

# MICROORGANISMI AGENTI DI ZONOSI E INDICATORI DI IGIENE DEL PROCESSO IN CARCASSE OVINE AL MACELLO

## ***FOOD SAFETY AND PROCESS HYGIENE CRITERIONS ON SHEEP CARCASSES***

Mazzette R.<sup>1</sup>, Busia G.<sup>1</sup>, Mazza R.<sup>1</sup>, Mureddu A.<sup>1</sup>, Fois G.<sup>2</sup>, Marrosu R.<sup>2</sup>, Cadeddu F.<sup>3</sup>, Sedda G.<sup>3</sup>, Flumini S.<sup>3</sup>, Uras A.<sup>3</sup>, Melillo R.<sup>1</sup>, Meloni D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sez. Ispezione degli Alimenti di O.A, Dip. Biologia Animale - Università di Sassari;

<sup>2</sup>ASL n. 1, Sassari;

<sup>3</sup>ASL n. 3, Nuoro

### **SUMMARY**

The hygienic status and the presence of some pathogens (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp.) at slaughterhouses was evaluated in different matrix of sheep and lambs (carcass surface, faeces, fleeces and mesenteric lymph nodes) according to the Com. Reg. (EC) No 2073/2005. The 48% of sheep and 68.9% of lamb sampled carcasses resulted allocated into the marginal category for Aerobic colony count, while the 28% and 42.2% respectively were allocated into unacceptable category for *Enterobacteriaceae*. *S.aureus* was isolated more frequently in fleeces (11.5%), carcasses (12.6%) of lambs than sheep. *L. monocytogenes* was found in fleeces and carcass of two sheep and in faeces of four lambs, while *Salmonella* spp. was detected only in sheep carcasses of a single plant.

### **KEYWORDS**

sheep carcasses, microbiological status, slaughtering process, meat hygiene

### **INTRODUZIONE**

Le carni fresche possono veicolare agenti batterici responsabili di malattie alimentari ad elevata incidenza, come *Salmonella* spp., *E. coli* enteropatogeni e *Campylobacter* spp. (1). Tali batteri microrganismi, abituali componenti della flora intestinale degli animali, sono direttamente coinvolti nelle contaminazioni delle carcasse durante le fasi di macellazione, specie nel corso delle operazioni di eviscerazione e scuoiamento (2;3). La normativa comunitaria sui criteri microbiologici (Reg CE 2073/2005) attribuisce notevole importanza alla riduzione della contaminazione fecale lungo la catena alimentare, al fine di contribuire a ridurre i rischi per la salute pubblica.

La contaminazione delle carni in macello può infatti avvenire anche per via indiretta, attraverso il personale, gli impianti e gli strumenti impiegati, oltre che contatto tra le

carcasse contaminate (4).

Le carcasse ovine possono costituire un reservoir ed un veicolo di agenti di zoonosi; sono descritti infatti casi di salmonellosi associati al consumo di carne di agnello (5;6), prevalenze di *Staphylococcus aureus* in tagli di carne fresca ovina pari a 6,2% (7) e anche nel report dell'EFSA agli ovini viene attribuito il ruolo di veicolatori di *Listeria monocytogenes*, anche se raramente sono coinvolti in modo diretto nell'infezioni umane (8).

La macellazione degli ovini è caratterizzata da alcune specificità che condizionano il livello di contaminazione iniziale delle carni, quali la concentrazione e quindi la stagionalità, specie in Sardegna, la presenza di fasi di processo critiche (asportazione del vello) e le tecniche di macellazione (9). Le fasi della macellazione degli ovini in cui è possibile riscontrare un maggiore apporto microbico (Carica Microbica mesofila Totale, Coliformi totali, Salmonella)

risultano lo scuoiamento, nel corso del quale la principale fonte di contaminazione è la lana, l'eviscerazione ed il sezionamento dove svolgono un ruolo fondamentale le attrezzature e le mani degli operatori (10;11;12).

Il controllo di queste fasi risulta fondamentale al fine di ridurre il rischio derivante dalla contaminazione e dallo sviluppo di microrganismi patogeni di elevato impatto epidemiologico (13). Scopo del presente lavoro è stata la valutazione della contaminazione di ovini (pecore ed agnelli) destinati alla macellazione, al fine di individuare la fonte di ingresso in stabilimento di batteri patogeni agenti di zoonosi. E' stato inoltre valutato l'impatto delle modalità di macellazione sulla contaminazione crociata delle carcasse, al fine di migliorare l'efficacia delle misure di controllo nella riduzione del rischio associato al consumo delle carni.

