

Il problema del *Campylobacter* nella Sanità Pubblica

R. Mioni, G. Pezzotti, A. Serafin

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD)

Riassunto. Per verificare la reale diffusione dei *Campylobacter* negli animali da carne e nell'uomo, una sperimentazione condotta in due anni nelle Venezie ha messo in luce elevate percentuali di infezione da *C. jejuni* e *C. coli* nei polli (oltre l'80%) e significative nei suini e nei bovini (oltre il 50%). Un discreto numero di focolai umani (177) fa ritenere il problema non trascurabile, vista anche la resistenza dei ceppi isolati ai fluorochinoloni.

Summary. A two-year programme of surveillance was performed to check the diffusion of the *Campylobacter* species in the area around Venice. Farm animals and related meat products showed a high rate of contamination (poultry over 80%, swine and cattle over 50%). A reasonable number of *Campylobacter* outbreaks in human beings (177) leads us to believe that it is a public health problem. Many of the strains isolated were resistant *in vitro* to antibiotics (e.g. fluorquinolons).

Introduzione

Ogni malattia conseguente all'ingestione di un alimento contaminato da un agente infettivo o tossigeno rappresenta un problema di sanità pubblica, che interessa tutti gli strati sociali della popolazione di un paese, con possibili riflessi internazionali conseguenti a spostamenti di persone o commercio di prodotti.

Per dare un'idea dell'entità del problema, è stato calcolato che ogni anno nel mondo avvengono più di 5 miliardi di casi di gastroenterite, in maggior parte provocati da alimenti contaminati da microrganismi, tra cui il *Campylobacter*.

L'enterite da *Campylobacter* fu descritta per la prima volta nel 1977 da Skirrow e da allora una cospicua serie di segnalazioni, riportate già nel secolo scorso, ha trovato una precisa collocazione nel campo delle infezioni intestinali acute.

Oggi il *Campylobacter* è riconosciuto uno dei più comuni agenti responsabili di gastroenterite nell'uomo, particolarmente in età pediatrica, nei paesi economicamente progrediti, più ancora che in quelli sottosviluppati, dove prevalgono forme più lievi senza febbre, leucociti e sangue nelle feci. E' descritta anche una diarrea del viaggiatore da *Campylobacter* (*traveller's diarrhoea*), il cui quadro clinico infiammatorio è talvolta più grave di quello riscontrabile nei paesi di provenienza.

In Francia, Olanda, Gran Bretagna, Svezia e Danimarca, dove esiste un efficiente sistema di sorveglianza delle infezioni, il numero di *Campylobacter* isolati supera notevolmente quello delle salmonelle. Negli USA la malattia è comune quasi quanto la salmonellosi. Secondo l'osservatorio epidemiologico di Atlanta (CDC), questa infezione, seppure meno fatale di altre tossinfezioni alimentari, provocherebbe ogni anno da 200 a 1000 vittime.

Molto si è appreso in tempi recenti su questo microrganismo "emergente", anche se parecchi aspetti, sia patogenetici che epidemiologici, sono ancora in fase di studio e necessitano di conferma.

C. jejuni è un patogeno di origine zoonosica, che ha come serbatoio il tratto intestinale di un'ampia varietà di animali a sangue caldo, tra cui polli, bovini, ovini, oche, cani e gatti, mentre *C. coli* alberga prevalentemente in suini, pollame, bovini e ovini.

Si può quindi pensare che l'incidenza delle infezioni da *Campylobacter* sia dovunque particolarmente elevata.

La malattia

I sintomi dell'infezione da *C. jejuni* e *C. coli* (le due specie patogene principali) non sono così esclusivi da poter essere differenziati da quelli di altri enterici (periodo di incubazione 3-5 giorni, febbre a 38 °C, brividi, malessere, cefalea, vertigini, nausea, crampi addominali, diarrea acquosa con muco e san-

gue vivo).

Generalmente l'infezione è autolimitante, anche se nei casi più gravi può essere necessaria una terapia antibiotica. La via di penetrazione è quella digerente. L'infezione dipende da più fattori, quali la dose infettante (che risulta essere particolarmente bassa, 500-800 ufc/g), il consumo di certi alimenti, quali latte o altri, dotati di potere tampone e il differente grado di acidità gastrica.

L'azione patogena si esplica attraverso i meccanismi di adesione, invasione, produzione di enterotossine e di citotossine.

La trasmissione avviene per ingestione di cibi contaminati o per contatto diretto, evento che interessa soprattutto veterinari e personale addetto alle macellazioni.

