SUINO.....	17
4. SALMONELLA SPP. LUNGO LA FILIERA .....	18
4.1 ALLEVAMENTO .....	18
4.2 TRASPORTO .....	23
4.3 MACELLAZIONE .....	28
4.3.1 STALLA DI SOSTA.....	28
4.3.2 LINEA DI MACELLAZIONE.....	30
5. MISURE DI CONTROLLO E PREVENZIONE .....	34
5.1 ALLEVAMENTO .....	34
5.2 TRASPORTO .....	40
5.3 MACELLAZIONE .....	43

5.3.1 STALLA DI SOSTA.....	43
5.3.2 LINEA DI MACELLAZIONE.....	44
6. POSSIBILI ULTERIORI MISURE E OBIETTIVI FUTURI.....	48
7. CONCLUSIONI .....	53
BIBLIOGRAFIA .....	55

## ABSTRACT

This thesis aims to take into account all the stages of the pig supply chain in which *Salmonella* and the pig can come into contact, and the corrective and preventive actions to be implemented.

At the beginning, the general characteristics of *Salmonella* spp. will be described, such as morphological characteristics, growth conditions, antigenic type and formation of biofilms. The interaction with the host organism will then be discussed, with the mechanism it implements to carry out its pathogenic action against the host. Finally, the symptoms observed in infected humans and pigs will be illustrated.

In the second section, attention will be paid to the individual phases of swine supply chain, which are divided into: breeding, transport and slaughtering. Contamination by *Salmonella* spp. is possible throughout the supply chain. At farm the pig can first contract the infection and that is exactly the place where controls must begin. Then follows the transport phase, which generates a situation of great stress in the animal. Finally, at the slaughterhouse, during lairage the spread of *Salmonella* can take place in a short period of time, resulting in a very likely contamination and cross-contamination of the carcasses in the slaughter phase. The outcome of the process is the likely presence of *Salmonella* spp. in meat products, and the subsequent danger of food poisoning. Through this analysis the factors that turn out to be critical points along the supply chain will be identified. On this factors, attention must be paid and measures for the control and prevention of *Salmonella* spreading should be implemented.

Finally, we will analyze possible additional actions or changes in the organization of the swine supply chain, drawing inspiration from other countries, or considering studies that could give interesting results.

The main aim of this thesis is to collect data and suggestion for remaining constantly updated on the most appropriate measures to reduce as much as possible the contamination by *Salmonella* spp. along the swine supply chain.

La presente tesi di laurea ha l'obiettivo di prendere in considerazione tutte le fasi della filiera della carne suina nelle quali può verificarsi il contatto tra *Salmonella* e l'animale, nonché le azioni correttive e preventive da mettere in atto, per ridurre il rischio che ne può derivare.

Nella parte iniziale verranno descritte le caratteristiche generali di *Salmonella* spp., quali le caratteristiche morfologiche, le condizioni di crescita, gli aspetti antigenici e la capacità di formare biofilm. Successivamente verrà trattata l'interazione con l'organismo ospite, mediante descrizione del meccanismo messo in atto da *Salmonella* per svolgere la sua azione patogena nei confronti dell'organismo ospite. Infine verrà illustrata la sintomatologia riscontrabile nell'uomo e nel suino a seguito dell'infezione.

Nella seconda parte verrà posta l'attenzione sulle singole fasi della filiera, suddivise in allevamento, trasporto e macellazione. Lungo tutta la filiera può verificarsi la contaminazione da parte di *Salmonella*. L'allevamento è il primo luogo in cui il suino può contrarre l'infezione e rappresenta il punto di partenza per ogni strategia di controllo. Segue poi la fase di trasporto, che genera nell'animale una situazione di grande stress. Infine al macello, all'interno delle stalle di sosta la diffusione può avvenire anche in un arco di tempo ridotto, facendo aumentare il rischio di contaminazione e cross-contaminazione delle carcasse nella fase di macellazione. Tutto ciò si tradurrà nella presenza di *Salmonella* spp. nei prodotti che si otterranno dalla lavorazione delle carni suine, con il successivo rischio di tossinfezione alimentare nel consumatore. Tramite questa analisi verranno quindi individuati quei fattori che vengono considerati punti critici lungo la filiera, sui quali è necessario porre attenzione e sui quali devono essere attuate misure per il controllo e la prevenzione della diffusione del patogeno. Queste misure verranno descritte illustrando anche i loro limiti di applicabilità.

Infine verranno analizzate possibili azioni aggiuntive o modifiche nell'organizzazione della filiera, traendo spunto da altri Paesi, o prendendo in considerazione studi e ricerche che potrebbero dare risultati interessanti. Lo scopo ultimo di questa tesi di laurea risiede nel mettere in evidenza la necessità di un costante aggiornamento sulle misure atte a

ridurre il più possibile la contaminazione da parte di *Salmonella* spp. nella filiera della carne suina, a tutela della salute umana.

## 1. INTRODUZIONE

Nell'Unione Europea *Salmonella* spp. rappresenta la seconda causa di zoonosi a trasmissione alimentare. La sua presenza in numerosi alimenti e nell'ambiente la rende un importante pericolo per la salute pubblica. I numerosi casi, che sono stati notificati nell'uomo nel corso degli anni, hanno reso sempre più evidente la necessità di individuare le fonti responsabili della trasmissione del patogeno. Nel mondo animale, le fonti principali di contaminazione sono rappresentate dal pollame e dai suini. Questi ultimi incontrano, nel corso della loro vita, numerose occasioni durante le quali risulta possibile la contaminazione da *Salmonella* e gli studi che si sono susseguiti nel corso degli anni, hanno identificato i fattori che, in ogni fase della filiera di produzione della carne suina, sono maggiormente coinvolti nella diffusione del patogeno. Dagli allevamenti, al trasporto, fino alla fase di macellazione, *Salmonella* può trovare ambienti idonei e facilità di trasmissione tra i suini, in quanto durante ogni fase della filiera si hanno condizioni che favoriscono il suo ingresso e la sua diffusione. Risulta perciò necessario da parte dell'Unione Europea, stabilire e attuare piani di controllo e misure di prevenzione a livello di allevamento, di trasporto e durante la fase di macellazione, atti a contrastare la contaminazione causata da *Salmonella* a questi livelli. A questo scopo, nel corso degli anni sono stati infatti varati numerosi regolamenti, fino a giungere ad una normativa che regolamentasse tutte le fasi del processo. Tali leggi potrebbero subire però modificazioni in futuro, in base all'acquisizione di nuove conoscenze, dal momento che la ricerca scientifica in questo ambito non è da ritenersi conclusa.

## **2. IL GENERE SALMONELLA**

*Salmonella* spp. è un batterio appartenente alla famiglia delle Enterobacteriaceae, un vasto gruppo di batteri Gram negativi naturalmente presenti nel tratto intestinale dell'uomo e degli animali. *Salmonella* è tra i principali patogeni responsabili di tossinfezioni alimentari nell'uomo (Magistrali, et al. 2007) e i suini sono considerati una delle fonti principali di salmonellosi umana (Verbrughe, et al. 2011).

### **2.1 CARATTERISTICHE GENERALI**

*Salmonella* è un batterio di forma bastoncellare, asporigeno, aerobio-anaerobio facoltativo, prevalentemente mobile grazie alla presenza di flagelli. Fermenta il glucosio e riduce il nitrato, produce anidride solforosa. È catalasi positivo, ossidasi negativo, prevalentemente lattosio e indolo negativo (Zavanella 2001). Cresce sui comuni terreni da batteriologia anche in presenza di sali biliari (Graziani, et al. 2005).

La parete è costituita da una membrana interna, uno strato di peptidoglicano e una membrana esterna. Su quest'ultima sono localizzati i lipopolisaccaridi (LPS), costituiti da: lipide A (endotossina), core polisaccaridico (antigene comune) e il polisaccaride somatico O, esterno, anch'esso con proprietà antigeniche (Gemmellaro 2019). Altri due antigeni coinvolti nella risposta immunitaria sono l'antigene flagellare H e l'antigene di virulenza Vi, non presenti in tutte le salmonelle (Zavanella 2001).

Su terreni solidi non selettivi le colonie appaiono tonde, di 2-3 mm di diametro, a margine netto, convesse, incolore, generalmente a superficie liscia, lucente (fase S) e raramente a superficie opaca e ruvida (fase R) (Graziani, et al. 2005).

Ha elevata resistenza all'ambiente grazie alle sue caratteristiche di crescita e alla capacità di formazione di biofilm.



## 2.2 CONDIZIONI DI CRESCITA

*Salmonella* è un batterio ubiquitario che ha la capacità di sopravvivere in diversi ambienti. Sopravvive a temperature che vanno dai 5,2°C ai 46,2°C. L'*optimum* di crescita varia dai 35°C ai 43°C, mentre il tasso di crescita è ridotto a temperature minori di 15°C. Può sopravvivere in un range di pH che varia da 3,8 a 9,5, con un optimum a 7-7,5. Il valore di  $a_w$  ottimale si aggira attorno a 0,99, ma sopravvive fino ad un valore di  $a_w$  pari a 0,94 (Villani 2008).

## 2.3 STRUTTURA ANTIGENICA

### 2.3.1 ANTIGENE O

L'antigene somatico (antigene O) è formato da due porzioni: la prima, più interna, è composta da 5 carboidrati ed è comune a tutti gli enterobatteri, mentre la seconda, più esterna, è formata da catene saccaridiche, ciascuna delle quali contiene una sequenza di alcuni oligosaccaridi. Dal differente arrangiamento degli oligosaccaridi nelle catene dipende la diversità degli antigeni somatici. Importante sapere che la struttura antigenica di un sierotipo diventa tipica solo quando viene considerata per intero, perché i singoli elementi fattoriali sono ritrovabili in più sierotipi, che pertanto diventano sierologicamente correlati (Graziani, et al. 2005). Le salmonelle che presentano analogie nella struttura antigene O vengono riunite in gruppi sierologici indicati con lettere. Alcuni antigeni somatici possono essere presenti o assenti nello stesso sierotipo di *Salmonella*. In altri casi possono verificarsi variazioni più complesse, come variazioni quantitative dello stesso antigene, che può presentarsi per esempio in tre sotto-antigeni (Graziani, et al. 2005).

### 2.3.2 ANTIGENE H

Nelle specie mobili di *Salmonella* (quindi fatta eccezione di *S. Gallinarum* e *S. Pullorum*, non mobili) sono presenti gli antigeni flagellari, chiamati anche antigeni H e indicati con lettere minuscole dell'alfabeto o con numeri. Sono antigeni di natura proteica, che vengono distrutti dal calore. Possono presentarsi in due fasi, chiamate fase 1 (o specifica, perché

tipica di quel sierotipo) e fase 2 (o aspecifica, perché comune a più sierotipi). Le fasi 1 e 2 possono essere presenti contemporaneamente, ma più spesso una salmonella bifasica sviluppa in prevalenza una sola delle due fasi (Zavanella 2001). Alcuni sierotipi di *Salmonella*, chiamati monofasici, possiedono solo una fase (generalmente la fase 1), come per esempio *S. Enteritidis*. Pochissimi sierotipi presentano tre fasi sierologiche H e sono dette “trifasiche”. Raramente le salmonelle possono perdere la struttura antigenica H, diventando immobili, la quale però è una variazione reversibile (Graziani, et al. 2005).

### **2.3.3 ANTIGENE Vi**

In alcune salmonelle si trova anche un terzo tipo di antigene, chiamato Vi (da virulenza), dato che gli stipti che lo possiedono sono più virulenti (es. *Salmonella Typhi*, *S. Paratyphi C*, *S. Dublin*). Esso ha la caratteristica di mascherare gli antigeni O, eludendo il sistema immunitario. L'antigene Vi delle salmonelle corrisponde agli antigeni K (capsulari) degli altri enterobatteri (Graziani, et al. 2005).

Attualmente si conoscono più di 2600 sierotipi di *Salmonella* spp. (IZSve 2021)

## **2.4 FORMAZIONE DI BIOFILM**

I biofilm sono aggregati di cellule batteriche circondate da una matrice polimerica extracellulare (Exopolymeric Substances, EPSs) prodotta dalle cellule stesse. Grazie alla formazione del biofilm *Salmonella* può sopravvivere su diverse superfici e all'interno dell'organismo degli animali. La formazione di biofilm si verifica prevalentemente nel momento in cui *Salmonella* si trova di fronte a stimoli ambientali non idonei, quali variazioni di temperatura, pH, osmolarità, ossigeno e disponibilità di nutrienti (Beshiru, Igbinosa e Igbinosa 2018). L'EPSs è costituita da proteine, acidi nucleici ed esopolisaccaridi e tutto ciò permette alle cellule batteriche di crescere (Harrell, et al. 2021). La composizione della matrice extracellulare varia in base sia alla sierovariante di *Salmonella*, sia alle condizioni ambientali presenti (Harrell, et al. 2021).

La presenza all'interno di un biofilm permette a *Salmonella* di resistere all'azione di raggi UV, disidratazione, antibiotici, disinfettanti, metalli, sostanze tossiche e ai meccanismi di difesa dell'ospite (Beshiru, Igbinosa e Igbinosa 2018). Tutto ciò porta a infezioni croniche nell'ospite e alla difficoltà di eliminare *Salmonella* dalle superfici sulle quali entra in contatto. A livello di ospite il biofilm si può riscontrare nella colecisti, adeso all'epitelio o, più frequentemente, ai calcoli biliari. Si viene così a creare uno stato di portatore, causando infezioni croniche. (Harrell, et al. 2021). Persistendo sulle superfici, invece, è facilitata la sua diffusione, ad alimenti o soggetti recettivi, che ne entrano in contatto (Beshiru, Igbinosa e Igbinosa 2018).

## 2.5 INTERFACCIA CON L'OSPITE

La via di ingresso con la quale *Salmonella* penetra nell'ospite è quella orale e una volta raggiunto l'intestino svolge la sua azione nei confronti degli enterociti con uno specifico meccanismo patogenetico.

### ADESIONE E INVASIVITÀ

Una volta stabilito il contatto con l'enterocita grazie a pili di adesione, *Salmonella* stimola l'increspatura (*ruffling*) della sua membrana cellulare e il riarrangiamento dei setti di actina adiacenti al sito di contatto. In questo modo *Salmonella* viene fagocitata all'interno dell'enterocita. Una volta avvenuta la fagocitosi la membrana cellulare ritorna al suo assetto normale. L'invasività e il fenomeno del *ruffling* sono regolate da numerosi geni cromosomiali, riuniti nel complesso macromolecolare chiamato Sistema di Secrezione di tipo III (TTSS). Con questo Sistema i batteri Gram negativi trasportano proteine dal citosol batterico direttamente nel citoplasma della cellula eucariota (Graziani, et al. 2005). Le salmonelle possiedono due sistemi definiti TTSS, TTSS-1 e TTSS-2, i cui geni, strutturali, sono localizzati in due estese regioni di DNA, le cosiddette "Isole di Patogenicità di *Salmonella*" (*Salmonella* Pathogenicity Island, SPI) e denominate rispettivamente SPI1 e SPI2. I due sistemi di secrezione hanno funzioni differenti: SPI1 è coinvolto nell'invasività della mucosa intestinale, mentre SPI2 influenza la virulenza sistemica,

favorisce la crescita intracellulare del batterio e la sua sopravvivenza nei macrofagi (Graziani, et al. 2005). Nella prima fase dell'invasione entra in gioco TTSS-1 che permette la traslocazione nell'enterocita di proteine effettrici, tra le quali si ricorda la tossina batterica enterotossica, responsabile dell' infiammazione intestinale e secrezione di liquidi nel lume (Graziani, et al. 2005). Durante questa perdita di liquidi si ha la secrezione di ioni cloro nelle cripte e la riduzione dell'assorbimento degli ioni sodio a livello di villi (D'Aoust 1991). In seguito si ha il rilascio di altre proteine effettrici tramite il TTSS-2, che permettono la sopravvivenza di *Salmonella* all'interno delle cellule (Graziani, et al. 2005). *Salmonella*, a questo punto, attraversa la barriera intestinale tramite le cellule M presenti nelle placche del Peyer. L' invasione delle cellule M determina un'ulteriore alterazione della mucosa intestinale, favorendo il diffondersi del batterio. Si ha inoltre la distruzione delle *tight junctions* cui fa seguito un aumento della permeabilità intestinale (Harrell, et al. 2021). La colonizzazione dell'intestino da parte di *Salmonella* avviene molto rapidamente. Per esempio *S. Typhi* può essere rilevata nelle placche del Peyer già 3-6 ore dopo l'infezione (Harrell, et al. 2021).

