

VALUTAZIONI PRELIMINARI SULLA PREVALENZA DI TOXOPLASMA GONDII IN SUINI ALLEVATI E MACELLATI IN UMBRIA

PRELIMINARY EVALUATION ON THE PREVALENCE OF TOXOPLASMA GONDII IN PIG REARED AND SALUGHTERED IN UMBRIA REGION

Ranucci D.¹, Veronesi F.², Branciarri R.¹, Miraglia D.¹, Piergili Fioretti D.²

¹ Sezione di Ispezione degli Alimenti di Origine Animale

² Sezione di Parassitologia Dipartimento di Scienze Biopatologiche ed Igiene delle Produzioni Animali e Alimentari Università degli Studi di Perugia

SUMMARY

Toxoplasmosis is a common disease of warm-blooded animals including man that can be transmitted by meat containing tissue cysts. Recent findings lead to the conclusion that human toxoplasmosis has health sequelae also in the general public, in addition to congenital infections or immunosuppressive conditions. A risk based approach is therefore necessary to reduce the possibility of *Toxoplasma gondii* cysts in food. Due to the difficulty of revealing the infection in meats at slaughterhouse level, a reduction of the infection in the pre-harvest phase can be recommended. Few data are available on the real prevalence of the infection in Italian pig herds. A preliminary investigation on the seroprevalence in pigs reared and slaughtered in Umbria is reported. Blood samples of 288 animals were collected in three different slaughterhouses and were representative of about 17% of the pigs reared in the Umbria Region. A seroprevalence of 14.58% was detected.

Key words

Toxoplasma gondii, pigs, seroprevalence, zoonosis.

INTRODUZIONE

Toxoplasma gondii è da considerare tra i più importanti agenti protozoari responsabili di zoonosi trasmissibili attraverso gli alimenti di origine animale. La toxoplasmosi umana è infatti ritenuta la zoonosi parassitaria più diffusa al mondo (1) e terza causa di morte tra le malattie alimentari negli Stati Uniti (2). Nonostante sia da tempo considerata esclusivamente un'infezione opportunistica in soggetti immunocompromessi o congenita, recenti studi hanno dimostrato il ruolo di *Toxoplasma gondii* come responsabile di differenti stati morbosi anche in soggetti senza condizioni di immunosoppressione (3). Questo aspetto rende importante considerare tutte le strategie che possono essere messe in campo, oltre alla comunicazione del rischio, per tutelare la salute del consumatore intervenendo a livello della filiera alimentare.

In considerazione dell'impossibilità da parte del veterinario ispettore di rilevare tempestivamente l'infezione a livello di mattatoio (4) e di quanto stabilito nel Regolamento 2004/852/CE (5) circa i compiti dell'operatore del settore alimentare, un ruolo fondamentale nella lotta a tale zoonosi dovrà sicuramente essere svolto a livello di produzione primaria, in particolare nell'allevamento suino. La carne suina è infatti considerata tra le principali fonti di infezione umana (6).

A tutt'oggi i dati sulla prevalenza di *Toxoplasma gondii*, non solo negli animali ma anche nell'uomo, sono considerati inconsistenti (1), nonostante l'obbligo previsto dalla Direttiva 2003/99/CE per tutti gli Stati Membri di registrare informazioni su qualsiasi agente zoonotico (7). Anche i dati bibliografici relativi alla sieroprevalenza negli allevamenti suini in Italia sono scarsi o datati (8, 9, 10). L'assenza di dati aggiornati, che spesso non considera gli inter-

venti strutturali e igienici apportati all'allevamento suino, rende quindi difficile poter effettuare una corretta analisi del rischio per *Toxoplasma gondii* nella filiera suina.

Scopo di tale lavoro è stato quello di fornire dati preliminari sulla sieroprevalenza di *Toxoplasma gondii* in suini allevati e macellati in Umbria.