Le campylobatteriosi si manifestano prevalentemente con casi sporadici o episodi familiari, mentre rare forme epidemiche restano legate al consumo di latte crudo o acqua contaminata.

La popolazione a rischio include, come nella generalità delle infezioni batteriche, i soggetti con difese immunitarie ridotte. Esiste, curiosamente, un picco di frequenza nella fascia d'età tra 15 e 25 anni, legato verosimilmente ad una più intensa opportunità di viaggi e a cibi contaminati in cucina da giovani che, fuori dell'ambito familiare, non hanno ancora imparato a manipolare gli alimenti in modo igienicamente corretto.

I principali veicoli di infezione sono le carni (in particolare di pollame poco cotte in profondità), latte crudo da bovine con mastite o contaminato alla mungitura, acqua inquinata, alimenti pronti al consumo (*ready-to-eat*), in seguito a contaminazione crociata, molluschi bivalvi (in particolare ostriche e mitili), cuccioli di animali d'affezione con sindrome diarroica.

Il microrganismo

La tassonomia del *Campylobacter* è stata ampiamente riveduta nel corso dell'ultimo decennio.

Attualmente la famiglia di appartenenza è quella delle *Campylobacteriaceae* (in precedenza *Spirillaceae*), che comprende tre generi: *Campylobacter*, *Arcobacter* ed *Helicobacter*.

Al genere *Campylobacter* appartengono circa 20 specie, alcune delle quali patogene solo per gli animali; altre concorrono a formare il gruppo dei *Campylobacter* termofili (definiti anche termotolleranti o termoresistenti), che possono sopportare (come *C. upsaliensis*) o prediligere (come *C. jejuni*, *coli*, *lari*) temperature superiori a +37 °C, sino a +42/43 °C. A questo secondo gruppo appartiene la maggior parte delle specie coinvolte nelle patologie infettive intestinali dell'uomo.

I *Campylobacter* sono bacilli gram-negativi, asporigeni, ossidasi positivi, mobili per la presenza di uno o due flagelli polari, microaerofili, nutrizionalmente esigenti in coltura. Sono particolarmente sensibili a disidratazione e bassi valori di pH e inoltre vengono distrutti da pasteurizzazione, cottura e comuni disinfettanti. Sopravvivono per alcune settimane a +4 °C nell'acqua e nel latte senza moltiplicarsi e per alcuni mesi in carne congelata, mentre si lasciano inattivare rapidamente a temperatura ambiente.

Scopo della sperimentazione

In Italia non esiste a tutt'oggi un vero e proprio sistema di sorveglianza per le infezioni da *Campylobacter*. Si trovano solamente statistiche frammentarie elaborate da studi multicentrici, che hanno comunque confermato l'importanza del germe nello scenario delle infezioni intestinali.

Al fine di raccogliere maggiori informazioni sulla diffusione dei *Campylobacter* termofili in animali, alimenti di origine animale e nell'uomo, è stato attivato nel Triveneto un programma biennale di sorveglianza (2000-2001). I risultati della sperimentazione vengono qui presentati per poter ricavare ulteriori conoscenze sull'entità del problema.

Materiali e metodi

Il tasso di infezione negli animali (polli, suini, bovini) è stato determinato tramite prelievo di tamponi rettali o cloacali in sede di macellazione.

I campioni di carni sono stati raccolti nell'ambito dell'attività istituzionale di controllo o attraverso prelievi settimanali in vari punti vendita dislocati nelle province di Padova e Venezia.

I ceppi isolati da casi clinici umani sono stati ottenuti da tre ospedali (Padova, Verona e Pordenone).

La metodica per l'isolamento e l'identificazione dei *Campylobacter* è quella utilizzata presso l'Istituto Zooprofilattico delle Venezie, che prevede arricchimento del campione in Brodo di Preston (a +42°C per 24-48 ore in microaerofilia), semina su terreno selettivo CCDA Agar (a +42°C per 48-72 ore in microaerofilia), trapianto delle colonie sospette su Agar sangue (colonie bianco-grigie, circolari e leggermente rilevate al centro, piatte se confluenti), colorazione di Gram, *test* dell'ossidasi e prove biochimiche specifiche per la determinazione dei biotipi.

L'antibiogramma verso le due classi di sostanze più usate nella pratica (macrolidi e fluorochinoloni) è stato allestito col metodo di diffusione in agar secondo Kirby-Bauer.

Risultati

Sono riassunti nelle tabelle I e II.