## RESISTENZA ALLA FAGOCITOSI

A seguito dell'ingresso di *Salmonella* nelle placche del Peyer, si ha stimolazione del sistema immunitario innato, costituito da cellule dendritiche e macrofagi, i quali riconoscono i PAMPs batterici (Pathogen Associated Molecular Patterns), come per esempio LPS, tramite i TLRs (toll-like receptors) (Harrell, et al. 2021). Le cellule immunitarie, una volta attivate, hanno la capacità di fagocitare *Salmonella*, portando alla formazione del fagosoma. Tramite meccanismi di evasione però, *Salmonella* riesce a resistere alla fagocitosi e persistere all'interno dei macrofagi con la formazione di strutture intracellulari specializzate, i vacuoli contenenti *Salmonella* (SCV) (Harrell, et al. 2021). Esempi di meccanismi di elusione possono essere: riduzione dell'espressione dei PAMPs grazie all'antigene Vi, modificazione dell'ambiente interno del macrofago, blocco della degradazione dei lisosomi e conseguente disfunzione delle cellule dendritiche (Harrell, et al. 2021). In questo modo i batteri vengono trasportati, tramite la via linfatica ed ematogena,

permettendone così la diffusione, dapprima ai linfonodi mesenterici, fegato e milza, e successivamente a vari distretti dell'organismo (Graziani, et al. 2005).

## TRASMISSIONE

Nell'uomo la trasmissione avviene per via oro-fecale, tramite l'assunzione di alimenti contaminati. La contaminazione può essere interna all'alimento, come per esempio tagli di carne o uova contenenti *Salmonella* (Scalco 2011), oppure può essere superficiale, quando residui di materiale fecale contaminato, umano o animale, sono presenti sulla superficie di alimenti, acqua o anche attrezzi da cucina non adeguatamente sanificati (Yin e Zhou 2018).

Nei suini la trasmissione si verifica sia per via oro-fecale che per via inalatoria. La via oro-fecale si realizza nel momento in cui il suino ingerisce feci di soggetti infetti o si alimenta con mangimi o acqua contaminati. La via inalatoria invece, prevede l'inalazione delle particelle batteriche nei momenti di contatto naso-naso tra un individuo e l'altro (Scalco 2011), o attraverso il pulviscolo ambientale contenente particelle fecali essiccate (Salmonellosi 2005).

## 2.6 TASSONOMIA

*Salmonella* è un microrganismo appartenente alla famiglia delle Enterobacteriaceae (Scalco 2011). Il genere *Salmonella* è distinto in due sole specie, *S. enterica* e *S. bongori*. La specie *enterica* è a sua volta suddivisa in sei sottospecie: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *indica*. Ogni sottospecie possiede a sua volta numerosi sierotipi, o serovar ( per esempio Thyphimurium, Typhi, Enteritidis, Paratiphy, Derby, ecc) (Brenner, et al. 2000)

## NOMENCLATURA

La nomenclatura delle singole sierovarianti è stata modificata nel corso del tempo e tutt'ora non esiste un metodo unico applicabile a *Salmonella* (Brenner, et al. 2000). Per definire le singole sierovarianti sono stati utilizzati diversi criteri, quali:

- la sintomatologia
- i segni clinici associati anche alla specie animale
- il primo luogo di isolamento
- le caratteristiche biochimiche
- le caratteristiche antigeniche

(Brenner, et al. 2000) (Bell e Kyriakides 2002)

Di fatto, la classificazione sierologica basata sulle caratteristiche antigeniche viene utilizzata per identificare correttamente gli stipiti ai quali non è stato associato un nome proprio (Graziani, et al. 2005).

### **3. ASPETTI CLINICI DELLA SALMONELLOSI NELL'UOMO E NEL SUINO**

*Salmonella* spp. è il secondo patogeno zoonotico causa di tossinfezione alimentare in Europa (Bonardi 2017). Le sierovarianti più frequentemente riscontrate nei casi di salmonellosi umana sono, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *S. Typhimurium* variante monofasica 4,[5],12:i:- (EFSA 2021). Le sierovarianti più frequentemente riscontrate invece nelle carcasse di suino sono *S. Typhimurium*, *S. Typhimurium* variante monofasica e *S. Derby* (Bonardi 2017). L'isolamento sia nell'uomo che nel suino di *S. Typhimurium* e *S. Typhimurium* variante monofasica, identifica quindi la carne suina come una delle fonti di salmonellosi umana.

Sia uomo che suino presentano segni clinici correlati all'infezione da *Salmonella* spp.

#### **3.1 QUADRI CLINICI NELL'UOMO**

Le salmonelle rappresentano uno dei più comuni agenti eziologici di enteriti. Le forme non complicate, a opera delle salmonelle non-tifoidi, sono localizzate al tratto intestinale e autolimitanti. In neonati, bambini e adulti in precarie condizioni immunitarie, si assiste talvolta al passaggio da una forma enterica ad una forma sistemica con complicanze a livello di vari organi (Graziani, et al. 2005).

Una volta raggiunto l'intestino, *Salmonella* penetra nella mucosa fino a raggiungere la lamina propria. A questo livello avviene un processo di moltiplicazione che porta a uno stato infiammatorio, con sviluppo di edema, congestione e richiamo di cellule immunitarie (Graziani, et al. 2005). Dopo un periodo di incubazione variabile dalle 8 alle 72 ore (D'Aoust 1991), in questa prima fase avviene la liberazione di lipopolisaccaride batterico che porta alla comparsa di febbre, accompagnata da nausea, vomito e dolori addominali. Il vomito è particolarmente intenso e precoce nel bambino. I dolori addominali possono essere diffusi o localizzati. Dopo circa 10-20 ore insorge la diarrea, determinata sia dalla degenerazione e dal distacco degli

enterociti che dalla loro sofferenza funzionale (Scalco 2011). La febbre generalmente ha una durata inferiore alle 48 ore (D'Aoust 1991). Durante il secondo e terzo giorno di malattia, le feci, molli e acquose, possono presentare tracce di muco misto a sangue (Graziani, et al. 2005). I segni clinici possono persistere per circa 5 giorni. Successivamente si ha risoluzione della sintomatologia, ma in un certo numero di soggetti (<15%) si può sviluppare uno stato di portatore della durata di circa 2 mesi (D'Aoust 1991).

Nelle forme complicate invece, causate generalmente da *S. Typhi* ma anche da *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis* (Bush e Vazquez-Pertejo 2020), si assiste alla diffusione sistemica del batterio (D'Aoust 1991). La manifestazione di una forma sistemica dipende da fattori intrinseci del microrganismo e dalle capacità difensive dell'ospite. Possono presentarsi come batteriemie, setticemie o infezioni localizzate e si sviluppano soprattutto in bambini e pazienti immunodepressi, come conseguenza di gastroenteriti acute (Graziani, et al. 2005). Una volta che è avvenuto l'ingresso di *Salmonella* nell'ospite si ha un periodo di incubazione che può variare dagli 8 ai 28 giorni, a cui segue la comparsa di sintomi aspecifici quali febbre, tremori e dolore addominale. Contemporaneamente si verifica lo stato batteriémico a carico dell'ospite. Segue quindi la comparsa di diarrea o costipazione e abbattimento del sensorio. Le forme tifoidi sono caratterizzate inoltre dalla formazione sulla cute di aree rosate, le cosiddette "roseole" (D'Aoust 1991). La sintomatologia può infine regredire nel corso delle successive settimane, ripresentarsi una volta terminata la terapia, oppure causare sequele molto gravi, come perforazione intestinale, osteomieliti, meningiti (D'Aoust 1991), o infezioni localizzate in altri distretti (Graziani, et al. 2005). Un'infezione di tipo cronico porta, soprattutto nei soggetti anziani, allo sviluppo dello stato di portatore, durante il quale *Salmonella* può essere eliminata attraverso le feci in modo intermittente per periodi variabili e che possono perdurare anni. Lo stato di portatore cronico di *Salmonella* si manifesta soprattutto tra i pazienti di sesso femminile (D'Aoust 1991).



### 3.2 QUADRI CLINICI NEL SUINO

Nel suino si possono verificare infezioni sintomatiche e asintomatiche. Per quanto riguarda le prime, la sintomatologia più frequente è caratterizzata da diarrea catarrale o emorragica, disidratazione, debolezza, inappetenza e febbre, che conducono all'enterocolite (Salmonellosi 2005). Tale quadro clinico si manifesta generalmente tra lo svezzamento e il quarto mese di vita (Graziani, et al. 2005) ed è sostenuto prevalentemente da *S. Typhimurium* e *S. Choleraesuis*. La forma enterica può svilupparsi in forma acuta o cronica. Nella forma acuta si avrà enterite catarrale che a livello dell'ileo assume carattere emorragico e successivamente si svilupperanno lesioni fibrinoso-emorragiche e necrotiche difteroidi. All'esame anatomico-patologico sarà evidente la necrosi delle placche del Peyer e dei noduli linfatici. La forma cronica invece è caratterizzata dall'assenza di lesioni a carico dell'intestino tenue, mentre la flogosi, prevalentemente di tipo necrotico-ulcerativo e pseudomembranoso difteroidi si localizza a livello di colon, cieco e retto, portando alla formazione delle tipiche ulcere bottoniformi (Restucci 2016). *S. Choleraesuis* è causa anche di forme setticemiche che colpiscono generalmente suinetti fino ai 4 mesi di vita, portandoli a morte improvvisa (Graziani, et al. 2005).

Più frequentemente però le infezioni da *Salmonella* nel suino decorrono in modo del tutto asintomatico (Graziani, et al. 2005)

Sia nelle infezioni sintomatiche che asintomatiche, i soggetti colpiti possono diventare portatori persistenti ed escretori intermittenti di *Salmonella*, a causa della sua sopravvivenza a livello intestinale e nel sistema linfatico (Garrido, et al. 2019). In questi casi quindi *Salmonella* persiste nell'ospite il quale, in particolari situazioni stressogene, riprende l'eliminazione fecale *Salmonella*, diffondendola nell'ambiente (Garrido, et al. 2019).

## 4. SALMONELLA SPP. LUNGO LA FILIERA

*Salmonella* spp. è un batterio ubiquitario e con notevole resistenza nell'ambiente esterno. Grazie a queste sue caratteristiche può essere riscontrato lungo tutta la filiera del suino, dall'allevamento fino al prodotto finale, come schematizzato in Figura 1.

I sierotipi maggiormente riscontrati in Europa sono: *S. Typhimurium*, *S. Typhimurium* variante monofasica e *S. Derby* (Bonardi 2017).

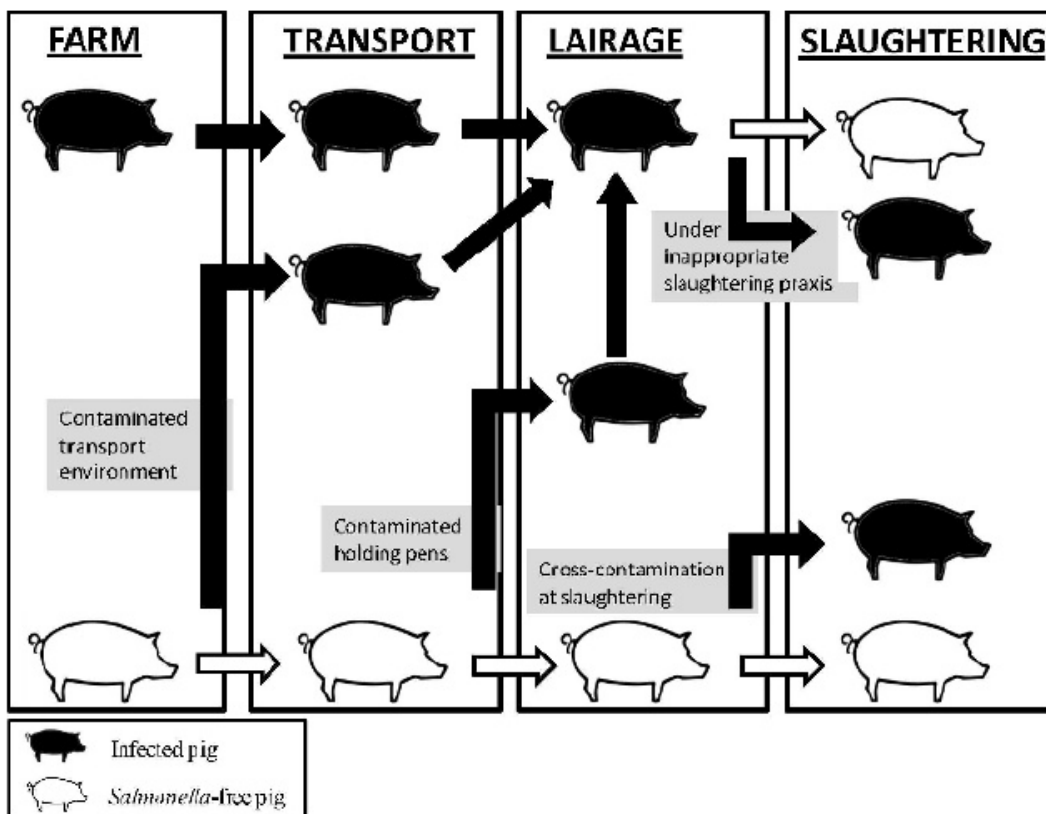


Figura 1. Fasi della filiera lungo la quale può avvenire la contaminazione dei suini o delle carcasse, a opera di *Salmonella* (Arguello, et al. 2012).

### 4.1 ALLEVAMENTO

L'allevamento è il primo luogo in cui *Salmonella* spp. può entrare in contatto con i suini. Esistono numerosi fattori che possono determinare la presenza e la persistenza di *Salmonella* spp. all'interno dell'allevamento suinicolo.

L'alimentazione rappresenta uno dei principali fattori di rischio, così come l'acqua di abbeveraggio. È possibile che i mangimi siano contaminati già

all'arrivo in azienda, oppure che la contaminazione avvenga nell'allevamento stesso, durante lo stoccaggio. *Salmonella* può contaminare l'alimento a partire dagli ingredienti iniziali, ma anche durante il processo, trasporto, conservazione, distribuzione e somministrazione (De Busser, et al. 2013). È stato dimostrato che alimenti secchi, disidratati, come per esempio sotto forma di pellet, siano maggiormente a rischio di contaminazione, probabilmente perché l'unico punto di controllo per l'abbattimento dei patogeni è l'utilizzo di alte temperature, le quali non sempre sono raggiunte a causa dell'elevato costo necessario e del possibile danneggiamento di vitamine e altri nutrienti (De Busser, et al. 2013). È importante ricordare che se durante il processo di pellettizzazione non si verificano contaminazioni, o se si eliminano quelle già presenti, non si può escludere che avvengano una volta terminato il processo (De Busser, et al. 2013). Suini alimentati con mangimi pellettati hanno maggior probabilità di essere contaminati da *Salmonella* rispetto quelli alimentati con cibo umido (Wilkins, et al. 2009). Ciò è dovuto al fatto che l'alimento pellettato riduce l'acidità gastrica o aumenta la secrezione di mucine, che aiutano la sopravvivenza e la colonizzazione di *Salmonella* all'interno del tratto gastroenterico (Wilkins, et al. 2009). La dimensione delle particelle che costituiscono il pellet è tale per cui il prodotto presenta una certa polverosità, e la polvere stessa potrà diffondere facilmente nell'ambiente. Se il pellet è contaminato quindi, si verificherà una diffusione del microrganismo a livello ambientale. Anche il pH dell'alimento influisce sulla sua salubrità. Alimenti secchi presentano un pH maggiore, più vicino all'*optimum* di crescita di *Salmonella*. Gli alimenti umidi, invece, a opera delle fermentazioni che portano alla sintesi di acidi organici, presentano un pH più acido, inibendo la proliferazione di *Salmonella* (Farzan, et al. 2005) (Bonardi 2017).

Un altro fattore predisponente è rappresentato dall'introduzione di nuovi animali all'interno di un gruppo, con alterazione dell'equilibrio formatosi tra gli animali e conseguente situazione di stress. La frequente presenza di portatori asintomatici aumenta il rischio di diffusione di *Salmonella*, in quanto essi, di fronte a situazioni stressanti, riprendono l'escrezione

fecale del patogeno (De Busser, et al. 2013). In questo modo gli individui del gruppo non ancora positivi, avranno elevata possibilità di infettarsi. Una situazione peggiore si può verificare nel momento in cui viene introdotto un soggetto positivo, molto probabilmente asintomatico, in un gruppo negativo (De Busser, et al. 2013). In questo caso la negatività viene persa e *Salmonella* si diffonde nel gruppo, portando ad avere soggetti che manifestano la sintomatologia e altri no, ma comunque dando origine a nuovi portatori. Il tipo di allevamento a flusso continuo aumenta il rischio di introduzione di *Salmonella* rispetto al sistema tutto pieno/tutto vuoto (Rajic, O'Connor, et al. 2006), perché avviene un'introduzione continua di nuovi soggetti, mentre nel sistema tutto pieno/tutto vuoto si ha ogni volta riempimento e svuotamento completo della struttura. Il rischio di ingresso di *Salmonella* si verifica più frequentemente nel caso di allevamenti a ciclo aperto, che presentano prevalenze più alte rispetto a quelli a ciclo chiuso (Bonardi 2017). Negli allevamenti a ciclo aperto, infatti, la nascita e lo svezzamento avvengono in un altro allevamento, con mescolamento di suini di varia provenienza. La mescolanza dei vari gruppi porta a un aumento della probabilità di introduzione di problemi sanitari nell'allevamento di ingrasso, inclusa *Salmonella* (Rasschaert, et al. 2012).