MATERIALI E METODI

La sperimentazione è stata condotta nei mesi compresi tra dicembre 2007 e febbraio 2008 in tre differenti mattatoi in Provincia di Perugia, dediti alla macellazione di suini provenienti da allevamenti locali. Non avendo informazioni aggiornate sulla sieroprevalenza per *Toxoplasma gondii* in Umbria, nella scelta del numero di campioni da effettuare è stata considerata una prevalenza stimata del 50% con una precisione assoluta del 10% e limite di confidenza del 95%, per un totale di 96 campioni per mattatoio. Durante la iugulazione, sono stati quindi prelevati in maniera casuale 288 campioni di sangue da suini pesanti (160-180 kg) che da un'analisi retrospettiva sono risultati appartenere a 7 differenti allevamenti. La popolazione di detti allevamenti è risultata essere nel complesso di circa 42.000 suini. Considerando gli ultimi dati del censimento ISTAT (11), che indicano un patrimonio suino in Umbria di circa 250.000 capi (di cui il 90% a livello della Provincia di Perugia), i suini sottoposti a prelievo rappresentano statisticamente il 17% dei suini della Regione Umbria.

Tutti i sieri raccolti sono stati testati tramite reazione di Immunofluorescenza Indiretta (IFI), per la ricerca di anticorpi di classe IgG specifici nei confronti di *Toxoplasma gondii*, utilizzando come antigene tachizoiti coltivati su Cellule Vero fissati su vetrini multispot (MegaScreen Fluotoxoplasma, MegaCor Diagnostik, Lochoustr, Austria) e come coniugato IgG di coniglio anti-suino (Sigma Immunochemicals, St Luis, MO, USA) legate ad isotiocianato di fluoresceina diluite 1/40. I sieri, saggiati alla diluizione 1/18 (cut off), sono stati posti a contatto con l'antigene a 37°C in camera umida per 30 minuti, dopo lavaggio è stata aggiunta l'antiglobulina specifica coniugata, e dopo ulteriore incubazione a 37°C i vetrini sono stati lavati e montati con glicerina tamponata ed osservati con microscopio a fluorescenza (Olympus U-RLF-T). I sieri positivi conferivano una fluorescenza estesa all'intera parete parassitaria. La scelta della metodica è stata dettata dal fatto che l'IFI è considerata il "gold standard" per la determinazione della sieroprevalenza nel suino (12).

RISULTATI

Il numero di campioni positivi per *Toxoplasma gondii* nei tre stabilimenti di macellazione considerati è riportato nella Tabella 1. La prevalenza media riscontrata è risultata pari al 14,58%. Nessuno degli allevamenti di origine è risultato esente da *Toxoplasma*.

Tabella 1. Sieroprevalenza riscontrata nei 3 stabilimenti di macellazione

	N° soggetti positivi/totali	Prevalenza (%)
Mattatoio A	15/96	15,63
Mattatoio B	17/96	17,70
Mattatoio C	10/96	10,41

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

I dati preliminari relativi alla sieroprevalenza di *Toxoplasma gondii* riportati nel presente lavoro sono sovrapponibili a quelli rilevati recentemente in suini della stessa età macellati in Sicilia (10). Anche in tale lavoro la prevalenza stimata è stata considerata elevata rispetto a quanto evidenziato in allevamenti intensivi europei (13, 14). In Nord Europa infatti, a fronte di una elevata sieroprevalenza riscontrata in passato, i dati più recenti dimostrano un calo sensibile delle positività sierologiche verso *Toxoplasma gondii*, concomitante al miglioramento delle condizioni strutturali e manageriali dell'allevamento suino. Paesi con elevato numero di allevamenti suini come Olanda e Germania hanno ridotto negli ultimi anni la prevalenza a valori prossimi a zero (13). Bassi valori sono stati evidenziati anche in Austria ed in Canada (13, 15). In altre nazioni europee la sieroprevalenza è decisamente più elevata rispetto a quanto da noi riscontrato (Polonia - 34%, Serbia - 28,9%) (16, 17). Negli Stati Uniti sono state evidenziate prevalenze molto variabili, da 1 a 69%, con alcuni allevamenti esenti da *Toxoplasma* (18).