Tabella I. Isolamenti di *Campylobacter* spp. in due anni di sperimentazione nelle Venezia

	POLLI		SUINI		BOVINI		UOMO focolai
	allevamenti	campioni carni	allevamenti	campioni carni	allevamenti	campioni carni	
Osservazioni	158	155	104	175	89	151	
Positivi	131	126	66	18	48	2	177
Prevalenza %	82,9	81,3	63,5	10,3	53,9	1,3	
<i>C. jejuni</i> %	44		1		26		83
<i>C. coli</i> %	56		64		22		17
Altre specie %			35		52		

Tabella II. Percentuali di antibiotico-resistenza rilevate sui ceppi isolati

	POLLI		SUINI		BOVINI		UOMO	
	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>
Macrolidi	3.1	45.0		42.6	8.3	28.6	1.4	24.1
Fluorochinoloni	42.2	75.0		36.2	25.0	42.8	38.2	55.2

Discussione

Nei polli *C. coli* supera per frequenza d'isolamenti *C. jejuni* (in maggioranza biotipo 2), ritenuto in letteratura predominante in quanto avrebbe la stessa temperatura ottimale di crescita dell'intestino dei volatili (+42/43 °C).

Le infezioni da *Campylobacter* negli allevamenti avicoli di norma decorrono in maniera del tutto asintomatica e non provocano alcuna patologia. L'incidenza dell'infezione è comunque elevata e sembra variare in funzione delle aree geografiche; infatti nei paesi scandinavi si aggira intorno al 10-20%, mentre in altre nazioni europee e negli Stati Uniti raggiunge anche il 90%.

L'introduzione dell'infezione nell'allevamento avviene tramite acqua di abbeverata, personale, lettiera, insetti, roditori e, in misura minore, col mangime, il cui basso contenuto d'umidità contrasta con la sopravvivenza del microrganismo.

La contaminazione delle carni di pollame è da considerare conseguenza dell'imbrattamento con materiale fecale durante la macellazione, particolarmente nella spiumatura e nell'eviscerazione, a seguito della rottura accidentale del pacchetto intestinale.

La pelle è la porzione della carcassa maggiormente contaminata. L'elevata umidità della cute e la persistenza di acqua nei follicoli e nei pori, sembrano essere fattori favorevoli alla sopravvivenza del microrganismo, poco resistente a temperature superiori alla refrigerazione.

Il riscontro di livelli inferiori di contaminazione nelle carni rosse, rispetto al pollame, è strettamente legato alle differenze nelle procedure di macellazione. L'asportazione totale della pelle nei bovini e ovicaprini e la rapida disidratazione superficiale, derivata dalla ventilazione forzata nelle celle di refrigerazione, comportano un abbassamento dell' a_w sull'esterno della carcassa e l'abbattimento rapido della contaminazione superficiale.

Nei suini sono stati trovati in pari misura *C. coli* biotipo 1 e 2, oltre ad una buona percentuale (35%) di *C. hyointestinalis*, notoriamente correlato all'enterite proliferativa del tratto terminale del tenue.

Nell'uomo prevale il biotipo 1 sia tra i ceppi di *C. jejuni* (61,1 %) che tra quelli di *C. coli* (72,4 %). Da notare, in accordo con la letteratura, una maggior frequenza della malattia nei bambini sotto i cinque anni (40,5 %) e sopra i 30 (19,5 %). Si tratta soprattutto di anziani e di soggetti con altre patologie preesistenti.

Il fenomeno della resistenza agli antibiotici sembra nel complesso abbastanza contenuto. Infatti, almeno *in vitro*, i macrolidi (eritromicina e azitromicina) si confermano farmaci di elezione, con buone *performances* invariate negli ultimi 10-15 anni.

I fluorochinoloni, che sembravano il trattamento di scelta per le enteriti batteriche, non si sono dimostrati altrettanto efficaci nel caso dei *Campylobacter* e l'elevata resistenza è probabile conseguenza di un uso esagerato in veterinaria e zootecnia.

Conclusioni

I risultati di questa sperimentazione dimostrano che anche nel nostro paese il *Campylobacter*, ampiamente diffuso negli animali e negli alimenti, può diventare un serio problema di sanità pubblica. Se non lo è ancora, dipende da un difetto nel metodo di raccolta dei dati sui focolai sporadici di gastroenterite, per cui sarebbe opportuno cercarlo più attentamente (ricorrendo anche alla biologia molecolare) e integrare le informazioni provenienti dai laboratori di microbiologia medica, veterinaria e alimentare.