La numerosità del gruppo è un altro fattore da tenere in considerazione. Gruppi troppo affollati favoriscono la diffusione di *Salmonella* tra un soggetto e l'altro, dal momento che si verificano maggiori contatti tra gli animali e aumenta lo stress (Funk Julie e Wondwossen Abebe Gebreyes 2004). Un elevato numero di soggetti per box porta anche ad un aumento della quantità di feci. Tutti questi fattori fanno sì che nei box con una densità di suini elevata, sono maggiori le probabilità di individuare soggetti sieropositivi (Correia-Gomes, et al. 2012). È importante ricordare che lo spazio vitale necessario per ogni suino è regolato dal Decreto Legislativo 122 del 2011 (all'articolo 3, punto 1 lettera a), che dovrebbe essere rispettato da qualsiasi allevatore.

Altra fonte di contaminazione può essere rappresentata da animali esterni all'allevamento, quali gatti, uccelli, ratti o anche insetti. Molto frequentemente sono presenti gatti in azienda e la promiscuità con i suini

favorisce la diffusione di *Salmonella* in allevamento (Funk Julie e Wondwossen Abebe Gebreyes 2004). È stato anche dimostrato che i ratti e i topi presenti in allevamento sono spesso positivi alle stesse sierovarianti a cui sono positivi i suini (Funk Julie e Wondwossen Abebe Gebreyes 2004). Anche gli uccelli, che rappresentano altri reservoir di *Salmonella*, sono coinvolti nella sua diffusione mediante l'escrezione fecale e la inevitabile contaminazione degli allevamenti (Funk Julie e Wondwossen Abebe Gebreyes 2004). Infine tra gli insetti, mosche e scarafaggi sono i maggiormente coinvolti (Funk Julie e Wondwossen Abebe Gebreyes 2004) (Wang, et al. 2011). Tra i parassiti, il nematode *Caenorhabditis elegans*, che vive nel suolo, è stato riconosciuto positivo a *Salmonella* (Funk Julie e Wondwossen Abebe Gebreyes 2004). Quando non attuano corrette misure di biosicurezza, impedendo l'ingresso di animali ed insetti in allevamento, la probabilità di ingresso di *Salmonella* è piuttosto elevata.

Le strutture e la pavimentazione rappresentano un altro fattore di rischio. Le pareti devono essere integre e prive di fessure, in modo che animali esterni non riescano a entrare. La pavimentazione deve essere il più regolare possibile per evitare che il materiale fecale depositi nelle fessure, rendendo difficile la sua eliminazione. Tra l'altro la permanenza del materiale organico, unito alla capacità di produzione di biofilm, permetterebbe la sopravvivenza e la resistenza di *Salmonella* a fattori esterni (Martelli, et al. 2017). Gli edifici devono inoltre avere impianti di areazione idonei e funzionanti, perché anche un'areazione non corretta e variazioni di temperatura favoriscono la persistenza di *Salmonella* in allevamento. Uno scarso ricambio d'aria aumenta la temperatura nei capannoni, creando condizioni ottimali per la moltiplicazione di *Salmonella* a livello ambientale. Una buona ventilazione permette di avere un adeguato ricambio d'aria e mantenere all'interno temperature costanti, importanti soprattutto quando si hanno variazioni nella temperatura esterna. Anche la pavimentazione gioca un ruolo importante, dato che alcuni tipi di pavimentazione diminuiscono il contatto dei suini con il materiale fecale e di conseguenza il rischio di trasmissione oro-fecale (Funk Julie e Wondwossen Abebe Gebreyes 2004). La prevalenza di

*Salmonella* è maggiore negli allevamenti che utilizzano un pavimento pieno associato ad un canale di scolo per le feci, rispetto a quelli che hanno un pavimento fessurato. Ancora, un pavimento parzialmente fessurato fa permanere maggiormente le feci al suolo rispetto ad uno completamente fessurato (Rajic, O'Connor, et al. 2006).

Carenze igieniche nei locali favoriscono la persistenza e la trasmissione di *Salmonella* in allevamento. Ad esempio, l'incompleta rimozione del materiale fecale dai pavimenti e dalle pareti dei box rappresentano un fattore di rischio. Il mancato utilizzo di acqua ad alta pressione impedisce la rimozione completa del materiale fecale (Bonardi 2017) che può anche sommarsi ad una mancata disinfezione con prodotti idonei. Anche l'utilizzo del disinfettante corretto, tuttavia utilizzato alle dosi sbagliate o non rispettando i tempi di contatto, non portano ad una sanificazione completa. Inoltre, la capacità di *Salmonella* di produrre biofilm la rende resistente nei confronti di alcune molecole utilizzate per la disinfezione, come il cloro (De Busser, et al. 2013), ma anche a glutaraldeide, formaldeide e perossido di idrogeno (Bonardi 2017).

La pulizia degli ambienti in cui vivono i suini deve essere eseguita anche in presenza degli animali, in quanto suini imbrattati di feci saranno fonte di contaminazione per altri animali, quando verranno inviati al macello. Diversi studi hanno comunque rilevato la presenza di *Salmonella* in campioni prelevati dalle superfici dell'allevamento dopo le comuni operazioni di pulizia e disinfezione (Mannion, et al. 2015). Questo ci permette di concludere che le talvolta normali pratiche igieniche non sono sufficienti a eliminare la contaminazione ambientale da parte di *Salmonella*.

Infine, un ultimo fattore di rischio è rappresentato dall'uomo. Gli operatori stessi o i veterinari possono essere fonte di contaminazione e diffusione. Essi vanno a contatto con numerosi capi di età diverse e differenti difese immunitarie, frequentano box diversi e a volte allevamenti diversi. Mani sporche, indumenti e scarpe imbrattati, o in generale un basso livello di igiene da parte degli operatori, aumentano il rischio di diffusione di *Salmonella*. Anche un elevato numero di persone che si avvicina in

allevamento funge da fattore di rischio per i suini (Funk Julie e Wondwossen Abebe Gebreyes 2004).

## 4.2 TRASPORTO

La fase di trasporto rappresenta un altro punto della catena in cui i suini possono venire in contatto con *Salmonella*. Numerosi fattori di rischio vanno tenuti in considerazione durante questa fase ed è stato dimostrato che ogni fattore, in associazione a uno o più degli altri, svolgono un effetto sinergico, permettendo a *Salmonella* di moltiplicarsi e diffondersi durante il trasporto (Massacci, et al. 2020) (Arguello, et al. 2012).

Molti di questi fattori portano a creare nell'animale una condizione di stress, perché vengono modificate le condizioni di vita a cui era abituato il suino in allevamento. Una situazione stressogena comporta la stimolazione del sistema nervoso simpatico e dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, con conseguente attivazione e rilascio, rispettivamente, di catecolamine e glucocorticoidi. Ciò comporterà un'azione immunosoppressiva da parte dei glucocorticoidi, favorendo la crescita di *Salmonella* nel tratto intestinale dei portatori, in sinergia con l'azione delle catecolamine, le quali promuoveranno inoltre l'escrezione fecale di *Salmonella*. È stato infatti evidenziato che il cortisolo favorisce la proliferazione intracellulare di *S. Typhimurium* all'interno dei vacuoli nei macrofagi dei suini (Verbrugge, et al. 2011). La sinergia tra cortisolo e catecolamine si traduce nel passaggio da soggetti portatori a soggetti escretori, che tramite le feci rilasciano *Salmonella* nell'ambiente (Verbrugge, et al. 2011).

Un soggetto escretore può esserlo in modo intermittente o costante. Da questo fatto si deduce che l'escrezione di *Salmonella* non si limiterà alla sola fase di trasporto, ma si verificherà anche una volta giunti alle stalle di sosta, favorendo la contaminazione delle carcasse e delle carni, con conseguente aumento del rischio di salmonellosi (Rajkowski, Eblen e Laubauch 1997). La modifica del microbiota causata dallo stress si manifesta anche nei soggetti negativi, che risultano quindi più sensibili all'azione dei patogeni, diventando a maggior rischio di contagio. La

ripresa dell'escrezione da parte dei dei soggetti portatori e la concomitante presenza di soggetti sensibili, permette così a *Salmonella* di trasmettersi da un individuo all'altro, aumentando la sua prevalenza durante la fase di trasporto. Inoltre, uno studio, ha misurato i livelli di cortisolo iniziali in due gruppi di suini; mentre uno dei due gruppi veniva sottoposto a trasporto e presentava un aumento del cortisolo sierico, l'altro gruppo rimaneva nel luogo iniziale e non presentava variazioni nella cortisolemia. (McGlone, et al. 1993).

La distanza tra l'allevamento e il macello, e quindi la durata del viaggio, può aggravare lo stato di stress legato al trasporto. Confinato in uno spazio ridotto, in un ambiente non familiare, talvolta per un elevato numero di ore, a contatto anche con altri gruppi di suini, con stravolgimento della gerarchia che si era formata in allevamento, il suino va indubbiamente incontro a uno stress prolungato (Arguello, et al. 2011). È stato dimostrato che il viaggio diventa fonte di stress nel momento in cui supera le due ore (Massacci, et al. 2020). Secondo il Regolamento CE 1/2005 che tutela gli animali durante il trasporto, la durata del viaggio può arrivare fino a un massimo di 24 ore, con conseguenze immaginabili. Alcuni studi hanno dimostrato che *Salmonella* ha la capacità di raggiungere l'intestino ceco già poche ore dopo l'ingestione e che la distanza percorsa influenza la prevalenza di *Salmonella* nel tratto cecale (Sanchez, et al. 2007). Anche durante viaggi di breve durata perciò la diffusione può avvenire (Simons, et al. 2016).

Si può inoltre aggiungere il maneggiamento degli animali da parte dell'uomo al momento del carico e scarico, che anche se fatto nel rispetto delle norme sul benessere animale, contribuisce comunque a generare una situazione di stress (De Busser, et al. 2013) (Arguello, et al. 2011).

Per quanto riguarda la disponibilità di cibo e acqua, secondo il Regolamento sul benessere durante il trasporto (Regolamento 1/2005), il suino deve avere accesso al cibo almeno ogni 24 ore, mentre l'accesso all'acqua deve essere possibile almeno ogni 12 ore. Per i lunghi viaggi (superiori alle 8 ore tra gli Stati Membri e alle 12 ore sul territorio nazionale) invece l'alimentazione deve avvenire ogni 24 ore, mentre deve essere sempre disponibile l'acqua durante tutta la durata del viaggio.



Tuttavia è pratica frequente non somministrare cibo nelle 12-18 ore antecedenti il trasporto, con l'obiettivo di ridurre il volume del contenuto intestinale e parallelamente il rischio di contaminazione fecale della carcassa, grazie alla riduzione delle dimensioni dell'intestino (Verbrugge, et al. 2011) ed alla minor probabilità di rottura dell'intestino al momento dell'eviscerazione (De Busser, et al. 2013). Inoltre, è raccomandato il digiuno 12-24 ore prima della macellazione anche per ridurre il rischio di carni PSE (Arguello, et al. 2012). Sommando il digiuno pre-macellazione a quello associato al trasporto nel tempo che intercorre dalla partenza dall'allevamento all'arrivo alla stalla di sosta, il digiuno può raggiungere o addirittura superare le 24 ore (De Busser, et al. 2013). Alcuni studi hanno dimostrato che il digiuno prolungato, associato o meno al trasporto, porta ad un aumento dei livelli di *Salmonella* nel tratto ileo-cecale (Rostagno, Eicher e Lay Jr 2011). Questo avviene perché si ha un'alterazione del microbiota intestinale, in quanto è stato dimostrato che prolungando il digiuno si assiste ad un aumento delle Enterobacteriaceae, compresa *Salmonella*, e ad una riduzione dei lactobacilli nel tratto gastrointestinale (Martín-Peláez, et al. 2009), con alterazione dell'equilibrio fisiologico. Anche *Salmonella* stessa è in grado di alterare, nell'arco di poche ore, la normale flora microbica, selezionando *Prevotella*, *Coprococcus* e *Paraprevotella*, e portando ad avere un microbiota più eterogeneo (Massacci, et al. 2020). Un digiuno prolungato inoltre porta a ipoglicemia, stimolando l'organismo al rilascio di cortisolo per la gluconeogenesi, con poi gli effetti negativi che il cortisolo comporta; quali l'abbassamento delle difese immunitarie con conseguente rischio di infezioni, lo sviluppo di problemi gastrointestinali come le ulcere gastriche, la stimolazione della lipogenesi e l'aumento dell'irritabilità (Verbrugge, et al. 2011). È stato riportato infine che un digiuno con durata superiore alle 18 ore porta a situazioni di aggressività e rabbia nei suini (De Busser, et al. 2013).

Un altro fattore da tenere in considerazione durante il trasporto è la variazione di temperatura. All'interno del camion deve essere mantenuta una temperatura compresa tra i 5°C e i 30°C, con una tolleranza di  $\pm 5^\circ\text{C}$  in base alla temperatura esterna (Regolamento 1/2005). Campionando le

lettiere presenti sui camion nelle diverse stagioni, uno studio eseguito in Pennsylvania ha osservato una riduzione del 50% della presenza di *Salmonella* durante i mesi invernali, rispetto al 100% di positività in primavera e autunno e all'88% in estate (Rajkowski, Eblen e Laubauch 1997). Questo può essere dovuto al fatto che il tasso di crescita si riduce nel momento in cui le temperature scendono sotto i 15°C (Villani 2008), ma può anche essere determinato dal congelamento delle feci che come tali non raggiungono il pavimento caldo del camion e non trovano le condizioni ideali di crescita per *Salmonella* (Rajkowski, Eblen e Laubauch 1997).

Infine l'altra fonte di contaminazione è rappresentata dal veicolo stesso. Il camion trasporta numerosi animali che vengono a contatto tra loro, provenienti da allevamenti diversi, con diverso stato immunologico. Come accennato in precedenza, questi fattori stressanti, supportano una recrudescenza di soggetti escretori, che diffondono *Salmonella* nel mezzo di trasporto tramite le feci (Rajkowski, Eblen e Laubauch 1997). L'alta densità all'interno del camion permette un facile contatto cute-superficie e cute-cute, favorendo frequentemente la cross-contaminazione (Arguello, et al. 2012). In uno studio condotto da Rajkowski, Eblen e Laubauch (1997), in cui sono stati prelevati campioni da superfici all'interno dei camion pre e post lavaggio, l'80% circa dei mezzi testati possedeva almeno un rimorchio in cui è stata rilevata la presenza di *Salmonella*, presente sia prima della sanificazione, sia dopo, anche se con prevalenza inferiore. In uno studio più recente (Arguello, et al. 2011) invece, prelevando una serie di campioni dalle superfici interne di camion a vuoto e pieno carico, e dopo le operazioni di lavaggio, è stata rilevata un'elevata percentuale di campioni positivi in tutti e tre i pool di tamponi. Da questo risultato si evince che i suini, prima del trasporto, vengono inseriti in un ambiente già contaminato e che le misure di disinfezione attuate risultano spesso inefficaci. Un ulteriore studio conferma l'inefficacia dei protocolli di sanificazione, in quanto campioni prelevati da mezzi sanificati sono risultati positivi a *Salmonella* (Arguello, et al. 2012). Il Regolamento 1/2005 stabilisce che la pulizia e la disinfezione dei mezzi e la rimozione totale della lettiera devono essere eseguiti a seguito di

ogni viaggio e svolti accuratamente, ma i risultati degli studi indicano che tali prescrizioni sono spesso disattese. Questo comporta il rischio di una costante presenza di *Salmonella* sui mezzi, con conseguente maggiore probabilità di trasmissione del patogeno ad altri allevamenti, animali e macelli (Rajkowski, Eblen e Laubauch 1997). Inoltre è stato dimostrato, tramite analisi di campioni di reflui di lavaggio e lettiere, che una volta rilevata la presenza di *Salmonella*, sono necessari periodi prolungati, fino a 3 settimane prima che non fosse più rilevabile (Rajkowski, Eblen e Laubauch 1997). L'eliminazione di *Salmonella* dai mezzi di trasporto è perciò possibile solo in seguito ad accurati lavaggi.