## MATERIALI E METODI

Da febbraio 2009 a febbraio 2010 sono state effettuate 19 sedute di campionamento in tre macelli situati in provincia di Sassari (n.1) ed in provincia di Nuoro (n.2). Sono state incluse nell'indagine complessivamente n.95 carcasse, di pecore adulte (n.50) e di agnelli (n.45).

Da ciascun soggetto sono state prelevate le seguenti matrici:

- sezioni di 20 cm<sup>2</sup> totali di cute della regione della punta del petto e dell'inguine, in corrispondenza della linea alba; i campioni di ogni carcassa sono stati riuniti in un pool;
- superficie della carcassa: dopo scuoiamento e prima della refrigerazione, mediante sponges; il campionamento è stato effettuato su tre siti (petto, addome, coscia), riunite in pool, su una superficie complessiva di circa 300 cm<sup>2</sup>;
- feci, raccolte direttamente dal retto e dal colon;
- linfonodi meseraici.

Sulla superficie delle carcasse sono stati valutati il Conteggio delle Colonie Aerobiche (C.C.A., ISO 4833) e le *Enterobacteriaceae* (ISO 21528-2). Inoltre sono stati ricercati i seguenti patogeni: *Listeria monocytogenes* (carcasse, cute, feci), secondo il metodo qualitativo EN ISO 11290-1:1996 e quantitativo EN ISO 11290-2:1998; *Salmonella* spp. (carcasse, linfonodi, feci) secondo la Norma UNI EN ISO 6579:2004; *Staphylococcus aureus* (carcasse e cute) mediante semina in Baird Parker medium con egg yolk tellurite emulsion (APHA, 2001).

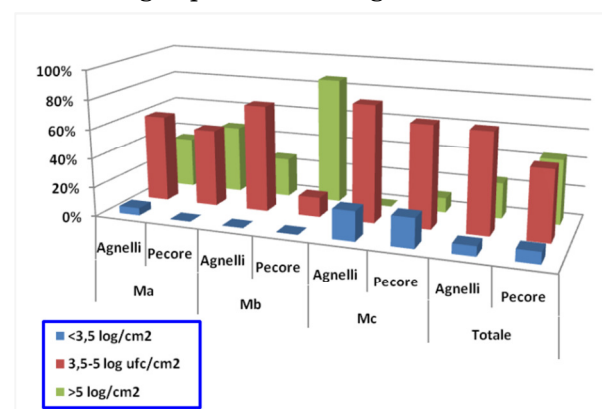
## RISULTATI

I risultati relativi a C.C.A. e alle *Enterobacte-*

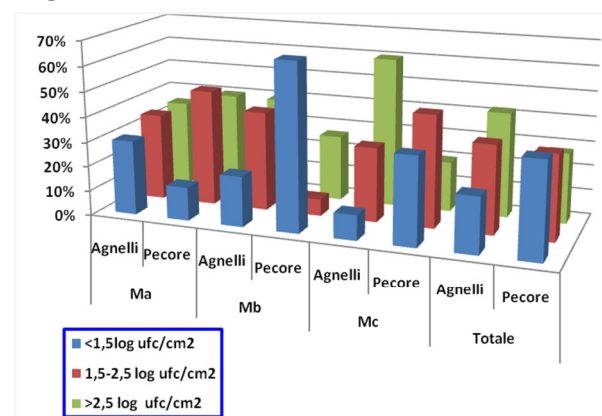
*riaceae* sono stati valutati in riferimento ai criteri definiti per la superficie delle carcasse dal Regolamento (CE) n. 2073/2005 e vengono riportati nel testo, nelle tabelle e nelle figure come log<sub>10</sub> ufc/cm<sup>2</sup>. Le lettere A) e P) fanno riferimento ai campioni provenienti da carcasse rispettivamente di agnelli e pecore.

I valori medi di C.C.A. (Tabella n.1) sono risultati pari a 5,34±0,76 in P) e a 5,04±0,69 in A). In relazione alla distribuzione in classi di frequenza: l'8% (n.4) dei campioni di P) ed il 6,7% (n.3) di A) ricadeva nella classe di *accettabilità* (<3,5); il 48% (n.24) ed il 68,9% (n.31) rispettivamente in quella *marginale* (<3,5–5,0); mentre il 44% (n.22) ed il 24,4% (n.11) sono stati inclusi nella classe di *inaccettabilità* (Figura n.1).

**Figura 1.** Distribuzione in classi di frequenza dei risultati del Conteggio delle Colonie Aerobiche (C.C.A.) in carcasse di agnelli e pecore in relazione al macello e ai criteri microbiologici previsti dal Reg. Ce 2073/2005.



**Figura 2.** Distribuzione in classi di frequenza dei risultati relativi alle *Enterobacteriaceae* in carcasse di agnelli e pecore in relazione al macello e ai criteri microbiologici previsti dal Reg. Ce 2073/2005.