Bibliografia

- Blaser, M.J., H.L. Hardesty, B. Powers and W.L.L., Wang. Survival of *Campylobacter fetus subsp. jejuni* in biological milieus. J. Clin. Microbiol. 11: 309, 1980
- Blaser, M.J. *Campylobacter*. In: Farthing M.J.G. and G.T. Keusch: Enteric infections. Chapman and Hall, London, 299-315, 1988
- Brennhovd, O., G. Kapperud and G. Langeland. Survey of thermotolerans *Campylobacter spp.* and *Yersinia spp.* in three surface water sources in Norway. Int. J. Food Microbiol. 15: 327, 1992
- Briscoe, D., J.B. McMenamin, N.V. O'Donahue. Prognosis in Guillain-Barré Syndrome. Arch. Dis. Child. 62: 733, 1987
- Caprioli A., C. Pezzella, R. Morelli, A. Giammarco, S. Arista, D. Crotti. Enteropathogens associated with childhood diarrhoea in Italy. Pediatr. Infect. Dis. J. 15: 876, 1996
- Carter A.M., R.E. Pacha, G.W. Clark and E.A. Williams. Seasonal occurrence of *Campylobacter spp.* in surface waters and their correlation with standard indicator bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 53: 523, 1987
- Cogan, T.A., S.F. Bloomfield, T.J. Humphrey. The effectiveness of hygiene procedures for prevention of cross-contamination from chicken carcasses in the domestic kitchen. Lett. Appl. Microbiol. 29: 354-358, 1999
- Jacobs, B.C., P.I.M. Schmitz, van der F.G.A. Meche. *Campylobacter jejuni* infection and treatment for Guillain-Barré Syndrome. N. Engl. J. Med. 335: 208, 1966
- Jacobs-Reitsma W.F., C.A. Kan and N.M. Bolder. The introduction of quinolone resistance in *Campylobacter* bacteria in broilers by quinolone treatment. Lett. Appl. Microbiol. 19: 228, 1994
- Kapperud G. AND S. Aasen. Descriptive epidemiology of infections due to thermotolerant *Campylobacter spp.* in Norway, 1979-1988. APMIS 100: 883, 1992
- Korsak, D. and J. Popowski. *Campylobacter jejuni* in coccoid forms does not reverse into spiral form in chicken guts. Acta Microbiol. Pol. 46: 409, 1997
- Moore, J.E., P.S. Caldwell, B.C. Millar, P.G. Murphy. Occurrence of *Campylobacter spp.* in water in Northern Ireland: implication for public health. Ulster Med. J. 70: 102-107, 2001
- Mosupye, F.M., A. Von Holy. Microbiological quality and safety of ready-to-eat street-vended foods in Johannesburg, South Africa. J. Food Protect. 62: 1278-1284, 1999
- Nielsen, E.M., J. Engberg and M. Madsen. Distribution of serotypes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from Danish patients, poultry, cattle, and swine. FEMS Immuno. Med. Microbiol. 19: 47, 1997
- Palmer, S.R., P.R. Gully, J.M. White, A.D. Pearson, W.G. Suckling, D.M. Jones, J.C. Rawes, J.L. Penner. Water-borne outbreak of *Campylobacter* gastroenteritis. Lancet. 1: 287-290, 1983
- Pezzotti, G., A. Serafin, I. Luzzi, R. Mioni, M. Milan and R. Perin. Occurrence and resistance to antibiotics of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in animals and meat in northeastern Italy. Int. J. Food. Microbiol. 82: 281-287, 2003
- Skirrow M.B. *Campylobacter enteritis*: a new "disease". Br. Med. J. 2: 9, 1977
- Skirrow. M.B. *Campylobacter* perspectives. PHLS Microbiology Digest, 6: 113, 1989
- Southern, J.P., R.M.M. Smith and S.R. Palmer. Bird attack on milk bottles : possible mode of transmission of *Campylobacter jejuni* to man. Lancet 336: 1425, 1990
- Stafford R., T. Tenkate and B. McCall. A five year review of *Campylobacter* infection in Queensland Comm.Dis. Intell. 20 : 478, 1966
- Tauxe, R.V. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized nations. In: Nachamkin I., M.J. Blaser and L.S. Tompkins. *Campylobacter jejuni*: Current status and future trends. American Society for Microbiology, Washington D.C., 9, 1992
- Vandamme, P., J. De Ley. Proposal for a new family, *Campylobacteriaceae*. Int. J. Syst. Bacteriol. 41 : 451, 1991
- Vandamme, P., H. Goossens. Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter* and *Helicobacter*: a review. Zbl. Bakt. 276: 477, 1992



The Hereditary Basis of Allergic Diseases

S.T.Holgate, J.W.Holloway

Birkhäuser Verlag, ISBN 3-7643-6402-5, pag. 180, 118 Euro

Birkhäuser ha una lunga tradizione come editore nel campo dell'infiammazione. Ha pubblicato numerosi volumi della serie "PIR – Progress in Inflammation Research" e il suo programma prevede anche la pubblicazione della rivista "IR – Inflammation Research" (informazioni sul sito dell'editore), giornale ufficiale di International Association of Inflammation Societies. Ogni volume di questa serie – che fornisce gli ultimi aggiornamenti su patologia, meccanismi e terapia delle malattie infiammatorie – è curato da esperti che fanno il punto su argomenti specifici di dermatologia, reumatologia, dolore, infiammazione delle vie aeree e asma, allergia, neurologia, sistema cardio-vascolare, mediatori e recettori, farmaci e terapia.

