

Investigations into the cleanliness of establishments performing processing of buffalo milk in the province of Caserta: *Brucella* spp. in dairy products

*Rossella Vastante¹, Stefania Genovese¹, Salvatore Cangiano¹,
Tecnici della Prevenzione nell'Ambiente e nei Luoghi di Lavoro
Francesca Garofalo²
Veterinario*

KEY WORDS:

Brucella, buffalo, dairy products

SUMMARY :

Brucellosis is an infectious disease caused by bacterial species of the genus *Brucella*. Transmission to humans occurs through contact with animals, animal tissue contaminated with organisms or through ingestion of contaminated products.

This paper describes the results of a survey on the prevalence of *Brucella* spp. conducted within local performing processing buffalo milk and sale of dairy products, in the province of Caserta, implemented by examining samples of dairy products . The search for *Brucella* spp. was conducted by qualitative method , following the protocol laid by OIE Territorial Manual 2009 cap. 2.4.3.

Of a total of 255 samples taken have been isolated no jamb of *Brucella* spp. in the year 2011, and of a total of 94 samples taken have been isoleted no jamb of *Brucella* spp. in the year 2012 .

These promising results have resulted from the reduction of certain risk factors linked to the phases of the supply chain that amplify infection with *Brucella*. These results were obtained using good hygiene practices and empowerment OSA through.

¹ Università degli Studi di Napoli "Federico II", Facoltà di Medicina e Chirurgia, Corso di Laurea Magistrale in Scienze delle Professioni Sanitarie della Prevenzione

² Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Sezione di Caserta, U.O. Microbiologia degli Alimenti

Indagini sulle condizioni igieniche degli stabilimenti che effettuano attività di trasformazione di latte di bufala in provincia di Caserta: ricerca di *Brucella spp.* in prodotti lattiero-caseari

*Rossella Vastante³, Stefania Genovese¹, Salvatore Cangiano¹,
Tecnici della Prevenzione nell'Ambiente e nei Luoghi di Lavoro
Francesca Garofalo⁴
Veterinario*

PAROLE CHIAVE:

Brucella, bufala, prodotti lattiero - caseari

RIASSUNTO:

La Brucellosi è una malattia infettiva causata da alcune specie batteriche del genere *Brucella*. La trasmissione all' uomo avviene attraverso il contatto con gli animali, i tessuti animali contaminati da organismi o tramite ingestione di prodotti contaminati.

Il presente lavoro descrive i risultati di un' indagine sulla diffusione di *Brucella spp.* condotta all'interno di locali che effettuano attività di trasformazione di latte di bufala e vendita di prodotti lattiero caseari, della provincia di Caserta, attuata esaminando campioni di prodotti lattiero caseari. La ricerca di *Brucella spp.* è stata effettuata con metodo qualitativo, seguendo il protocollo previsto dall' OIE Territorial Manual 2009 cap. 2.4.3. Su un totale di 255 campioni effettuati non è stato isolato nessuno stipo di *Brucella spp.* nell' anno 2011, così come su un totale di 94 campioni non si è riscontrata nessuna positività relativa a *Brucella spp.* nell'anno 2012.

Questi confortanti risultati sono scaturiti dal contenimento di alcuni fattori di rischio legati alle fasi della filiera che amplificano la contaminazione da *Brucella*. Ciò si è

³ Università degli Studi di Napoli "Federico II", Facoltà di Medicina e Chirurgia, Corso di Laurea Magistrale in Scienze delle Professioni Sanitarie della Prevenzione

⁴ Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, Sezione di Caserta, U.O. Microbiologia degli Alimenti

ottenuto adoperando corrette prassi igieniche, ed attraverso la responsabilizzazione dell'OSA.

INTRODUZIONE:

La Brucellosi è una malattia infettiva causata da alcune specie batteriche del genere *Brucella*. Quattro sono le specie note di *Brucella* che possono causare malattia umana e ciascuna di queste ha uno specifico serbatoio animale: *B. abortus* nei bovini, *B. canis* nei cani, *B. melitensis* nei caprini e negli ovini e *B. suis* nei suini. La trasmissione avviene attraverso il contatto con gli animali, i tessuti animali contaminati da organismi o tramite ingestione di prodotti contaminati.

Negli esseri umani, la brucellosi è caratterizzata da sintomi simil - influenzali, come febbre, mal di testa e debolezza di durata variabile. Tuttavia, gravi infezioni del sistema nervoso centrale possono comportare endocardite. La brucellosi può anche provocare a lunga durata, o cronica, sintomi che includono dolori articolari e stanchezza. Delle quattro specie note per causare malattie negli esseri umani, *B. melitensis* è la più virulenta e comporta la malattia più grave.