Le carcasse degli agnelli presentavano valori medi (Tabella n.1) delle *Enterobacteriaceae* superiori (2,91±1,00) rispetto alle pecore

(2,59±0,95). In relazione alla distribuzione in classi di frequenza (Figura n.2): il 22,2% (n.10) di A) ed il 38% (n.19) di P) rientrava nell'ambito dei criteri di accettabilità (<1,5); il 35,6% (n.16) ed il 34% n.17) rispettivamente nella serie mar-

ginale (1,5-2,5); il 42,2% (n.19) ed il 28% (n.14) in quella inaccettabile (>2,5). I valori medi più elevati (2,72±0,95) sono stati riscontrati nello stabilimento Ma.

**Tabella 1.** Risultati del Conteggio delle Colonie Aerobiche (C.C.A.) e della ricerca di Enterobacteriaceae e *S. aureus* ( $\log_{10}$  ufc/cm<sup>2</sup>) sulla superficie di carcasse e cute ovine.

Parametro	Matrice	categoria	Macello			Totale
			Ma (A:n.20; P:n.15)	Mb (A:n.15; P:n.15)	Mc (A:n.10; P:n.20)	n. 95
C.C.A.	carcassa	A	4,38±0,23	5,17±0,80	5,31±0,41	5,04±0,69
		P	4,71±0,62	5,54±0,49	5,96±0,48	5,34±0,76
Enterobacteriaceae	carcassa	A	3,25±0,95	2,77±1,21	2,86±0,66	2,91±1,00
		P	2,47±0,83	2,94±0,92	2,40±1,10	2,59±0,95
S. aureus	cute	A	0,95±1,58	0,77±1,24	0,81±1,51	0,82±1,38
		P	0,51±1,25	0,00±0,00	0,20±0,77	0,26±0,91
	carcassa	A	1,03±1,36	0,98±1,27	2,63±1,80	1,54± 1,65
		P	0,58±1,25	0,00±0,00	0,93±1,20	0,51±1,07

A=agnelli; P= pecore

*S. aureus* (Tabella n.1) è stato isolato nel 15,7% dei campioni di cute, con valori medi di 0,82±1,38 nei campioni di agnello (11,5%) e 0,26±0,91 in quelli di pecora (4,2%), Relativamente alle superfici delle carcasse il microrganismo è stato riscontrato nel 17,8% dei campioni, ed in particolare nel 12,6% degli agnelli (media±d.s.: 1,54± 1,65) e nel 5,2% delle pecore (media±d.s.: 0,26±0,91). Nel 11,6% dei casi si è osservata la contemporanea presenza di *S. aureus* nei campioni di cute e sulla superficie della carcassa degli stessi soggetti.

*L. monocytogenes* è stata riscontrata in 2 (2,1%) campioni di due diverse pecore (1 di cute ed 1 di carcassa) e in 4 campioni di feci di agnelli (4,2%) prelevati negli stabilimenti Mb (n.1) ed Mc (n.3).

*Salmonella* spp. è stata isolata solo nello stabilimento Mc, nel 4,2% (n.4) delle carcasse, ed in particolare in pecore, durante due diverse sedute di campionamento.

## CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

I risultati relativi alla ricerca di agenti di zoonosi e di germi potenzialmente patogeni in ovini al macello hanno consentito di evidenziare la presenza sporadica di *L. monocytogenes* sia nelle matrici provenienti dalle pecore, che in quelle di agnelli, nonostante tra questi ultimi siano stati individuati alcuni soggetti eliminatori del patogeno attraverso le feci.

La presenza di *Salmonella* spp. è stata rilevata in carcasse di pecore (4,2%) di un unico stabilimento, nel quale sono state effettuate 6 sedute

di campionamento, per un totale di 30 soggetti. Nonostante il piano dei campionamenti non sia pienamente rispondente a quanto previsto dal Reg. Ce 2073/2005, è evidente la necessità di attuare le azioni correttive previste dallo stesso in caso di risultati insoddisfacenti, tra cui il miglioramento delle condizioni igieniche della macellazione, la revisione dei controlli del processo e dell'origine degli animali. Tutto ciò al fine di limitare le fonti di contaminazione diretta, che possono risultare dall'ingresso del patogeno attraverso gli animali, o indiretta, per la presenza di ceppi divenuti residenti (14;15).

Il riscontro di *S. aureus* è risultato contenuto e in accordo con quanto riscontrato da altri autori (16), che hanno riportato in carcasse ovine una prevalenza del 23,4%, con livelli medi di contaminazione inferiori a 1  $\log_{10}$  ufc/cm<sup>2</sup>.