All'interno di questa serie, nel 2002, è uscito il volume "The Ereditary Basis of Allergic Diseases" curato da S.T.Holgate e J.W.Holloway dell'Università di Southampton (UK).

Nel corrente anno, della stessa catena, verranno pubblicati i volumi "Heat shock proteins and inflammation" e "Inflammation and cardiac diseases".

Le malattie allergiche sono malattie complesse e coinvolgono una gamma di fattori ambientali che interagiscono con un genotipo suscettibile. La familiarità della patologia asmatica è riconosciuta da più di due secoli, ma la conoscenza dei meccanismi che ne sono alla base ha potuto realizzarsi solo con l'avvento della biologia molecolare. Negli ultimi dieci anni i progressi in questo campo sono stati enormi.

Questo volume, illustrando anche i processi attraverso i quali i fattori genetici che contribuiscono alle malattie allergiche sono stati rilevati, prende in considerazione quei fattori genetici che influenzano la suscettibilità alla progressione di malattie allergiche come l'asma. Nella rassegna di T. Laitinen, sono riportati i più aggiornati contributi per la comprensione delle basi ereditarie dell'atopia e dell'asma.

L'importanza poi della risposta immunitaria è messa in rilievo dai contributi N. Hizawa e A.H.Mansur sulla regolazione genetica della risposta IgE specifica, sull'importanza di HLA, di T-cell receptor e Fc γ R1 receptor.

Il riconoscimento che i disordini allergici sono il risultato di uno sbilanciamento tra le citochine Th1 e Th2 in favore di queste ultime fornisce lo spunto per i successivi capitoli che includono due rassegne sul ruolo del pleiomorfismo di IL-13 e del sistema IL-9/IL-9R nell'asma.

Non è possibile parlare di malattie allergiche senza evidenziare il ruolo dei mediatori, come i leucotrieni, importanti specialmente nell'asma (I.Sayers e A.P.Sampson).

Un mediatore che ha recentemente suscitato interesse nell'asma e nella rinite è l'ossido nitrico; la recente identificazione di varianti genetiche, come descrivono H.Graseman e J.M.Drazen, è di notevole interesse.

In questo volume sono descritte le ricerche in corso sui fattori che sono alla base dello sviluppo e della patogenesi dell'atopia e delle malattie allergiche, sui fattori ambientali e sulle varianti genetiche che predispongono a queste malattie. L'identificazione di queste ultime porterà a notevoli risultati: innanzitutto la miglior comprensione dei fattori di suscettibilità permetterà 1) lo sviluppo di nuovi farmaci specifici sia per alleviare sia per prevenire i sintomi 2) l'identificazione precoce degli individui suscettibili (uno screening genetico in giovane età può portare ad effettuare scelte pratiche e convenienti); inoltre, differenti varianti genetiche possono influenzare la risposta alla terapia e l'identificazione di individui con alterata risposta permetterà l'ottimizzazione delle misure terapeutiche.

L'identificazione, nel genoma umano, di più di 27000 geni, dei quali il 60% svolge funzioni ancora sconosciute, è una sfida per il futuro; è confortante che già molti progressi siano stati fatti nella scoperta dei geni coinvolti in un gruppo di malattie che colpiscono quasi tutti gli individui almeno una volta nella vita.

Grazie agli sforzi degli Autori, questo libro, di interesse per ricercatori biomedici, farmacologi, reumatologi, allergologi, dermatologi, è risultato essere una delle pubblicazioni più avanzate in questo campo.

I. Foresti

Dendritic Cells and Virus Infection

A.Steinkasserer (Ed.)

Sprinter-Verlag, ISBN 3-540-44290-1, Eur. 99.95

Il volume "Dendritic Cells and Virus Infection" della collana "Current Topics in Microbiology and Immunology", curato da A. Steinkasserer, della casa editrice Sprinter- Verlag, rappresenta un approccio molto innovativo allo studio di nuove strategie immunoterapiche mediate dalle cellule dendritiche (DCs).