Un altro fattore che può rendere difficili le operazioni di sanificazione sono le basse temperature, in quanto d'inverno può verificarsi il congelamento delle feci presenti sui mezzi di trasporto (Rajkowski, Eblen e Laubauch 1997). Ciò impedisce che le normali procedure di pulizia le rimuovano completamente e al momento dello scongelamento risulteranno fonte di contaminazione per i suini che verranno successivamente caricati.

In uno studio condotto da Hurd, et al. (2002), riportato da Wilhelm, et al. (2017) e i cui risultati sono mostrati in Figura 2, è stata valutata la prevalenza di *Salmonella* nel contenuto cecale di due gruppi di suini della medesima azienda. Il primo macellato in azienda, mentre il secondo al macello, venendo quindi sottoposto alla fase di trasporto e attesa nei recinti. In quest'ultimo gruppo è stata rilevata una maggiore prevalenza di *Salmonella* rispetto al primo e i dati suggeriscono che ciò sia dovuto non solo a una recrudescenza dei soggetti portatori, ma anche ad una nuova infezione una volta lasciato l'allevamento. Oltre a una maggior sieroprevalenza è stata rilevata anche una maggior diversità nelle sierovarianti, alcune delle quali non erano presenti nell'allevamento di provenienza, individuando perciò il trasporto come causa di contaminazione.

La presenza di tutti questi fattori in associazione svolge quindi un ruolo fondamentale nella trasmissione di *Salmonella* ai suini prima della macellazione.

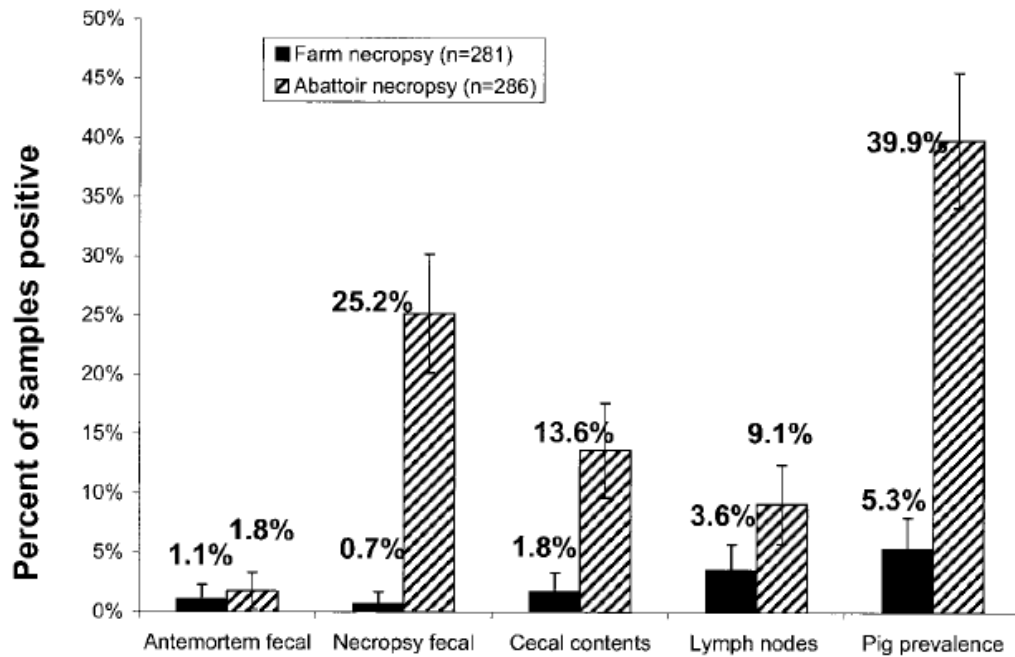


Figura 2. Confronto tra la prevalenza di *Salmonella* in campioni prelevati da carcasse macellate in azienda e carcasse macellate al macello (Hurd, et al. 2002).

## 4.3 MACELLAZIONE

### 4.3.1 STALLA DI SOSTA

La stalla di sosta è il luogo nel quale vengono stabulati gli animali in attesa della macellazione. Può essere costituita da diversi recinti coperti, oppure da edifici contenenti numerosi box nei quali vengono suddivisi gli animali.

Una volta effettuato lo scarico degli animali, essi permangono nelle stalle di sosta per 2-3 ore, il tempo necessario per riprendersi dal viaggio (De Busser, et al. 2013). Un tempo di permanenza più lungo invece, che potrebbe perdurare anche una notte, aumenta il rischio per i suini negativi di contrarre l'infezione, a causa dell'ambiente contaminato e per la coabitazione con soggetti potenzialmente infetti (Simons, et al. 2016). Una lunga attesa nei recinti, inoltre, porterebbe aumentare il rischio di suini con carni DFD e cute lesionata (De Busser, et al. 2013), a danno del benessere dell'animale. Tutto ciò si tradurrà in una riduzione della qualità delle carni e in un aumento sia dei soggetti diffusori che dei soggetti sensibili (Hurd, et al. 2001). Lo studio condotto da Hurd et al. (2001) dimostra una minor variabilità di sierovarianti in campioni prelevati in

allevamento, rispetto ai campioni prelevati nelle stalle di sosta. Ciò permette di concludere che i suini giunti al macello siano stati infettati da sierovarianti incontrate una volta lasciato l'allevamento, verosimilmente in seguito alla mescolanza con altri soggetti. L'aumento di sierovarianti isolate al macello trova anche risposta nel fatto che *Salmonella*, una volta entrata nell'organismo, ha una rapida colonizzazione del tratto gastrointestinale e dei relativi linfonodi. Questo favorisce una sua veloce diffusione all'interno della stalla di sosta (Hurd, et al. 2001). A conferma del fatto, in alcuni campioni prelevati dagli animali e in altri prelevati dalle superfici della stalla di sosta sono state riscontrate le stesse sierovarianti, individuando l'ambiente come importante potenziale fonte di infezione (Simons, et al. 2016).

Anche la struttura stessa della stalla di sosta può favorire il permanere di *Salmonella*, nello specifico a livello della pavimentazione e delle pareti dei recinti. Frequentemente esse presentano una superficie irregolare, consumata, e con la presenza di numerosi anfratti. Questa condizione favorisce il permanere del materiale organico, il quale a sua volta crea le condizioni ideali per la sopravvivenza di *Salmonella*, e la formazione di biofilm. Inoltre, la presenza di anfratti, ostacola il raggiungimento di un'efficace disinfezione, in quanto, all'interno delle crepe, sarà difficile che il disinfettante giunga e agisca adeguatamente (Arguello, et al. 2012). In aggiunta, le operazioni di pulizia risultano spesso insufficienti. Frequentemente viene eliminato il materiale organico mediante l'utilizzo di sola acqua calda sotto pressione, ma ciò non è sufficiente a eliminare *Salmonella* dall'ambiente (Schmidt, et al. 2004). Anche l'utilizzo di disinfettanti in aggiunta al lavaggio non risulta essere risolutivo per una completa sanificazione, ma permette di ridurre notevolmente la prevalenza di *Salmonella* (Arguello, et al. 2012). L'impossibilità di rimuovere completamente il batterio dalle superfici le rende fonte di contaminazione per la cute del suino, la quale si trova a diretto contatto con i pavimenti e i recinti. Di conseguenza durante la macellazione si verificherà un maggior rischio di contaminazione della carcassa, a causa dalla contaminazione della cute (De Busser, et al. 2013).

Altri fattori favorevoli la diffusione di *Salmonella* sono il maneggiamento degli animali, la temperatura ambientale, il rumore, la formazione dei gruppi e l'affollamento, in quanto, come durante la fase di trasporto, sono tutti causa di stress (Arguello, et al. 2012).

Infine, l'ordine di macellazione va incluso tra fattori di rischio che permettono la diffusione del batterio. Sapendo che la presenza di *Salmonella* sulle superfici della stalla di sosta perdura anche diversi giorni dopo l'alloggiamento di animali positivi (Small, et al. 2006), l'inserimento di suini negativi in un recinto in cui erano stabulati suini positivi, causa l'infezione dei soggetti sani, i quali a loro volta presenteranno carcasse contaminate.

È perciò possibile concludere che durante la fase di trasporto e stabulazione, la prevalenza di infezione da *Salmonella* tende ad aumentare, con diffusione di numerose sierovarianti (Simons, et al. 2016).

#### **4.3.2 LINEA DI MACELLAZIONE**

A questo livello si può verificare la contaminazione della carcassa, la quale può giungere già contaminata o contaminarsi lungo la catena. I punti critici lungo la linea di macellazione sono illustrati in Figura 3. L'arrivo di carcasse già contaminate si verifica nel momento in cui esse provengono da suini già positivi in vita, la cui cute presenta il microrganismo. Le carcasse non contaminate, provenienti quindi da soggetti negativi, possono invece contaminarsi a causa del contatto con carcasse positive, come si verifica con grande frequenza, oppure a opera dell'ambiente (Swanenburg, et al. 2001). All'interno del macello inoltre sono state isolate sierovarianti localizzate in nicchie ecologiche createsi lungo la linea. Esse risultano predominanti in quello specifico ambiente, sviluppando inoltre una resistenza nei confronti dei prodotti utilizzati per la disinfezione, persistendo così nell'ambiente stesso con il rischio di contaminare le nuove carcasse in ingresso (Arguello, et al. 2012). È stato inoltre osservato da numerosi autori che si verifica un continuo ingresso di nuove sierovarianti all'interno del macello durante l'intera giornata (Arguello, et al. 2012). Ciò comporta, di conseguenza, il rischio di un continuo incremento della contaminazione delle carcasse che si susseguono (Hald, et al. 2003).

L'uomo è un altro fattore determinante in questa fase, in quanto anch'esso può fungere da fonte di diffusione di *Salmonella* tra le diverse carcasse. Una ridotta osservazione delle buone pratiche di igiene porta all'accumulo sulle carcasse delle numerose sierovarianti presenti al macello (Arguello, et al. 2012). La mancanza di un corretto e frequente lavaggio delle mani, oltre a un non adeguato cambio dei guanti e a all'utilizzo di un abbigliamento inappropriato, possono favorire il diffondersi della contaminazione (Bonardi 2017). L'uomo può poi fungere da vettore diretto del patogeno a carcasse non contaminate, in quanto lui stesso può contrarre l'infezione e trasmetterla (D'Aoust 1991). Infine, anche il veterinario durante l'attività ispettiva, se viene meno al rispetto delle misure igienico-sanitarie, risulta essere una possibile fonte di contaminazione. Questa situazione si può verificare dal momento che, durante la visita ispettiva è necessario che il veterinario valuti la carcassa e i relativi organi, avvalendosi anche dell'ispezione manuale. Se non avvengono perciò l'adeguato lavaggio delle mani, il ricambio frequente dei guanti e la disinfezione accurata dei coltelli utilizzati, nel momento in cui si verificherà il contatto con una carcassa contaminata, *Salmonella* verrà trasmessa alle carcasse successivamente ispezionate (De Busser, et al. 2013).

I fattori di rischio legati all'animale invece si riscontrano a partire dalla fase di abbattimento. Durante questa operazione avviene il dissanguamento dell'animale, con conseguente imbrattamento della cute del suino, situazione che, per poter mantenere un livello di igiene adeguato, dovrebbe essere condotta con l'animale appeso per gli arti posteriori. In seguito a morte si verifica nell'animale il rilasciamento degli sfinteri, con conseguente perdita di feci dall'ano, le quali, nel caso in cui dovessero provenire da un suino infetto, determinerebbero la contaminazione superficiale della carcassa, nonché dell'ambiente (Arguello, et al. 2012). Un successivo punto critico è il momento dell'eviscerazione. La rimozione del pacchetto intestinale, se non svolta con le dovute attenzioni, può terminare con la rottura dell'intestino stesso e l'uscita del materiale contenuto, con conseguente imbrattamento della cute e delle carni. Uno studio condotto da Arguello et al. (2012) ha

rilevato che dal 55% al 90% delle contaminazioni che si verificano a carico delle carcasse, si hanno a seguito della perforazione intestinale. Infine, anche nella zona pulita del macello il rischio di contaminazione rimane presente. Nell'area dedicata al lavaggio degli intestini, la loro lavorazione rende più facile una eventuale contaminazione da *Salmonella* a carico dell'ambiente e dei prodotti stessi (Arguello, et al. 2012).

Ponendo infine l'attenzione sulla strumentazione utilizzata lungo la linea di macellazione, la vasca dell'acqua calda rappresenta il primo fattore di rischio. Al suo interno la temperatura dell'acqua difficilmente raggiunge la temperatura adeguata, che deve aggirarsi tra i 60°C e i 61°C, oltre al frequente verificarsi dell'immersione della carcassa al suo interno per un periodo di tempo inferiore rispetto al tempo necessario (circa 15 minuti). La vasca necessita inoltre di un frequente ricambio di acqua, in quanto all'interno di essa ricade il materiale presente sulla cute del suino e fuoriuscito dall'ano, diventando essa stessa possibile fonte di contaminazione (De Busser, et al. 2013).

Successivamente avviene la fase di depilazione, durante la quale è possibile che si verifichi la contaminazione delle spatole della macchina, a seguito del passaggio di una carcassa positiva. In tal modo, la contaminazione viene inevitabilmente diffusa anche alle carcasse successive. La flambatura, che segue la fase di depilazione, generalmente è da considerarsi come un punto di controllo per *Salmonella*, ma qualora non venisse eseguita nel modo corretto, o fosse presente una contaminazione più profonda, si assisterebbe solamente a una riduzione della percentuale di contaminazione, senza un importante abbattimento della prevalenza di carcasse positive. Segue poi la pulitura, mediante l'utilizzo di una macchina provvista di spazzole, che potrebbe diffondere nelle fasi successive la contaminazione non abbattuta dalla flambatura, oppure risultare essa stessa fonte di contaminazione, nel caso in cui le spazzole non siano adeguatamente pulite.

Infine, tutti gli strumenti utilizzati per il taglio e il disosso della carcassa o delle mezzene, andando a contatto con numerosi capi differenti, possono diffondere *Salmonella* tra le carcasse anche a opera di questa strumentazione (Arguello, et al. 2012). Gli operai che utilizzano i coltelli



durante la fase di eviscerazione, inoltre, nel caso non rispettino le norme igieniche previste, quali la permanenza nell'acqua calda a temperatura superiore o uguale a 82°C, rappresentano un'importante fonte di contaminazione. Generalmente infatti il cambio del coltello avviene ogni 3-4 carcasse (De Busser, et al. 2013)

È interessante segnalare che uno studio condotto analizzando le sierovarianti presenti sulla superficie delle carcasse e quelle presenti a livello viscerale ha rilevato che tra esse non era presente nessuna correlazione, concludendo che l'ambiente e le operazioni durante la fase di macellazione risultano essere importanti fonti di contaminazione finale della carcassa (De Busser, et al. 2011).

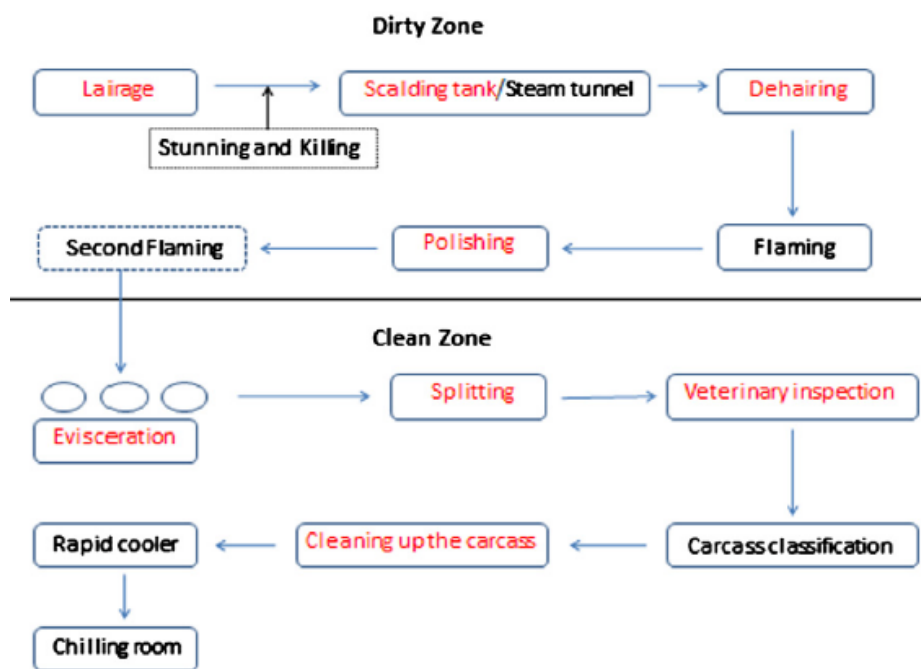


Figura 3. Fasi a cui è sottoposta la carcassa lungo la linea di macellazione. In rosso sono evidenziate le fasi che costituiscono dei punti critici per la contaminazione da parte di *Salmonella* (De Busser, et al. 2013).