In relazione agli altri criteri di igiene del processo, i risultati della determinazione del Conteggio delle Colonie aerobiche hanno evidenziato che il 44% delle carcasse di pecore e il 24,4 % degli agnelli ricade nella serie *inaccettabile*. Se si considerano i criteri previsti per le *Enterobacteriaceae* l'impatto delle condizioni di macellazione risulta più evidente sugli agnelli rispetto alle pecore; infatti la prevalenza delle carcasse che presentano valori al di sopra dei criteri di *accettabilità/marginalità* risulta rispettivamente pari all' 42,2 % e al 28%. Ciò può essere connesso alla frequente presenza nei primi di contaminazione fecale, talvolta anche visibile, dovuta a manualità operative condizionate dalla velocità della catena, specie nei periodi della "campagna agnelli". A questo contribuiscono anche le caratteristiche delle feci degli agnelli,

che spesso presentano episodi di diarrea o comunque feci molli che imbrattano più diffusamente il vello e la regione perineale.

I risultati confermano che la contaminazione delle carcasse ovine è principalmente condizionata dalla gestione del processo ed evidenziano la necessità che l'operatore del settore alimentare (OSA) attui adeguate azioni correttive, specie per ridurre l'impatto dell'operazione dell'asportazione del vello, che continua a rivestire un ruolo fondamentale nella contaminazione delle carcasse ovine in macello (9).

## BIBLIOGRAFIA

- Huffman R.D. (2002) - Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat. *Meat Science*, 62, 285-294.
- Blair I. S., MacDowell D. A., and Harrington D. (2000) - The relationship between hide cleanliness and bacterial numbers on beef carcasses at a commercial abattoir. *Letters in Applied Microbiology*, 30, 390-395.
- Nastajjevic I., Mitrovic R., Buncic S. (2008) - Occurrence of *Escherichia coli* O157 on hides of slaughtered cattle. *Letters in Applied Microbiology*, 46, 126-131.
- Elder R.O., Keen J.E., Siragusa, G.R., Barkocy-Gallagher G.A., Koohmaraie M. and Laegreid W.W. (2000) - Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 prevalence in feces, hides, and carcasses of beef cattle during processing. *Proceedings of the National Academies of Sciences*, 97, 2999-3003.
- Zweifel, C., Zychowska, M. A., & Stephan, R. (2004) - Prevalence and characteristics of shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. isolated from slaughtered sheep in Switzerland. *International Journal of Food Microbiology*, 92, 45-53.
- Smerdon, W.J., Adak, G.K., O'Brien, S.J., Gillespie, I.A. and Reacher, M. (2001) - General outbreaks of infectious intestinal disease linked with red meat, England and Wales, 1992-1999. *Communicable Disease and Public Health* 4, 259-267.
- de Boer E., Zwartkruis-Nahuis J.T.M, Wit B., Huijsdens X.W., de Neeling A.J., Bosch T., van Oosterom R.A.A., Vila A., Heuvelink A.E. (2009) - Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. *International Journal of Food Microbiology*, 134 52-56.
- EFSA. (2010) - The Community summary report on trends and sources of zoonoses and zoonotic agents and food-borne outbreaks in the European Union in 2008. *The EFSA Journal* (2010), 1496.
- Mazzette R., De Santis E.P.L., Greco M., Pisanu S., Cosseddu A.M. (2000) - Valutazione al macello della qualità igienico-sanitaria di carcasse di agnelli da latte. *Atti X Cong. AIVI*, 195-200.
- Gill C.O., Baker L.P. (1998) - Assessment of the hygienic performance of a sheep carcass dressing process. *Journal of Food Protection*, 61 (3), 329-333.
- Gill C.O., Baker L.P., Jones T. (1999) - Identification of inadequately cleaned equipment used in a sheep carcass-breaking process. *Journal of Food Protection*, 62 (6), 637-643.
- Vanderlinde P.B., Shay B., Murray J. (1999) - Microbiological status of Australian sheep meat. *Journal of Food Protection*, 62 (4), 380-385.
- Edwards J.R., Fung D.Y.C. (2006) - Prevention and decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 on raw beef carcasses in commercial beef abattoirs. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, 14, 1-95.
- Botteldoorn N., Heyndrickx M., Rijpens N., Grijspeerdt K., Herman L., (2003) - Salmonella on pig carcasses: positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse. *Journal of Applied Microbiology* 95, 891-903.
- Piras F., Mazzette R., Busia G., Melillo R., Meloni D. (2010) - Antibiotic resistance genes and multiple antibiotic resistance in *Salmonella* spp. isolated from slaughtered pigs. *Proceedings of Food Micro International Congress*, accepted *in press*.
- Phillips D., Jordan D., Morris S., Jenson I., Sumner J. (2006) - Microbiological quality of Australian sheep meat in 2004. *Meat Science*, 74, 261-266.