Per una stima reale della prevalenza va comunque specificato che nel presente lavoro gli animali soggetti a prelievo provenivano tutti da allevamenti intensivi, che generalmente hanno un numero di positività inferiore rispetto ad allevamenti di altro tipo (14,19). Questo fa ipotizzare che la reale prevalenza potrebbe essere sottostimata, in considerazione della presenza nella Regione Umbria anche di realtà

in cui gli animali vengono allevati all'aperto, con metodo biologico o in allevamenti di tipo "domestico".

Altro dato interessante che emerge dalla comparazione con dati precedenti è che la sieroprevalenza di *Toxoplasma gondii* negli allevamenti umbri sembra stazionaria, in quanto sovrapponibile a quella rilevata agli inizi degli anni 70 (18,3%) (8). Nonostante i fattori di rischio implicati nella diffusione del parassita nell'allevamento suino siano da tempo oggetto di studio (18), il dato da noi riscontrato potrebbe indicare che non siano stati fatti efficaci progressi nella gestione di tali fattori. La presenza di *Toxoplasma gondii* nella produzione primaria sembra ricevere poca considerazione, come conferma la scarsità di dati soprattutto per quelle regioni italiane con alta densità produttiva.

Per il momento le uniche strategie volte a ridurre il rischio di toxoplasmosi umana sono quindi quelle relative alla comunicazione del rischio ad alcune categorie specifiche come donne in gravidanza e immunocompromessi. In un'ottica di analisi del rischio è comunque necessario ricordare sia che *Toxoplasma gondii* può essere presente nelle carni suine, sia che alcune preparazioni di carne possono, per abitudine o tradizione, essere consumate crude o poco cotte. Inoltre le recenti tecniche di isolamento ed identificazione del protozoo hanno permesso una più attenta valutazione della capacità del parassita di sopravvivere ai diversi ostacoli tecnologici. Da ciò è emersa la possibilità, rigettata da alcuni autori (20), che anche i prodotti a base di carne di suino stagionati possano contenere cisti di *Toxoplasma* vive e vitali (21). Sulla base di tali considerazioni l'attenzione della problematica deve essere rivolta alla produzione primaria mediante studi mirati a valutare la presenza e la gestione, da parte degli allevatori, dei fattori di rischio nelle singole realtà.

D'altronde l'esperienza di altri Paesi dimostra come l'intervento in allevamento possa ridurre la presenza del protozoo, con risvolti positivi su tutta la filiera produttiva.

Il controllo dell'applicazione di corrette prassi volte a migliorare il livello igienico nella produzione primaria potrà riconoscere nel mattatoio uno dei punti di monitoraggio principali per *Toxoplasma gondii* in quanto, a questo livello, risulta agevole effettuare il prelievo di campioni ematici su un numero elevato di soggetti provenienti da differenti allevamenti.

In considerazione della tendenza del consumatore verso prodotti a base di carne sempre meno salati e delle esigenze di mercato che impongono tempi di stagionatura sempre più brevi, al fine di una significativa riduzione del rischio, l'intervento in al-

levamento resta sicuramente l'approccio più efficace, anche in relazione alla reale possibilità di toxoplasmosi in soggetti che non presentano problemi immunitari o non definibili tra le categorie a rischio.

RINGRAZIAMENTI

Gli autori ringraziano la Dottoressa Maribelli Carla ed i Dottori Properzi Stefano e Bianchi Roberto grazie ai quali è stato possibile realizzare questo studio.