## 5. MISURE DI CONTROLLO E PREVENZIONE

### 5.1 ALLEVAMENTO

Sono numerose le misure messe in atto con l'obiettivo di ridurre la presenza di *Salmonella* in allevamento, punto di partenza per il controllo del patogeno.

La prima azione a cui è necessario porre attenzione è l'introduzione di soggetti negativi all'interno dell'allevamento, dal momento che l'inserimento di suini nel gruppo comporta per essi uno stato di stress con conseguente escrezione fecale di *Salmonella* (De Busser, et al. 2013). Per ottimizzare l'introduzione di nuovi capi sarebbe necessario effettuare l'acquisto di suini certificati *Salmonella*-free, i quali, comunque, prima di essere inseriti nel nuovo gruppo, dovranno trascorrere un periodo di quarantena all'interno del allevamento, ma separati dal gruppo nel quale verranno poi inseriti. Questa procedura viene attuata per permettere l'adattamento del loro sistema immunitario con quello dei suini residenti (Consortium 2011). Di conseguenza, il rischio di contrazione di infezioni sarà ridotto.

L'alimento, altra possibile fonte, è necessario che provenga da fornitori certificati (Consortium 2011). Di norma il trattamento termico a cui viene sottoposto l'alimento, se vengono raggiunte le adeguate temperature, distrugge *Salmonella*. Il trattamento ad almeno 80°C permette l'eliminazione del microrganismo, ma non impedisce che la contaminazione avvenga in una fase successiva (De Busser, et al. 2013), in quanto è stata rilevata la presenza di *Salmonella* in campioni di alimenti pellettati all'interno dei mangimifici (Lo Fo Wong, et al. 2004). L'attenzione all'igiene delle fasi successive al trattamento deve quindi essere mantenuta. È stato infatti osservato che suini alimentati con alimenti non pellettati presentano una sieropositività inferiore rispetto a quelli alimentati con l'alimento in pellet (Lo Fo Wong, et al. 2004), in quanto un alimento macinato grossolanamente rende più difficile la sopravvivenza di *Salmonella*, probabilmente a opera di un suo passaggio più lento all'interno dello stomaco, oltre a rendere più acido il pH gastrico. È stato dimostrato però che l'alimento non pellettato comporta un minor

incremento ponderale degli animali (De Busser, et al. 2013). Anche la somministrazione di alimenti liquidi o fermentati è da preferire, in quanto contribuiscono a ridurre la presenza e la diffusione di *Salmonella* tramite l'alimento. Ciò avviene dal momento che le fermentazioni che avvengono a carico dell'alimento, con conseguente produzione di acido lattico e acetico, determinano l'abbassamento del pH. Inoltre l'azione dei lieviti, presenti in questo tipo di alimenti, contribuisce a inibire la crescita di *Salmonella* (Poljak, et al. 2007) (Lo Fo Wong, et al. 2004).

Oltre alla natura dell'alimento è possibile agire nei confronti di *Salmonella* anche attraverso la somministrazione di molecole addizionate al mangime e all'acqua. Le molecole utilizzate sono acidi organici, quali acido lattico e acido formico (Creus, et al. 2007). L'efficacia di queste molecole varia però in base alla dose somministrata, alla durata del trattamento, all'età degli animali e alla prevalenza di *Salmonella* nell'allevamento (De Busser, et al. 2013). Uno studio interessante ha testato la somministrazione di  $\beta$ -galattomannani oligosaccaridi ( $\beta$ -galactomannan oligosaccharide,  $\beta$ -GMOS) all'interno della dieta, con l'obiettivo di ridurre le forme subcliniche di salmonellosi. Queste molecole organiche provengono da numerose fonti biologiche, possiedono composizione diversa e sono commercializzate sotto diversi marchi registrati. Quelle utilizzate nello studio provengono da una pianta, la *Ceratonia siliqua*. La funzione dei  $\beta$ -GMOS è di supportare il metabolismo, grazie alla proprietà di legare le lectine mannosio-specifiche presenti nei batteri Gram negativi che esprimono le fimbrie di tipo 1. Tramite questo meccanismo bloccano quindi l'adesione dei batteri agli enterociti, prevenendo la colonizzazione. Attraverso la formazione di un gruppo di controllo, al quale non veniva somministrato il  $\beta$ -GMOS, e di un gruppo a cui invece era somministrato, è stato possibile dimostrare che alte dosi di  $\beta$ -GMOS permettono la riduzione della sieroprevalenza, oltre a ridurre le sierovarianti presenti nell'allevamento. Sono stati monitorati i due gruppi tramite prelievi di siero, di feci e, al macello, dei linfonodi mesenterici. È stata quindi confermata la capacità di queste molecole nella riduzione di *Salmonella*, ma non è stato ben identificato ancora il momento ideale in cui sarebbe ottimale iniziare la somministrazione (Andres-Barranco, et al. 2014).

Infine, è possibile anche sottoporre l'alimento a trattamenti chimici, tramite l'aggiunta di sostanze, quali gli stessi acidi organici o i loro sali, ma anche formaldeide, terpeni e oli essenziali, i quali hanno la funzione di rompere le membrane batteriche (De Busser, et al. 2013).

Anche sull'acqua di abbeverata si attuano interventi. Come accennato in precedenza, anche nell'acqua possono essere aggiunti acidi organici o disinfettanti. Tramite uno studio nel quale sono stati somministrati disinfettanti, quali un mix di clorato, nitrato e lattato, nell'acqua di abbeverata delle scrofe, associati a una distribuzione topica di altri disinfettanti, è stato possibile dimostrare che il sodio clorato, usato da solo o in associazione ai disinfettanti topici, è in grado di ridurre notevolmente la prevalenza di *Salmonella*, sia nelle feci che nei linfonodi ileocecali (Patchanee, Bahnson e Crenshaw 2005).

La somministrazione di questi composti è quindi di notevole supporto per il controllo della diffusione di *Salmonella*, ma altrettanto fondamentali sono l'analisi microbiologica degli alimenti e delle acque, in quanto parte integrante per ottenere una completa sorveglianza (De Busser, et al. 2013).

Le vaccinazioni sono un'altra importante misura di prevenzione da attuare. Da diversi anni sono disponibili in commercio vaccini nei confronti di *Salmonella* utilizzabili nell'allevamento suino (Yin e Zhou 2018). Essi permettono principalmente di controllare la comparsa dei segni clinici nei suini ma, soprattutto, hanno la funzione di ridurre notevolmente l'escrezione fecale, limitando quindi la diffusione tra i soggetti e l'ambiente (Mainar Jaime e Casanova Higes 2019) (Denagamage, et al. 2007). Attraverso la vaccinazione si ha una riduzione della morbilità e della mortalità dei soggetti. Nonostante venga impedito il passaggio da soggetto portatore a soggetto escretore, non si ha una vera e propria guarigione dei suini portatori, i quali rimangono comunque colonizzati dal patogeno (Fedorka-Cray, Bailey, et al. 1999). I protocolli di vaccinazione permettono di vaccinare i suini a diverse d'età. Il vaccino può essere somministrato alle scrofe pre-parto, in modo che esse trasmettano l'immunità ai suinetti tramite il colostro, oltre a ridurre la loro escrezione durante la lattazione. Oppure, è possibile vaccinare i suinetti

durante la fase di lattazione e svezzamento, impedendo la colonizzazione intestinale da parte di *Salmonella* e la sua escrezione, riducendo quindi l'infezione e la forma clinica nel periodo di post-svezzamento. Infine, la vaccinazione può avvenire durante la fase di ingrasso (Decreto del Presidente della Repubblica 2 luglio 2019, n. 102) (Mainar Jaime e Casanova Higes 2019).

La somministrazione del vaccino avviene tramite iniezione sottocutanea, generalmente utilizzata per le scrofe, oppure per via orale, all'interno di mangime e acqua, ai suinetti e suini all'ingrasso (Decreto del Presidente della Repubblica 2 luglio 2019, n. 102). I vaccini disponibili possono essere vaccini inattivati o vaccini vivi attenuati. Questi ultimi stimolano una miglior risposta immunitaria, sia nella componente cellulare che anticorpale, in quanto è stato dimostrato che la sola immunità umorale non garantisce per una protezione efficace nei confronti di *Salmonella* (Davies, et al. 2016). I vaccini vivi attenuati permettendo di ottenere una miglior stimolazione delle IgA mucosali (De Busser, et al. 2013). Un ulteriore aspetto vantaggioso dei vaccini vivi attenuati è la possibilità di una somministrazione non parenterale, generalmente attraverso l'aerosol o l'aggiunta nel cibo e nell'acqua, riducendo il maneggiamento e lo stress negli animali (Davies, et al. 2016). Esiste però il rischio di un possibile residuo di virulenza (De Busser, et al. 2013). Questo può comportare una possibile rivirulentazione, con conseguente diffusione del ceppo vaccinale nell'allevamento, sempre tramite l'escrezione fecale (Leyman 2012). La vaccinazione presenta inoltre due limiti. Il primo riguarda la scelta delle sierovarianti nei confronti delle quali viene stimolata l'immunità. I vaccini ad oggi disponibili sono indirizzati per la stimolazione anticorpale nei confronti di *S. Choleraesuis*, *S. Typhimurium* e la sua variante monofasica, perché sono i sierotipi più frequentemente rilevati nel suino e i più patogeni per la specie. In particolare *S. Typhimurium* assieme alla sua variante monofasica, sono i sierotipi a maggior carattere zoonotico associati al suino (Mainar Jaime e Casanova Higes 2019). Gli anticorpi prodotti nei confronti di queste sierovarianti hanno però scarsa capacità cross-protettiva nei confronti di tutte le altre possibili sierovarianti con le

quali il suino può venire a contatto lungo la filiera, non escludendo quindi una possibile infezione (De Busser, et al. 2013).

La vaccinazione nei confronti di pochi sierotipi non elimina quindi l'escrezione di *Salmonella* al macello, obiettivo ultimo di tutte le misure di prevenzione. Al macello, ed in particolare nelle fasi che precedono l'arrivo degli animali (trasporto, sosta pre-macellazione), ci si trova di fronte a numerose sierovarianti, spesso appartenenti a gruppi antigenici diversi rispetto all'antigene vaccinale (Mainar Jaime e Casanova Higes 2019).

Il secondo limite è dato dal fatto che non esiste la possibilità di distinguere i soggetti vaccinati da quelli naturalmente infetti. La produzione del vaccino avviene rimuovendo l'OmpD di *Salmonella*, una delle proteine più abbondanti a livello di membrana esterna e assente negli altri batteri Gram negativi. Questa delezione permetterebbe di distinguere i soggetti vaccinati da quelli infettati naturalmente, ma la maggior parte dei programmi di sorveglianza effettuano la ricerca di anticorpi nei confronti dei soli lipopolisaccaridi. Mantenendo nella formulazione vaccinale l'LPS, il quale è il target prevalente nei test ELISA utilizzati, non è quindi possibile effettuare la differenziazione tra soggetti vaccinati e naturalmente infetti (De Busser, et al. 2013).

L'immissione in commercio di un nuovo vaccino (Decreto del Presidente della Repubblica 2 luglio 2019, n. 102) però, rende chiaro quanto la vaccinazione rappresenti un contributo fondamentale per la sicurezza degli alimenti di origine suina, in modo da giungere a un'ottimale riduzione della prevalenza di *Salmonella* nelle carcasse (Davies, et al. 2016).

Anche la pulizia, accurata e completa dei locali, è un'importante misura di prevenzione, dal momento che in linea teorica un suino negativo resta tale se inserito in un ambiente non contaminato (Consortium 2011). L'applicazione del sistema tutto pieno-tutto vuoto in allevamento è da preferire, in quanto è più sicuro da un punto di vista sanitario, dal momento che viene effettuato il vuoto sanitario. A seguito del completo svuotamento del capannone, avviene la pulizia completa degli ambienti e, una volta terminate le operazioni, viene inserito un nuovo gruppo di animali. Questo sistema non permette di ridurre quella che è la diffusione

di *Salmonella* tra i differenti gruppi presenti in uno stesso momento, ma principalmente impedisce che nuovi animali entrino in un ambiente già contaminato (Lo Fo Wong, et al. 2004) (Consortium 2011), evitando quindi che *Salmonella* instauri stati di resistenza all'interno del capannone stesso. Le operazioni di pulizia devono essere rivolte anche a tutte le attrezzature entrate in contatto con gli animali, come le scope, le assi per la movimentazione e gli attrezzi utilizzati per la rimozione delle feci. Ancora, i dispositivi come le ventole, gli abbeveratoi e le mangiatoie, devono essere completamente puliti e sanificati (Bode, Baier e Blaha 2007). La disinfezione viene effettuata tramite l'utilizzo di prodotti appositi. I principali prodotti utilizzati, quali sali d'ammonio quaternario e ipoclorito di sodio, permettono l'eliminazione di *Salmonella* (De Busser, et al. 2013), solamente se applicati in seguito a un'accurata pulizia attraverso l'utilizzo di acqua ad alta pressione (Bonardi 2017), utilizzati poi alle giuste dosi e rispettando il tempo di esposizione necessario (De Busser, et al. 2013). Oltre a questi prodotti, ne sono presenti altri in commercio, che utilizzano diverse molecole chimiche, come formaldeide, glutaraldeide, perossido di idrogeno e acido peracetico. Ognuna di queste sostanze possiede un diverso potere battericida, e, come descritto in precedenza, *Salmonella* ha acquisito la capacità di resistere, almeno parzialmente, all'azione di alcuni di essi. Per questo motivo nel Regno Unito è stata stilata una lista di disinfettanti approvati e utilizzabili in corso di una possibile epidemia (Martelli, et al. 2017). La programmazione e l'attuazione di metodiche standardizzate di pulizia e disinfezione permette una notevole riduzione della prevalenza di *Salmonella* dalle superfici in allevamento, associandole alle altre misure di biosicurezza, in quanto la sola pulizia non è sufficiente all'eliminazione di *Salmonella* (Martelli, et al. 2017).

Altro fattore da tenere in considerazione sono le infrastrutture, le quali devono trovarsi in buone condizioni, attraverso un'adeguata manutenzione. Il pavimento e le pareti non devono presentare eccessivi anfratti, rendendo così difficile il permanere dei residui fecali possibilmente contaminati (Martelli, et al. 2017). Infine, la pavimentazione da preferire di tipo fessurato, in quanto meno materiale organico potrà

permanere sul suolo e, di conseguenza, a contatto con gli animali (Rajic, O'Connor, et al. 2006).

Nell'insieme delle misure di biosicurezza sono poi inclusi anche i piani di derattizzazione e l'installazione di reti anti-uccello (Consortium 2011) (Dal Cappello 2011), permettendo così di avere un controllo sulla presenza di questi animali, in quanto portatori e possibili diffusori di *Salmonella* (Martelli, et al. 2017).

Per concludere, anche il personale addetto deve rispettare delle procedure per garantire la biosicurezza, indossando indumenti puliti, i quali devono essere utilizzati esclusivamente all'interno dell'allevamento, impedendo così il possibile ingresso dall'esterno di *Salmonella*. Deve infatti essere presente negli allevamenti uno spogliatoio, nel quale l'operatore si deve cambiare gli indumenti, oltre a svolgere le personali pratiche igieniche, come il lavaggio delle mani, in quanto anche l'uomo può fungere da vettore (Funk Julie e Wondwossen Abebe Gebreyes 2004). Il personale deve perciò possedere una formazione adeguata, come previsto dall'allegato I del Regolamento CE 852/2004. L'allevamento deve, inoltre, essere provvisto, all'ingresso, di una piazzola dotata di un impianto per la disinfezione. Tale impianto provvede, tramite l'erogazione di una soluzione disinfettante, a igienizzare tutti i mezzi di trasporto in ingresso. Successivamente i mezzi, una volta avuto accesso all'allevamento, dovranno sostare nelle zone a loro prestabilite, situate distanti dai capannoni adibiti agli animali (Dal Cappello 2011).

## **5.2 TRASPORTO**

Anche durante la fase di trasporto è necessario mettere in atto misure e accorgimenti volti a ridurre la possibilità di diffusione di *Salmonella*. Queste misure hanno lo scopo ultimo di ridurre il più possibile lo stress a cui vengono sottoposti gli animali.

È necessario quindi prendere in considerazione fattori come la numerosità dei gruppi, la durata del viaggio, il clima interno ed esterno al mezzo di trasporto e le manipolazioni da parte dell'uomo, come possibili fonti di stress. Come riportato in precedenza infatti, un suino portatore,



sottoposto a una situazione stressante, diventa un soggetto escretore, mentre un suino negativo diventerà più sensibile a possibili infezioni.

Prendendo in considerazione un viaggio della durata superiore a due ore quale fonte certa di stress, con un aumento della prevalenza di *Salmonella* negli animali trasportati (Massacci, et al. 2020), l'azione che più eviterebbe il generarsi di questa situazione sarebbe quella di evitare di effettuare trasporti su lunghe distanze. In alcuni casi, tuttavia, questa situazione è inevitabile.