Negli animali, gli organismi sono localizzati negli organi riproduttivi, causando sterilità e aborti, e sono sparsi in gran numero nelle urine, nel latte e nel placentare dell'animale fluido.

In molte aziende, latte, formaggi e latticini , non vengono testati, per rilevare la presenza di *Brucella*. La matrice dove più frequentemente si riscontra la presenza di *Brucella* è il latte crudo.

Per ottenere una riduzione dell'incidenza di infezioni da *Brucella* sono stati implementati i sistemi di sorveglianza sull'igiene dei prodotti di origine animale,

TECNICI DELLA PREVENZIONE NELL'AMBIENTE E NEI LUOGHI DI LAVORO

attuati in ottemperanza ai Regolamenti comunitari, in particolare sottoponendo anche gli stabilimenti di trasformazione a regolari controlli per questo patogeno.

Scopo del presente lavoro è quello di valutare le condizioni igieniche in cui vertono alcuni stabilimenti che effettuano trasformazione di latte di bufala, presenti in provincia di Caserta, e verificare se esiste o meno una contaminazione da *Brucella* nei prodotti lattiero caseari.

MATERIALI E METODI:

In osservanza del Reg. CE 2073/2005 e s. m. i. è stato attuato un piano di monitoraggio dai Servizi Veterinari delle A. A. S. S. L. L. con le loro strutture territoriali, sulla presenza di *Brucella* in prodotti lattiero caseari.

I campioni prelevati esclusivamente presso stabilimenti di trasformazione di latte di bufala, per la produzione e vendita di prodotti lattiero caseari, sono stati effettuati mediante le modalità previste dal Reg. CE 2073/05.

Il laboratorio di riferimento è quello dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, con il quale le A. A. S. S. L. L. hanno concordato l'esecuzione del Piano prima di avviare i campionamenti. Le indagini si sono svolte in diversi stabilimenti localizzati in provincia di Caserta.

Il campionamento è stato effettuato prelevando i prodotti lattiero caseari in contenitori sterili refrigerati prontamente ed inviati, entro 24 h, mantenendoli a temperatura di refrigerazione, ai laboratori dell' IZSM – Sezione di Caserta - Laboratorio Microbiologia degli Alimenti.

Trattasi di un totale di 255 campioni nell'anno 2011 e di 94 campioni nel 2012.

Le analisi sono state condotte in base alla procedura OIE Territorial Manual 2009 cap. 2.4.3. (ricerca *Brucella spp.*). Nella prima fase, quella di preparazione del

TECNICI DELLA PREVENZIONE NELL'AMBIENTE E NEI LUOGHI DI LAVORO

campione si è provveduto ad aggiungere 25 gr o ml del campione a 225 ml di PBS sterile, avendo cura di prelevare sia dalla superficie che dal cuore del prodotto, ed omogeneizzare in stomacher per 1 - 3 minuti fino a completa dispersione.

Nella seconda fase, ovvero semina del campione, si è proceduto a seminare in doppio 0,1 ml di omogeneizzato su Agar Brucella e 1 ml di omogeneizzato in 9 ml di Brucella Broth.

Nella terza fase, vale a dire l'incubazione, sono state incubate piastre a brodo a $37^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$ in atmosfera arricchita con il 5 - 10 % di CO_2 . Le piastre sono state tenute in incubazione per 7 giorni, mentre le brodoculture per 6 settimane.

Per quanto riguarda le subculture, da ciascuna brodocultura si sono eseguite subculture settimanali, seminando una piastra di Agar Brucella e ponendola in incubazione a $37^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$ in atmosfera arricchita con il 5 - 10 % di CO_2 insieme alla brodocultura primaria.

Nella quarta fase si sono dapprima controllate le piastre dalla 24[°] ora di incubazione, quotidianamente per 7 giorni; soltanto dopo c'è stata la fase di lettura.

Non si sono riscontrate, in questa fase, colonie sospette, pertanto non è stato necessario effettuare altre prove.

RISULTATI:

Nell'anno 2011, negli stabilimenti nei quali è stata compiuta l'indagine, su un totale di 255 campioni di prodotti lattiero caseari non è stata riscontrata nessuna positività.

Nell'anno 2012 sempre nei medesimi stabilimenti è stata effettuata nuovamente l'indagine e si è riscontrata la totale assenza di Brucella su un totale di 94 campioni prelevati.