BIBLIOGRAFIA

- 1) European Food Safety Authority (2007). Surveillance and monitoring of *Toxoplasma* in humans, food and animals. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards (Question No EFSA-Q-2007-038). *The EFSA Journal*, 583, 1-64.
- 2) Jones, J.L., Lopez, A., Wilson, M., Schulkin, J., Gibbs, R. (2001). Congenital toxoplasmosis: a review. *Obstet. Gynecol., Surv.* 56, 296-305.
- 3) Mac Allister, M.M. (2005). A decade of discoveries in veterinary protozoology changes our concept of "subclinical" toxoplasmosis. *Veterinary Parasitology*, 132, 241-247.
- 4) Gable, H.R. (1997). Parasite associated with pork and pork products. *Scientific and Technical reviews of the Office International des Epizooties*, 16 (2), 496-506.
- Regolamento 2004/852/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 24 aprile 2004, sull'igiene dei prodotti alimentari. *Gazzetta ufficiale* L 139 del 30 aprile 2004.
- 5) Cook, A.J.C., Gilbert, R.E., Buffolano, W., Zufferey, J., Petersen, E., Jennum, P.A., Foulon, W., Semprini, A.E., Dunn, D.T. (2000). Sources of toxoplasma infection in pregnant woman: European multicentre case-control study. *British Medical Journal*, 321,142-147.
- 6) Direttiva 2003/99/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 17 novembre 2003, sulle misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici, recante modifica della decisione 90/424/CEE del Consiglio e che abroga la direttiva 92/117/CEE del Consiglio. *Gazzetta ufficiale* L 325 del 12 dicembre 2003.
- 7) Baldelli B. (1974). Recenti osservazioni e ricerche sulla Toxoplasmosi animale. *Giornale di Malattie Infettive e Parassitarie*, 7(26), 849-856.
- 8) Genchi, G., Polidori, G.A., Zaghini, L. Lanfranchi, P. (1991). Aspetti epidemiologici della toxoplasmosi nell'allevamento intensivo del suino. *Archivio Veterinario Italiano*, 42:105-111.
- 9) Vesco G., Villari S. (2006). Sieroprevalenza di *Toxoplasma gondii* in suini macellati in Sicilia. *Atti LX S.I.S. Vet.*, 111-112
- 10) ISTAT (2000). 5° Censimento generale dell'agricoltura, Umbria. <http://censagr.istat.it/umbria.pdf>

- 11) Garcia, J.L., Navarro, I.T., Vidotto, O., Gennari, S.M., Machado, R.Z., da Luiz Pereira, A.B., Sinhorini, I.L. (2006). *Toxoplasma gondii*: comparison of a rhoptry-ELISA with IFAT and MAT for antibody detection in sera of experimentally infected pigs. *Experimental Parasitology*, 113 (2), 100-105.
- 12) Tenter, A.M., Heckeroth, A.R., Weiss L.M. (2000). *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology*, 30, 1217-1258.
- 13) Kijlstra, A., Eissen, O.A., Cornelissen, J., Munniksma, K., Eijck, I., Kortbeek, T. (2004). *Toxoplasma gondii* infection in animal-friendly pig production system. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 9 (45), 3165-3169.
- 14) Smith, H.J. (1991). Seroprevalence of anti-Toxoplasma IgG in Canadian swine. *Canadian Journal of Veterinary research*, 55, 380-381.
- 15) Bartoszeze, M., Krupa, K., Roszkowski, J. (1991). ELISA for assessing *Toxoplasma gondii* antigens in pigs. *Journal Veterinary Medicine B*, 38, 263-264
- 16) Klun, I., Djurkovic-Djackovic, O., Katic-Radivoyevic, S., Nikolic, S. (2006). Cross-sectional survey on *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep and pigs in Serbia: Seroprevalence and risk factors. *Veterinary Parasitology*, 136, 121-131.
- 17) Gamble, H.R., Brady, R.C., Dubey, J.P. (1999). Prevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic pigs in the New England States. *Veterinary Parasitology*, 82, 129-136.
- 18) Venturini, M.C., Bacigalupe, D., Venturini, L., Rambeaud, M., basso, W., Unzaga, J.M., Perfumo, C.J. (2004). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in sows from slaughterhouses and in pigs from an indoor and outdoor farm in Argentina. *Veterinary Parasitology*, 124, 161-165.
- 19) Ballarini, G., Martelli, P. (2000). The false myth of toxoplasmosis in salami. *Acta Biomedica Ateneo Parmense*, 71 Suppl 1:529-535.
- 20) Warnekuulasuriya, M.R., Johnson, J.D., Holliman, R.E. (1998). Detection of *Toxoplasma gondii* in cured meats. *International Journal of Food Microbiology*. 45, 211-215.