Inoltre, dal momento che densità elevate e mescolanza tra suini non appartenenti a uno stesso branco generano una situazione stressante (Arguello, et al. 2011), per non inficiare sul benessere durante il trasporto, all'interno del camion vengono formati gruppi di animali non troppo numerosi, e preferibilmente appartenenti allo stesso box, mediante l'impiego di paratie che suddividono gli animali in gruppi (Regolamento CE 1/2005).

Per quanto riguarda invece il controllo della temperatura, la quale varia anche in base alla temperatura esterna, è obbligatorio mantenerla tra i 5°C e i 30°C, con oscillazioni massime di 5°C permesse in funzione della temperatura esterna (Regolamento CE 1/2005).

È anche necessario che le manipolazioni da parte dell'uomo siano ridotte al minimo (Arguello, et al. 2011) durante le fasi di carico e scarico. Le norme sul benessere animale durante il trasporto (Regolamento CE 1/2005) stabiliscono le azioni che gli operatori devono evitare durante la movimentazione degli animali, per ridurre lo stress ed evitare sofferenze inutili. Il personale addetto deve permettere il passaggio degli animali non ostacolando il loro percorso e solo in particolari casi sono autorizzati all'utilizzo di strumenti per la movimentazione dei suini, quali gli strumenti che indicano scariche elettriche. L'uso di tali strumenti non deve comunque ledere in alcun modo l'animale ed essere applicato solo sui muscoli degli arti posteriori per non più di un secondo.

Altra azione atta a ridurre la possibile contaminazione da parte di *Salmonella* è la sospensione dell'alimentazione. Gli animali vengono infatti sottoposti al digiuno per un periodo che va dalle 12 alle 24 ore prima della macellazione (Arguello, et al. 2011). Questa procedura ha

l'obiettivo di ottenere una riduzione del contenuto intestinale, nonché delle dimensioni del pacchetto intestinale stesso, con minor rischio di rottura durante l'eviscerazione (De Busser, et al. 2013). Di conseguenza si avrà un minor rischio di imbrattamento della carcassa durante questa fase. È importante ricordare però che il digiuno prolungato causa nel suino l'alterazione del microbiota, con tutte le conseguenze illustrate in precedenza.

Altra azione fondamentale è la pulizia del mezzo, che va effettuata dopo ogni viaggio, una volta scaricati gli animali. Si inizia rimuovendo la lettiera, eliminando quindi la paglia e le feci dal pavimento del camion (Dal Cappello 2011), a cui segue la fase di detersione vera e propria. Dalle normative europee ogni mezzo, dopo aver effettuato il trasporto, deve essere pulito e disinfettato. La normativa non fornisce tuttavia indicazioni precise e univoche su come effettuare tali operazioni (Romagnosa 2020), per le quali si impiega in genere acqua a temperatura ambiente ad alta pressione. Una volta terminato il lavaggio si effettuano uno o più trattamenti con un disinfettante. I prodotti maggiormente utilizzati sono quelli a base di cloro, detergenti alcalini e sali di ammonio quaternario (Rajkowski, Eblen e Laubauch 1997). L'utilizzo dei prodotti chimici, rispetto alla sola acqua, permette un'elevata riduzione della sopravvivenza di *Salmonella*. Come osservato, tuttavia, talvolta il processo di sanificazione non è sufficiente a eliminare completamente *Salmonella* dai mezzi contaminati (Rajkowski, Eblen e Laubauch 1997).

Lo studio effettuato da Hurd e collaboratori nel 2002 ha ipotizzato che, per abbattere la contaminazione di *Salmonella* che avviene durante il trasporto, bisognerebbe eliminare questa fase, macellando gli animali in azienda. Dato che non è una soluzione realistica, si devono ottimizzare le misure attuate durante il trasporto, che vanno considerate parte integrante di un insieme più vasto di procedure a tutela della salute umana.

## 5.3 MACELLAZIONE

### 5.3.1 STALLA DI SOSTA

La stalla di sosta rappresenta anch'essa un importante punto di controllo, a livello della quale si attuano specifiche operazioni. Considerando che il periodo trascorso nella stalla di sosta risulta inevitabilmente stressante per i suini, è necessario attuare procedure volte a ridurre l'esposizione a *Salmonella* durante questa fase, con l'obiettivo di migliorare la sicurezza microbiologica della carcassa (Bonardi 2017).

Per quanto riguarda la permanenza dei suini anche se l'attesa è breve, in quanto va mediamente da 1 a 6 ore, è sufficiente per permettere la diffusione di *Salmonella* tra gli animali. Un tempo minimo di sosta è però necessario in quanto gli animali necessitano di riposo dopo il viaggio, sia per garantire il rispetto delle norme sul benessere animale, che per garantire la qualità delle carni (Arguello, et al. 2012).

Agendo a livello strutturale invece, il regolamento sul benessere animale durante l'abbattimento (Regolamento CE 1099/2009) prevede l'utilizzo di pavimentazione ruvida e grigliata, in modo da ridurre gli scivolamenti e mantenere l'animale il meno possibile a contatto con il materiale organico. In questo modo la cute del suino risulterà più pulita. Questo tipo di pavimentazione inoltre impedisce che l'animale inciampi o cada. Buona prassi è inoltre la corretta manutenzione delle superfici usurate, in modo tale da ridurre il più possibile la presenza di crepe e irregolarità.

Tramite numerosi studi è stato poi riportato che l'utilizzo di disinfettanti, in associazione al lavaggio con l'acqua ad alta pressione, determinano una notevole riduzione della contaminazione sulle superfici della stalla (Arguello, et al. 2012). I prodotti utilizzati per la disinfezione sono gli stessi che vengono applicati sui camion per il trasporto del bestiame (Schmidt, et al. 2004).

Per ridurre le fonti di stress, come l'affollamento e la rottura delle gerarchie, le misure idonee sono principalmente rappresentate dalla formazione di gruppi di numerosità ridotta (Arguello, et al. 2011).

Per quanto concerne le manipolazioni invece, esse vanno ridotte al minimo movimentando gli animali senza la necessità di un eccessivo

intervento umano, agendo sul design delle infrastrutture. Esempi possono essere il posizionamento dell'ingresso del macello vicino al cancello della stalla di sosta, oppure l'utilizzo di cancelli automatici per movimentare i diversi gruppi (De Busser, et al. 2013).

Infine, un'ulteriore azione il cui scopo è quello di migliorare il benessere, è la docciatura dei suini con acqua quando le temperature superano i 10°C (Schütte, et al. 1996).

### **5.3.2 LINEA DI MACELLAZIONE**

La tutela del benessere animale si fonda sul rispetto di numerose regole anche all'interno del macello. Riducendo la manipolazione da parte dell'uomo, e posizionando l'ingresso alla linea di macellazione vicino ai recinti di sosta, con corridoi ben illuminati e curvilinei l'animale procede senza paura, avendo anche l'impressione di tornare al punto di partenza. La presenza, inoltre, di cancelli automatici aiuta lo spostamento dei gruppi, evitando anche in questo caso un eccessivo contatto tra l'uomo e il suino (Regolamento CE 1099/2009).

All'interno del macello vanno attuate diverse procedure operative per poter garantire un adeguato livello igienico lungo la catena di macellazione.

L'operatore deve rispettare tutte le norme igieniche stabilite dal Regolamento CE 853/2004, quali il cambio degli indumenti prima dell'ingresso nello stabilimento, il lavaggio frequente delle mani, così come il ricambio frequente dei guanti. Dal momento che anche l'uomo può contrarre la malattia ed essere lui stesso portatore, il personale affetto da salmonellosi non può accedere ai locali in cui sono presenti le carcasse o i tagli di carne (D'Aoust 1991).

A livello di carcassa è di fondamentale importanza che esse non vadano in contatto una con l'altra. Per contrastare il rischio di contaminazione fecale a seguito dell'abbattimento, si agisce chiudendo il tratto intestinale tramite l'applicazione di un anello a livello dell'ano. Questa pratica è ormai attuata meccanicamente, garantendo così l'impossibilità della fuoriuscita del materiale fecale (Arguello, et al. 2012). Il digiuno prolungato a cui è stato sottoposto l'animale permette, inoltre, la

riduzione del volume dell'intestino, ostacolando il verificarsi di un'eventuale rottura intestinale nella successiva fase di eviscerazione.

A livello della vasca di scottatura invece, l'acqua deve mantenere una temperatura costante di 60°C-61°C, e la carcassa deve permanere al suo interno per circa 15-16 minuti. Bolton, et al. (2003) hanno condotto uno studio stabilendo una associazione tra tempo e temperatura che garantisce la riduzione di *Salmonella*. Da tale studio è emerso che un minuto e mezzo a 60°C o un minuto a 62°C, permettono la sua riduzione nell'acqua della vasca pari a 1log/10mL. La vasca di scottatura, comunque, deve essere sottoposta a un frequente ricambio d'acqua. Successivamente segue la fase di depilazione, a livello della quale è possibile ridurre la contaminazione superficiale, in quanto si verifica l'asportazione delle setole e con esse anche i residui di sporcizia (Arguello, et al. 2012). Da ultimo, la bruciatura delle setole è probabilmente la fase più importante nel controllo delle contaminazioni, grazie all'applicazione del calore alla carcassa. Si effettuano preferibilmente due flambature, una precedente alla pulitura e una successiva, per ridurre ulteriormente una possibile contaminazione microbica (De Busser, et al. 2013).

Durante la macellazione il personale è tenuto a rispettare le norme contenute nel Regolamento CE 853/2004 per l'utilizzo e la sanificazione dei coltelli da dissezione, i quali devono essere riposti per il tempo necessario all'interno delle apposite coltelliere, con acqua ad almeno 82°C, effettuando lavaggi frequenti. Le stesse regole di igiene personale devono essere rispettate anche dal veterinario ispettore. È stato infatti dimostrato che nel momento in cui si sanifica il coltello nell'acqua a 82°C dopo ogni carcassa, avviene una riduzione della contaminazione del 50% (Childers, Keahey e Kotula 1977).

Infine, per tutte le attrezzature utilizzate nella fase di sezionamento, o che comunque entrano in contatto con le carcasse o altro materiale biologico, deve essere prevista un'accurata igienizzazione, tramite l'utilizzo di prodotti disinfettanti idonei, quali i sali d'ammonio quaternario e l'ipoclorito di sodio. Ove possibile è preferibile effettuare più interventi di detersione e sanificazione delle attrezzature durante il loro utilizzo, e

comunque ogni qualvolta queste risultino contaminate (ad esempio imbrattate da materiale fecale, ingesta, bile). In ogni caso le operazioni di sanificazione devono avvenire obbligatoriamente alla fine della giornata di lavoro (De Busser, et al. 2013).

Un ulteriore importante misura di controllo è rappresentata dall'applicazione dei criteri di igiene del processo. Essi sono parametri microbiologici stabiliti dal Regolamento CE 2073/2005 e utilizzati dagli operatori del settore alimentare (OSA), con l'obiettivo di valutare l'accettabilità del livello di igiene di un processo produttivo. Il Regolamento specifica per ogni criterio microbiologico la tipologia di alimento da campionare, la fase del processo a cui va applicato, il piano di campionamento, la metodica d'analisi, il limite massimo accettato e le azioni correttive in caso di superamento del limite massimo.

Per il controllo di *Salmonella* al macello, il Regolamento prevede il prelievo dei campioni sulla carcassa dopo la macellazione, ma prima della fase di raffreddamento, per un totale di 50 campioni prelevati durante 10 sessioni di campionamento successive, con l'utilizzo di spugne abrasive apposite. Tali campioni vengono poi analizzati tramite la metodica di riferimento, nel caso specifico la EN/ISO 6579. I risultati ottenuti verranno confrontati con i limiti di accettabilità stabiliti, che per *Salmonella* prevedono un massimo di 3 campioni positivi sui 50 campioni prelevati, come attestato dal Regolamento CE 1441/2007, che ha riveduto i criteri del Regolamento CE 2073/2005 circa la contaminazione delle carcasse suine. Nel caso in cui dovesse verificarsi il superamento del limite massimo di accettabilità, sono previste azioni correttive, quali il miglioramento delle condizioni igieniche durante la macellazione, la revisione dei controlli del processo, della provenienza degli animali e delle misure di biosicurezza negli allevamenti di provenienza. La stessa metodica di campionamento verrà applicata anche dal Veterinario Ufficiale nel corso dei controlli ufficiali, come prevede il Regolamento UE 627/2019. Stando al Regolamento CE 852/2004, che identifica l'OSA come responsabile del rispetto dei requisiti di igiene nella produzione primaria, l'applicazione del Regolamento CE 2073/2005 (ed, in particolare, del Regolamento CE 1441/2007 per quanto concerne la

contaminazione da *Salmonella* delle carcasse suine) permette all'OSA che interviene nella fase post-primaria di tenere sotto controllo i parametri microbiologici stabiliti dalla legislazione comunitaria.

Ai fini di migliorare il livello igienico delle carcasse suine, il Regolamento CE 853/2004 ammette l'impiego di trattamenti decontaminanti, ad integrazione delle buone pratiche di macellazione. Con il Regolamento UE 1474/2015 viene stabilito come unico trattamento di decontaminazione applicabile alle carcasse o alle mezzene di suino, l'utilizzo di acqua calda riciclata. Tale processo, se applicato, deve essere successivo ai campionamenti previsti dal Regolamento CE 2073/2005 e precedente alla fase di raffreddamento delle carcasse. Il Regolamento UE 1474/2015 stabilisce quindi le condizioni d'utilizzo dell'acqua stessa, la quale deve provenire da fonti di acqua potabile e subire un trattamento di riscaldamento e riciclaggio in un sistema chiuso e separato. Inoltre, l'acqua, presente nella vasca, deve essere sottoposta a un ricambio appropriato e, nel caso risultasse necessario, si deve procedere all'estrazione delle particelle grossolane, tramite filtrazione, e all'aggiunta di nuova acqua potabile. L'acqua calda può anche essere distribuita sulle carcasse o mezzene anche tramite appositi ugelli. Il Regolamento, inoltre, prevede il monitoraggio costante della temperatura dell'acqua, con la relativa registrazione su un apposito documento, così come impone l'obbligo di effettuare periodicamente l'esame chimico e microbiologico dell'acqua, al fine di garantire il rispetto dei parametri di riferimento per l'acqua potabile. Infine, stabilisce il divieto di applicazione di tale trattamento sulle carcasse che presentino una contaminazione fecale visibile.

L'impiego di acqua calda per la decontaminazione delle carcasse, tuttavia, non trova grande applicazione negli impianti di macellazione a causa dell'elevato costo di mantenimento.

Tutte le azioni di controllo e prevenzione fino a qui considerate vanno necessariamente applicate in associazione una all'altra, in quanto, se attuate singolarmente, non garantiscono un adeguato abbattimento della contaminazione da *Salmonella* lungo la filiera.

## 6. POSSIBILI ULTERIORI MISURE E OBIETTIVI FUTURI

È molto interessante riportare le strategie attuate in altri paesi, sempre appartenenti all'Unione Europea, per limitare la diffusione di *Salmonella* negli allevamenti suini e, di conseguenza, nell'intera filiera.

Danimarca e Olanda, per esempio, mettono in atto specifiche strategie d'intervento (Arguello, et al. 2012). A partire dal 1995, in Danimarca sono stati attuati i piani di sorveglianza per *Salmonella* negli allevamenti all'ingrasso (Sørensen, et al. 2004).

Per tale motivo si effettuano campionamenti sulle carcasse con l'obiettivo di classificare gli allevamenti in base alla risposta anticorpale rilevata nei suini impiegando il cosiddetto "meat juice". Il Piano Nazionale per il controllo della salmonellosi in Danimarca, prevede il prelievo al macello di campioni di tessuto muscolare, dai quali, in laboratorio, si ottiene l'omogenato. A partire da quest'ultimo vengono effettuati test sierologici volti a rilevare gli anticorpi prodotti nei confronti di *Salmonella*. Sulla base dei risultati sierologici ottenuti dalle carcasse, ogni allevamento viene quindi assegnato a uno dei tre livelli: basso, medio o alto. Allevamenti di basso livello presentano al macello un basso numero di carcasse sieropositive e non richiedono perciò l'adozione di misure di intervento. Nel livello medio rientrano, invece, allevamenti che presentano una più alta percentuale di carcasse sieropositive, richiedendo interventi con la finalità di ridurre la sieroprevalenza. Infine, gli allevamenti di alto livello sono quelli con valori di sieropositività inaccettabili, che richiedendo anch'essi l'applicazione di misure di intervento, nonché ulteriori precauzioni igieniche durante la fase di macellazione (Bager e Halgaard 2002). Per i suini provenienti da allevamenti altamente infetti, vengono perciò messe in atto al macello misure straordinarie quali: l'implementazione delle misure igieniche, la macellazione a fine giornata, il divieto di permanere nella stalla di sosta durante il periodo notturno, il divieto di essere uniti ad altri gruppi, la velocità di macellazione ridotta, il divieto del taglio della testa, e infine per i polmoni, il cuore, il fegato e l'intestino vige l'obbligo di sottoporli ad un trattamento termico, oppure di eliminarli come sottoprodotti di origine animale. Vengono effettuati, inoltre, campionamenti lungo la linea di macellazione, per valutare la



contaminazione da *Salmonella* delle carcasse. Nel caso in cui i valori ottenuti siano superiori rispetto a quelli stabiliti dalla normativa danese, le carni vanno avviate al trattamento termico (Arguello, et al. 2012). Negli allevamenti di medio e alto livello, inoltre, è previsto il prelievo di campioni fecali, al fine di identificare il sierotipo responsabile dell'infezione.