DISCUSSIONE:

TECNICI DELLA PREVENZIONE NELL'AMBIENTE E NEI LUOGHI DI LAVORO

Dal report annuale dell' EFSA 2004 è emerso che, nei paesi dell'UE, diverse province d'Italia, regione Azzorre del Portogallo e Gran Bretagna hanno rilevato la presenza di *Brucella spp.* Nel corso del 2004, la Brucellosi bovina non è stata rilevata nelle nove aziende ufficialmente indenni in Norvegia, ma solo nella regione della Gran Bretagna, dove è stato rilevato un allevamento infetto.

Nei 16 Stati membri in aziende ufficialmente indenni, gli allevamenti bovini sono stati controllati nel corso del 2004. La brucellosi è stata rilevata in otto di questi Stati membri. In Italia è stata effettuata un' indagine negli allevamenti in 22 province. In nove province la Brucellosi bovina non è stata rilevata, in una provincia 11 allevamenti sono risultati positivi nei test di routine, ma tutti gli allevamenti erano ufficialmente indenni alla fine dell'anno. In totale, 0,51% degli allevamenti testati tra le aziende non ufficialmente indenni hanno rilevato la presenza di Brucellosi bovina nel 2004 (5.551 positive di 1,083,250 mandrie).

Le mandrie non sono risultate positive durante l'anno in aziende non ufficialmente indenni in Estonia, Francia, Ungheria, Lettonia, Malta, Slovacchia e Slovenia.

La Lituania non ha fornito informazioni sui test. Di questi, sette nuovi Stati membri non hanno aziende ufficialmente indenni e seguono gli standard dell' OIE e non la normativa UE.

Complessivamente, nel 2004, solo lo 0,01% degli allevamenti testati (19 su 341,133 mandrie) sono risultati contaminati da Brucellosi bovina. Tali allevamenti sono stati rilevati a Cipro ed in Polonia.

La percentuale degli allevamenti risultati positivi per la Brucellosi è diminuita nel 2004 rispetto al 2003 in Irlanda del Nord, ma leggermente aumentata o rimasta allo stesso livello in Spagna, Grecia, Irlanda, Italia e Portogallo. Tuttavia, la percentuale di allevamenti infetti a fine esercizio è diminuita in modo chiaro in Portogallo, e leggermente in Irlanda e Grecia.

TECNICI DELLA PREVENZIONE NELL'AMBIENTE E NEI LUOGHI DI LAVORO

Ove necessario sono stati implementati programmi per il controllo ed infine, eradicazione della Brucellosi bovina nel paese. In Grecia, Italia e Spagna la vaccinazione è stata implementata in zone ad alto rischio.

Tale diminuzione è da attribuire sia all'implementazione di programmi di controllo sugli allevamenti, sia alla diffusione delle buone pratiche di igiene a livello degli stabilimenti di trasformazione: la manipolazione sicura di prodotti lattiero caseari, la pastorizzazione ed un'attenta cura dell'igiene possono prevenire o ridurre il rischio derivante da cibi contaminati.

Il Reg. CE 2073/2005 e s. m. i. in particolare pone l'accento sui controlli da effettuare presso gli impianti di trasformazione nei relativi stabilimenti, sia per quanto riguarda i parametri relativi ai microrganismi indicatori di igiene che per la presenza di patogeni quali la Brucella.

Risulta obbligo dell'OSA monitorare l'andamento delle condizioni igienico-sanitarie, come stabilito dal Reg. CE 852/2004 e dal Reg. CE 853/2004.

CONCLUSIONI:

A conclusione del lavoro si può affermare che non sono state osservate contaminazioni da Brucella nella fase di trasformazione, negli stabilimenti della provincia di Caserta dove sono state effettuate le indagini.

L'assenza di positività nei suddetti stabilimenti è decisamente confortante se ci si riferisce a quanto riportato dall' EFSA nel report del 2004, ed ai dati riscontrati su tutto il territorio nazionale nel medesimo anno.

Va evidenziato che si tratta di dati ancora preliminari, in quanto limitati solo ad alcuni stabilimenti, ma il numero cospicuo di campioni effettuati consente comunque di affermare che sostanzialmente si rilevano valori ridotti di presenza di *Brucella spp.* negli stabilimenti della provincia di Caserta.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE:

- EFSA's First Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Antimicrobial resistance in the European Union in 2004 – Brucella);
- Regolamento CE 852/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio sull'igiene dei prodotti alimentari e Regolamento (CE) n. 853/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio sulle norme specifiche relative ai prodotti alimentari di origine animale;
- Regolamento CE n. 2073/ 2005 della Commissione delle Comunità europee sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari;
- OIE Territorial Manual 2009 cap. 2.4.3.

SITOGRAFIA:

- www.epicentro.iss.it/problemi/salmonella/epid.asp
- www.Efsa.Europa.Eu/it7topics/topic/salmonella.htm