Infine, il Piano Nazionale danese stabilisce la linea da seguire anche negli allevamenti di riproduttori, a livello dei quali vengono svolti controlli sierologici effettuati periodicamente a partire da campioni di sangue, rendendo possibile un monitoraggio costante della risposta anticorpale. Quindi, qualora si dovesse verificare la presenza di campioni con un titolo anticorpale vicino al valore soglia stabilito, si provvede all'esecuzione di un esame batteriologico a partire dal materiale fecale e al blocco della movimentazione degli animali (Bager e Halgaard 2002).

La Direttiva Europea 99/2003 e il Regolamento CE 2160/2003, che regolamentano il monitoraggio delle zoonosi, hanno portato anche la Germania, l'Olanda e il Belgio ad attuare programmi di controllo della salmonellosi nel suino, riassunti tutti nella Tabella 1, tramite indagini sierologiche, come quelle attuate in Danimarca. Il primo tra questi Paesi a iniziare il programma di controllo fu la Germania, nel 2003. Partendo da campioni provenienti da porzioni di muscolo delle carcasse e dal siero, sono stati effettuati gli esami sierologici con l'obiettivo di individuare il livello di sieroprevalenza degli allevamenti di provenienza. Anche in Germania hanno proseguito, quindi, con la classificazione degli allevamenti in tre differenti livelli, in base alla percentuale di campioni sieropositivi evidenziati dalle analisi delle carcasse. Nel livello I sono inclusi gli allevamenti con un ridotto numero di campioni sieropositivi, inferiori al 20%, mentre al livello II fanno parte gli allevamenti con una sieropositività compresa tra il 20% ed il 40%, nei quali è necessario un miglioramento delle misure di igiene. Negli allevamenti di livello III, per la loro elevata percentuale di sieropositività (superiore al 40%), necessitano dell'attuazione immediata di indagini epidemiologiche e batteriologiche, al fine di individuare la fonte di ingresso di *Salmonella* (Merle, et al. 2011). L'attuazione dei piani di monitoraggio ha permesso a questi Paesi di

ridurre nel corso degli anni la prevalenza di *Salmonella* all'interno degli allevamenti da ingrasso.

Paese	Campionamento		Monitoraggio serologico		Classificazione	
	Campione	N° /anno	ELISAs utilizzati	Cut off*	Periodicità	Categorie
Danimarca	Succo carne	60-100 <sup>1</sup>	Danish mix ELISA	DO%≥20 (ponderazione: 3:1:1)	Trimestrale	1 (<40%) 2 (≥40% y <65%) 3 (≥65%)
Irlanda	Sangue	Max. 72 (6/mese)	Non specificato	DO%≥40	Trimestrale	NO (se ≥50% l'allevamento è escluso dal marchio di qualità)
Regno Unito	Il programma di controllo ha sospeso transitoriamente il monitoraggio sierologico (succo di carne) negli allevamenti e sta aspettando nuove direttive.					
Germania	Succo di carne (sangue)	60	Salmotype, Labor Diagnostik Herd Check, IDEXX PrioCheck, Prionics	DO%≥40	Trimestrale	1 (≤20%) 2 (>20% a ≤40%) 3 (>40%)
Olanda	Sangue	36	Non specificato	DO%≥40	Trimestrale	Similare al programma tedesco

\*Limite oltre la soglia (cut off) a partire dal quale si considera un campione positivo

<sup>1</sup> Secondo la quantità di soggetti inviati annualmente al macello: 60 (<2.000 suini); 75 (2.001-5.000 suini); 100 (>5.000 suini)

Tabella 1. Principali programmi di controllo delle salmonellosi suine nell'Unione Europea (E. Creus 2016).

Uno studio (Arguello, et al. 2012) ha ipotizzato, inoltre, possibili metodiche alternative atte alla decontaminazione delle carcasse, tuttavia tali metodiche non sono ancora approvate dall'UE. Nello studio vengono illustrati l'utilizzo di vapore acqueo in associazione agli ultrasuoni, il trattamento della carcassa con acidi organici, perossido di idrogeno o il clorito di sodio acidificato, di cui propone l'utilizzo anche durante il trattamento con l'acqua calda.

Per quanto riguarda i possibili interventi in allevamento, uno studio (Fedorka-Cray, Bailey, et al. 1999), ha posto l'attenzione sull'impiego di una coltura competitiva (mucosal competitive exclusion culture from swine, MCES), somministrata tramite l'alimento, per contrastare lo stato di portatore. In questo modo si verifica una competizione batterica nei

confronti di *Salmonella*, a danno di quest'ultima. La coltura MCES è ottenuta a partire dalla mucosa cecale di suini di 6 settimane d'età testati e risultati negativi a *Salmonella*. In questo studio sono state testate scrofe e suinetti, tramite tamponi rettali e campioni anatomopatologici. Sono stati creati due gruppi: il primo, a cui è stata somministrata la MCES a 6 e 24 ore post-parto, e il secondo gruppo, di controllo, a cui invece è stata somministrata soluzione salina 48 ore post-parto. Entrambi i gruppi sono stati infettati con *S. Choleraesuis*. Scrofe appartenenti al primo gruppo, positive a *Salmonella* prima del parto, sono risultate negative una volta somministrata la coltura MCES. Tra i suinetti invece, all'interno del primo gruppo, l'infezione è risultata asintomatica, probabilmente a opera della protezione colostrale, mentre nel secondo gruppo si sono manifestati casi di febbre per un paio di giorni. Inoltre, prelevando nei suinetti campioni di feci tramite tamponi rettali, è stata rilevata la presenza di *Salmonella* nel 50% dei tamponi provenienti dal primo gruppo, rispetto al 100% di positività riscontrata nei tamponi del secondo gruppo, confermando l'utilità del MCES per la riduzione dell'escrezione fecale di *Salmonella*. Infine, in alcune delle nidiate sottoposte alla somministrazione del MCES, è stata anche evidenziata la riduzione dello stato di portatore rispetto al gruppo di controllo.

Per opporsi alla colonizzazione intestinale e linfonodale di *Salmonella* si può ricorrere anche alla somministrazione di batteriofagi. Uno studio condotto da Wall e collaboratori (2009), ha dimostrato l'utilità dei batteriofagi somministrando un cocktail di fagi tramite sonda gastrica a suinetti e a suini all'ingrasso. A livello di ileo, ceco e tonsille dei suinetti è stata dimostrata una riduzione della colonizzazione da parte di *Salmonella* del 90%-99%. Per quanto riguarda i suini all'ingrasso, un gruppo di essi è stato infettato con *S. Typhimurium* e lasciato libero di contaminare il recinto in cui si trovavano. Ad un altro gruppo invece è stato somministrato il cocktail contenente i fagi e successivamente è stato inserito nello stesso recinto dei suini infettati. Una volta macellati, all'esame necroscopico è stata rilevata una notevole riduzione della concentrazione di *Salmonella* sia nell'ileo che nel ceco, rispettivamente del 90% e del 95%. Studi in vitro hanno mostrato inoltre che i fagi

possiedono un effetto litico su numerose salmonelle non tifoidi. Questo studio permette di confermare che la somministrazione di batteriofagi contribuisce a ridurre notevolmente la colonizzazione intestinale di *Salmonella*. Inoltre è possibile la somministrazione di questi cocktail tramite capsule nel cibo e nell'acqua, permettendone un facile utilizzo. Un successivo passo ulteriore sarà quello di selezionare geneticamente linee resistenti a *Salmonella*, almeno nei confronti dei sierotipi maggiormente coinvolti nei casi di salmonellosi umana. Studi recenti (Schut, et al. 2020) hanno l'obiettivo di individuare le modificazioni di singoli nucleotidi del genoma suino responsabili della suscettibilità nei confronti di *Salmonella*. Tramite metodiche di laboratorio si andranno poi ad osservare i meccanismi di reclutamento dei neutrofili e di neutralizzazione intracellulare nei confronti dei batteri. Gli studi, ancora in corso, hanno tuttavia evidenziato che le modificazioni avvengono nelle vicinanze o a livello di geni coinvolti nella risposta immunitaria innata. Questo può essere un punto di partenza per il miglioramento genetico di alcune linee di suini allo scopo di aumentare la resistenza verso patogeni enterici.

## 7. CONCLUSIONI

*Salmonella* rappresenta, ad oggi, uno dei microrganismi maggiormente responsabili delle tossinfezioni alimentari nell'uomo, con conseguente grave rischio per la salute pubblica. Per questo motivo alcuni Paesi dell'Unione Europea hanno ritenuto necessario attuare piani di controllo atti a impedire la diffusione di *Salmonella* all'interno della filiera del suino.

Dal presente lavoro di tesi è possibile individuare le misure di prevenzione attuate in Italia a livello dell'allevamento, durante la fase di trasporto e infine durante la macellazione.

Quando l'animale si trova in allevamento, l'attenzione viene posta sulla scelta dell'alimento a minor rischio di contaminazione e sull'applicazione di specifici sistemi di allevamento. Allo stesso modo, le operazioni di lavaggio dei locali, l'igiene del personale e le misure di biosicurezza risultano essere azioni fondamentali per contrastare e ridurre la prevalenza di *Salmonella*. Un altro elemento cardine su cui si basa la prevenzione della diffusione di *Salmonella* in allevamento è l'applicazione dei protocolli di vaccinazione.

Durante la fase di trasporto, la possibilità di controllare la trasmissione di *Salmonella* è permessa attraverso la corretta applicazione delle pratiche di pulizia e disinfezione del mezzo di trasporto, oltre al rispetto del benessere animale, garantendo il minor livello di stress possibile.

Infine, al macello, l'attenzione viene posta sull'igiene della strumentazione utilizzata, quali macchine e coltelli, oltre alla formazione del personale. Inoltre, in ottemperanza a regolamenti comunitari è obbligatorio il campionamento delle carcasse sia da parte dell'OSA che dall'Autorità Competente per valutare, rispettivamente, la corretta igiene della macellazione e l'attuazione dei principi elencati dai regolamenti comunitari.

Porre l'attenzione sui fattori che incidono sulla diffusione di *Salmonella* nella filiera, stabilendo valori di accettabilità della contaminazione delle carcasse, rappresenta sicuramente un mezzo per tenere sotto controllo i possibili punti di ingresso del patogeno. Tuttavia, la mancanza di piani di monitoraggio nazionali non permette di conoscere lo stato sanitario dei

diversi allevamenti e, di conseguenza, la capacità di agire come escretori da parte dei suini avviati alla macellazione. In un simile contesto, non si può agire con la cosiddetta “macellazione logistica”, che lascerebbe per ultimi i suini appartenenti ad allevamenti con elevata prevalenza di *Salmonella*, a vantaggio di lotti di suini a bassa prevalenza. Oltre alla istituzione di piani di monitoraggio, la sicurezza della filiera trarrebbe vantaggio anche da certe innovazioni scientifiche mirate alla prevenzione, quali la somministrazione di fagi o la selezione di certe linee genetiche di suini resistenti a *Salmonella*.

## BIBLIOGRAFIA

- Andres-Barranco, S., J.P. Vico, M.J. Grillò, e R.C. Mainar-Jaime. «Reduction of subclinical *Salmonella* infection in fattening pigs after dietary supplementation with a  $\beta$ -galactomannan oligosaccharide.» *Journal of Applied Microbiology*, 2014.
- Arguello, H., P. Rubio, A. Jaramillo, V. Barrios, M. García, e A. Carvajal. «Evaluation of cleaning and disinfection procedures against *Salmonella enterica* at swine farms, transport and lairage facilities.» *SafePork*, 2011.
- Arguello, Hector, Avelino Alvarez-Ordóñez Ana Carvajal, Pedro Rubio, e Miguel Prieto. «Role of Slaughtering in *Salmonella* Spreading and Control in Pork Production.» *Journal of Food Protection*, 2012.
- Bager, Flemming, e Christian Halgaard. «*Salmonella* control programmes in Denmark.» 2002.
- Bell, Chris, e Alec Kyriakides. «*Salmonella*: A Practical Approach to the Organism and its Control in Foods.» 2002.
- Beshiru, Abeni, Isoken H. Igbinosa, e Etinosa O. Igbinosa. «Biofilm formation and potential virulence factors of *Salmonella* strains isolated from ready-to-eat shrimps.» *Plos one*. 20 settembre 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204345>.
- Blazquez, E., et al. «Combined effects of spray-drying conditions and postdrying storage time and temperature on *Salmonella choleraesuis* and *Salmonella* Typhimurium survival when inoculated in liquid porcine plasma.» *Letters in Applied Microbiology*, 2018.
- Bode, K., S. Baier, e T. Blaha. «Specific Cleaning And Disinfection Procedures For *Salmonella* Infected Pig Herds.» *ISAH*, 2007.
- Bolton, D J, R Pearce, J J Sheridan, D A McDowell, e I S Blair. «Decontamination of pork carcasses during scalding and the prevention of *Salmonella* cross-contamination.» *J Appl Microbiol*, 2003.
- Bonardi, Silvia. «*Salmonella* in the pork production chain and its impact on human health in the European Union.» *Epidemiol. Infect.*, 2017.

- Bonardi, Silvia, et al. «*Salmonella* Detection and Counting on Pig Carcasses and Cutting Lines in Italian Slaughterhouses.» *FOODBORNE PATHOGENS AND DISEASE*, 2018.
- Brenner, F. W., R. G. Villar, F. J. Angulo, R. Tauxe, e B. Swaminathan. «*Salmonella* Nomenclature.» *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, luglio 2000.
- Bush, Larry M., e Maria T. Vazquez-Pertejo. Infezioni da *Salmonella* non tifoidi. Febbraio 2020. <https://www.msmanuals.com/it-it/professionale/malattie-infettive/bacilli-gram-negativi/infezioni-da-salmonella-non-tifoidi>.
- Carstensen, Bendix, e Jette Christensen. «Herd size and sero-prevalence of *Salmonella* enterica in Danish swine herds: a random-effects model for register data.» *Preventive Veterinary Medicine*, 1997.
- Childers, A B, E E Keahey, e A W Kotula. «Reduction of *Salmonella* and fecal contamination of pork during swine slaughter.» *J Am Vet Med Assoc*, 1977.
- Consortium, FCC. «Analysis of the costs and benefits of setting a target for the reduction of *Salmonella* in breeding pigs .» Report per Commissione Europea, 2011.
- Correia-Gomes, C., D. Mendonca, M. Vieira-Pinto, e J. Niza-Ribeiro. «Risk factors for *Salmonella* spp in Portuguese breeding pigs using a multilevel analysis.» *Preventive Veterinary Medicine*, 2012.
- Creus, E., J.F. Pérez, B. Peralta, F: Baucells, e E. Mateu. «Effect of Acidified Feed on the Prevalence of *Salmonella* in Market-age Pigs.» *Zoonoses and Public Health*, 2007.
- Creus, Eva. «Programmi di vigilanza e controllo della salmonellosi suina nella UE: regole generali.» *3tre3*. 5 Agosto 2016. [https://www.3tre3.it/articoli/programmi-di-vigilanza-e-controllo-della-salmonellosi-suina-nella-ue\\_2747/](https://www.3tre3.it/articoli/programmi-di-vigilanza-e-controllo-della-salmonellosi-suina-nella-ue_2747/).
- Cummings, Kevin J., et al. «Clinical Features of Human Salmonellosis Caused.» *FOODBORNE PATHOGENS AND DISEASE*, 2012.
- Dal Cappello, Andrea. «Biosicurezza e protocolli d'igiene nelle produzioni zootecniche.» Tesi di laurea triennale, Università degli studi di Padova, 2011.



- D'Aoust, Jean-Yves. «Pathogenicity of foodborne *Salmonella*.» *International Journal of Food Microbiology*, 1991.
- Davies, R., R.J Gosling, A.D. Wales, e R.P. Smith. «Use of an attenuated live *Salmonella* Typhimurium vaccine on three breeding pig units: A longitudinal observational field study.» *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 2016.
- De Busser, E V, et al. «Detection and characterization of *Salmonella* in lairage, on pig carcasses and intestines in five slaughterhouses.» *Int J Food Microbiol*, 2011.
- De Busser, Emily V., Lieven De Zutter, Jeroen Dewulf, Kurt Houf, e Dominiek Maes. «*Salmonella* control in live pigs and at slaughter.» *The Veterinary Journal*, 2013.
- Decreto del Presidente della Repubblica 2 luglio 2019, n. 102. (2019).
- Denagamage, Thomas N., Annette M. O'Connor, Jan M. Sargeant, Andrijana Rajic, e James D. McKean. «Efficacy of Vaccination to Reduce *Salmonella* Prevalence in Live and Slaughtered Swine: A Systematic Review of Literature from 1979 to 2007.» *FOODBORNE PATHOGENS AND DISEASE*, 2007.
- Direttiva Europea 17 Novembre 2003, n. 99 "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".* (2003).
- EFSA. «The European Union One Health 2019 Zoonoses Report.» Report EFSA, 2021.
- Farzan, Abdolvahab, Robert M. Friendship, Catherine E. Dewey, Keith Warriner, Cornelius Poppe, e Kim Klotins. «Prevalence of *Salmonella* spp. on Canadian pig farms using liquid or dry-feeding.» *Preventive Veterinary Medicine*, 2005.
- Fedoraka-Cray, Paula J., J. Stan Bailey, Norman J. Stern, Nelson A. Cox, Scott R. Ladely, e Michael Musgrove. «Mucosal Competitive Exclusion to Reduce *Salmonella* in Swine.» *Journal of Food Protection*, 1999.

- Fedorka-Cray, Paula J., Shannon C. Whipp, Richard E. Isaacson, Nels Nord, e Kris Lager. «Transmission of *Salmonella* Typhimurium to swine.» *Veterinary Microbiology*, 1994.
- Funk Julie, DVM, MS, PhD, e DVM, PhD, Diplomate ACVPM Wondwossen Abebe Gebreyes. «Risk factors associated with *Salmonella* prevalence on swine farms.» *Literature review. Peer reviewed*, 2004.
- Gal-Mor, Ohad. «Persistent Infection and Long-Term Carriage of Typhoidal and Nontyphoidal Salmonellae.» *Clinical Microbiology Reviews*, 2018.
- Garrido, Victoria, Samanta Sánchez, Beatriz San Roman, Lorenzo Fraile, Lourdes Migura-García, e María-Jesus Grillo. «*Salmonella* Infection in Mesenteric Lymph Nodes of Breeding Sows.» *FOODBORNE PATHOGENS AND DISEASE*, 2019.
- Gemmellaro, Salvatore. *Microbiologia Italia*. 5 giugno 2019. <https://www.microbiologiaitalia.it>.
- Gomes-Neves, Eduarda, et al. «*Salmonella* cross-contamination in swine abattoirs in Portugal: Carcasses, meat and meat handlers.» *International Journal of Food Microbiology*, 2012.
- Graziani, Caterina, et al. Le infezioni da *Salmonella*: diagnostica, epidemiologia e sorveglianza. Rapporti ISTISAN 05/27, Istituto Supriore di Sanità, 2005.
- Hald, T., A. Wingstrand, M. Swanenburg, A. von Altrock, e B. M. Thorberg. «The occurrence and epidemiology of *Salmonella* in European pig slaughterhouses.» *Epidemiol. Infect.*, 2003.
- Harrell, Jaikin E., et al. «*Salmonella* Biofilm Formation, Chronic Infection, and Immunity Within the Intestine and Hepatobiliary Tract.» *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2021.
- Harris, I T, P J Fedorka-Cray, J T Gray, L A Thomas, e K Ferris. «Prevalence of *Salmonella* organisms in swine feed.» *J Am Vet Med Assoc*, 1997.
- Hill, Andrew A., Robin L. Simons, Arno N. Swart, Louise Kelly, Tine Hald, e Emma L. Snary. «Assessing the Effectiveness of On-Farm and

- Abattoir Interventions in Reducing Pig Meat–Borne Salmonellosis within E.U. Member States.» *Risk Analysis*, 2016.
- Hurd, H. S., J. D. McKean, R. W. Griffith, I. V. Wesley, e M. H. Rostagno. «*Salmonella enterica* Infections in Market Swine with and without Transport and Holding.» *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*,, 2002.
- Hurd, H. Scott, James D. Mckean, Irene V. Wesley, e Locke A. Karriker. «The Effect of Lairage on *Salmonella* Isolation from Market Swine.» *Journal of Food Protection*, 2001.
- IZSVe. «Isolato ceppo appartenente ad un nuovo sierotipo di *Salmonella*.» *Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie*. 12 Luglio 2021. <https://www.izsvenzie.it/isolato-ceppo-nuovo-sierotipo-salmonella/>.
- Larsen, S. T., J. D. Mckean, H. S. Hurd, M. H. Rostagno, R. W. Griffith, e I. V. Wesley. «Impact of Commercial Preharvest Transportation and Holding on the Prevalence of *Salmonella enterica* in Cull Sows.» *Journal of Food Protection*, 2003.
- Leyman, B. «Optimizing vaccination of pigs against *Salmonella* Typhimurium.» Tesi di dottorato, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ghent, Belgium, 2012.
- Lo Fo Wong, D.M.A., et al. «Herd-level risk factors for subclinical *Salmonella* infection in European finishing-pig herds.» *Preventive Veterinary Medicine*, 2004.
- Lynch, H., et al. «*Salmonella* in breeding pigs: Shedding pattern, transmission of infection and the role of environmental contamination in Irish commercial farrow-to-finish herds.» *Food Institutional Research Measure (FIRM); Department of Agriculture Food and the Marine (DAFM)*, 2017.
- Magistrali, C., et al. «Contamination of *Salmonella* spp. in a pig finishing herd, from the arrival of the animals to the slaughterhouse.» *RVS*, 2007.
- Mainar Jaime, Raül C., e Alejandro Casanova Higes. Vaccinazione contro la *Salmonella* nei suini, cosa possiamo aspettarci? 8 Febbraio 2019. <http://www.3tre3.it>.

- Mancin, Marzia, et al. «*Salmonella* serovar distribution from non-human sources in Italy; results from the IT-Enter-Vet network.» *Veterinary Record*, 2018.
- Mann, J. E., L. Smith, e M. M. Brashears. «Validation of Time and Temperature Values as Critical Limits for *Salmonella* and Background Flora Growth during the Production of Fresh Ground and Boneless Pork Products.» *Journal of Food Protection*, 2004.
- Mannion, C., P. B. Lynch, J. Egan, e F. C. Leonard. «Efficacy of cleaning and disinfection on pig farms in Ireland.» *Veterinary Record*, 2015.
- Martelli, Francesca, et al. «Evaluation of an enhanced cleaning and disinfection protocol in *Salmonella* contaminated pig holdings in the United Kingdom.» *PLoS One*, 2017.
- Martín-Peláez, Sandra, et al. «Different feed withdrawal times before slaughter influence caecal fermentation and faecal *Salmonella* shedding in pigs.» *The Veterinary Journal*, 2009.
- Massacci, Francesca Romana, et al. «Transport to the Slaughterhouse Affects the *Salmonella* Shedding and Modifies the Fecal Microbiota of Finishing Pigs.» *MDPI*, 2020.
- McGlone, J. J., J. L. Salak, E. A. Lumpkin, R. I. Nicholson, M. Gibson, e R. L. Norman. «Shipping Stress and Social Status Effects on Pig Performance, Plasma Cortisol, Natural Killer Cell Activity, and Leukocyte Numbers.» *J. Anim. Sci*, 1993.
- Merle, Roswitha, Sarah Kösters, Thomas May, Uwe Ports, Thomas Blaha, e Lothar Kreienbrock. «Serological *Salmonella* monitoring in German pig herds: Results of the years 2003–2008.» *Preventive Veterinary Medicine*, 2011.
- O'Connor, A.M., T. Denagamage, J.M. Sargeant, A. Rajic, e J. McKean. «Feeding management practices and feed characteristics associated with *Salmonella* prevalence in live and slaughtered market-weight finisher swine: A systematic review and summation of evidence from 1950 to 2005.» *Preventive Veterinary Medicine*, 2008.
- Patchanee, Prapas, Peter B. Bahnson, e Thomas D. Crenshaw. «Chlorate And Disinfectant Modify *Salmonella enterica* Shedding In Weaned Pigs.» *SafePork*, 2005.

- Poljak, Z., C. E. Dewey, R.M. Friendship, S.W. Martin, e J. Christensen. «Multilevel analysis of risk factors for *Salmonella* shedding in Ontario finishing pigs.» *Epidemiol. Infect.*, 2007.
- Quadros, Caroline L. de, et al. «Antimicrobial and Disinfectant Susceptibility of *Salmonella* Serotypes Isolated from Swine Slaughterhouses.» *Current Microbiology*, 2020.
- Rajic, Andrijana, et al. «Farm-level risk factors for the presence of *Salmonella* in 89 Alberta swine-finishing barns.» *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 2006.
- Rajic, Andrijana, et al. «*Salmonella* Infections in Ninety Alberta Swine Finishing Farms: Serological Prevalence, Correlation Between Culture and Serology, and Risk Factors for Infection.» *FOODBORNE PATHOGENS AND DISEASE*, 2007.
- Rajkowski, Kathleen T., Shawn Eblen, e Cheryl Laubauch. «Efficacy of Washing and Sanitizing Trailers Used for Swine Transport in Reduction of *Salmonella* and *Escherichia coli*.» *Journal of Food Protection*, 1997.
- Rasschaert, G., J. Michiels, D. Arijs, C. Wildemauwe, S. De Smet, e M. Heyndrickx. «Effect of Farm Type on Within-Herd *Salmonella* Prevalence, Serovar Distribution, and Antimicrobial Resistance.» *Journal of Food Protection*, 2012.
- Regolamento CE 15 Marzo 2019, n. 627 "che stabilisce modalità pratiche uniformi per l'esecuzione dei controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano in conformità al regolamento (UE) 2017/625 del Parlamento europeo e del Consiglio e che modifica il regolamento (CE) n. 2074/2005 della Commissione per quanto riguarda i controlli ufficiali". (2019).
- Regolamento CE 15 Novembre 2005, n. 2073 "sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari". (2005).
- Regolamento CE 17 Novembre 2003, n. 2160 "sul controllo della salmonella e di altri agenti zoonotici specifici presenti negli alimenti". (2003).
- Regolamento CE 22 Dicembre 2004, n. 1/2005 "sulla protezione degli animali durante il trasporto e le operazioni correlate che modifica le

- direttive 64/432/CEE e 93/119/CE e il regolamento (CE) n. 1255/97". (2005).
- Regolamento CE 24 Dicembre 2009, n. 1099 "relativo alla protezione degli animali durante l'abbattimento". (2009).
- Regolamento CE 29 Aprile 2004, n. 852 "sull'igiene dei prodotti alimentari". (2004).
- Regolamento CE 29 Aprile 2004, n. 853 "che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale". (2004).
- Regolamento CE 5 Dicembre 2007, n. 1441 "che modifica il regolamento (CE) n. 2073/2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari". (2007).
- Regolamento UE 27 Agosto 2015, n. 1474 "relativo all'utilizzo di acqua calda riciclata per eliminare la contaminazione microbiologica superficiale dalle carcasse". (2015).
- Restucci, Brunella. Patologia suina lesioni anatomopatologiche di più frequente riscontro in sede di macellazione. Dipartimento di Patologia e Sanità animale Napoli, 28 Giugno 2016.
- Romagnosa, Anna. Controllo del lavaggio e della disinfezione dei camion per suini: ispezione visiva. 8 Giugno 2020. <http://www.3tre3.it>.
- Rostagno, M.H., S.D. Eicher, e D.C. Lay Jr. «Does pre-slaughter stress affect pork safety risk?» *Journal of Animal Science*, 2011.
- «Salmonellosi.» *Sistema Informativo Servizio Veterinario*. 2005. [http://www.vetinweb.it/cm\\_siv/sites/default/files/SUINI%20-%202005%20SALALMONELLOSI%20SUINI.pdf](http://www.vetinweb.it/cm_siv/sites/default/files/SUINI%20-%202005%20SALALMONELLOSI%20SUINI.pdf).
- Sanchez, J., I.R. Dohoo, J. Christensen, e A. Rajic. «Factors influencing the prevalence of *Salmonella* spp. in swine farms: A meta-analysis approach.» *Preventive Veterinary Medicine*, 2007.
- Scalco, Emanuela. «Valutazione di metodiche classiche e innovative per la ricerca di *Salmonella* spp. in alimenti destinati al consumo umano.» Tesi, 2011.
- Schmidt, Peggy L., Annette M. O'Connor, James D. McKean, e H. Scott Hurd. «The Association between Cleaning and Disinfection of Lairage Pens and the Prevalence of *Salmonella enterica* in Swine at Harvest.» *Journal of Food Protection*, 2004.

- Schut, Corinne H., Abdolvahab Farzan, Russell S. Fraser, Margaret H. Ainslie-Garcia, Robert M. Friendship, e Brandon N. Lillie. «Identification of single-nucleotide variants associated with susceptibility to *Salmonella* in pigs using a genome-wide association approach.» *BMC Veterinary Research*, 2020.
- Schütte, A., A. Mergens, S. Pott, e S. Venthien. «Effect of different kinds of showering in lairage on physiological and meat quality parameters, taking climate circumstances into account.» *Landbauforschung Völkenrode Sonderheft*, 1996.
- Simons, R. R. L., A. A. Hill, A. Swart, L. Kelly, e E. L. Snary. «A Transport and Lairage Model for *Salmonella* Transmission Between Pigs Applicable to EU Member States.» *Risk Analysis*, 2016.
- Small, A., et al. «Presence of *Salmonella* in the Red Meat Abattoir Lairage after Routine Cleansing and Disinfection and on Carcasses.» *Journal of Food Protection*, 2006.
- Sørensen, L L, L Alban, B Nielsen, e J Dahl. «The correlation between *Salmonella* serology and isolation of *Salmonella* in Danish pigs at slaughter.» *Veterinary Microbiology*, 2004.
- Swanenburg, M., P.J. van der Wolf, H.A.P. Urlings, J.M.A. Snijders, e F. van Knapen. «*Salmonella* in slaughter pigs: the effect of logistic slaughter procedures of pigs on the prevalence of *Salmonella* in pork.» *International Journal of Food Microbiology*, 2001.
- Tankeshwar, Acharya. «*Salmonella*: Properties, Disease, Lab Diagnosis.» *microbeonline*. 2021.
- Verbrugge, Elin, et al. «Stress induced *Salmonella* Typhimurium recrudescence in pigs coincides with cortisol induced increased intracellular proliferation in macrophages.» *Veterinary Research*, 2011.
- Villani, Francesco. Batteri patogeni trasmessi con gli alimenti: *Salmonella* spp. *Shigella* spp. *Yersinia enterocolitica*. 2008. <http://www.federica.unina.it>.
- Wall, Samantha K., Jiayi Zhang, Marcos H. Rostagno, e Paul D. Ebner. «Phage Therapy To Reduce Preprocessing *Salmonella* Infections in

- Market-Weight Swine.» *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 2009.
- Wang, Yu-Chih, et al. «Transmission of *Salmonella* between Swine Farms by the Housefly (*Musca domestica*).» *Journal of Food Protection*, 2011.
- Wilhelm, Barbara J., Ian Young, Sarah Cahill, Patricia Desmarchelier, Rei Nakagawa, e Andrijana Rajic. «Interventions to reduce non-typhoidal *Salmonella* in pigs during transport to slaughter and lairage: Systematic review, meta-analysis, and research synthesis based infection models in support of assessment of effectiveness.» *Preventive Veterinary Medicine*, 2017.
- Wilkins, Wendy, et al. «Distribution of *Salmonella* serovars in breeding, nursery, and grow-to-finish pigs, and risk factors for shedding in ten farrow-to-finish swine farms in Alberta and Saskatchewan.» *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 2009.
- Yin, Yuebang, e Daoguo Zhou. «Organoid and Enteroid Modeling of *Salmonella* infection.» *frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 4 aprile 2018. doi: 10.3389/fcimb.2018.00102.
- Zavanella, Maurizio. «Tipizzare le salmonelle.» Brescia: a cura della fondazione iniziative zooprofilattiche e zootecniche, 2001.
- Zewde, Bayleyegn Molla, Rebecca Robbins, Melanie J. Abley, Brandon House, W. E. Morgan Morrow, e Wondwossen A. Gebreyes. «Comparison of Swiffer Wipes and Conventional Drag Swab Methods for the Recovery of *Salmonella* in Swine Production Systems.» *Journal of Food Protection*, 2008.