

Studio quantitativo della contaminazione fungina dell'aria in diverse tipologie di allevamenti di conigli e proposta di un metodo di campionamento standardizzato

Bonci M., Mazzolini E., Bano L., Drigo I., Agnoletti F.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Treviso, Italy

Corresponding Author: Michela Bonci, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Laboratorio di Treviso, Viale Brigata Treviso 13/a, 31100 Treviso (TV), Italy - Tel. +39 0422 302302 - Fax: +39 0422 421154 - Email: mbonci@izsvenezie.it

ABSTRACT: Quantitative study of air contamination by fungal spores in different kinds of rabbit farms and proposal of a standardized sampling method.

In order to establish the most suitable and reliable sampling method for the assessment of air contamination by spores of environmental and pathogenic fungi inside rabbit farms, six farms, equipped with different ventilation systems, characterized by various levels of hygiene and with a history of mycosis, were selected for samples collection. In each farm samples were collected in four occasions at different heights and points and, for one day, at four times. The statistical analysis of the data collected allowed to suggest the following sampling schedule to reliably estimate the average contamination level: one sampling point per corridor, at a height of 0-2 m for environmental fungi and 1-2 m for dermatophytes, once in a day.

Key words: Rabbit farms, Air quality, Fungal spores, Sampling method.

INTRODUZIONE – La qualità dell'aria nei ricoveri per animali risente, tra l'altro, della contaminazione da spore fungine rilasciate da vari tipi di miceti, sia ambientali che associati come saprofiti o commensali agli animali e all'uomo, sia patogeni primari, soprattutto nell'allevamento del coniglio in cui la micosi è un problema sanitario estremamente diffuso (Torres Rodríguez *et al.*, 1992; Cafarchia *et al.*, 2010). Oltre a compromettere il benessere e le performance del coniglio, la micosi ha risvolti di sanità pubblica in quanto *Trichophyton mentagrophytes* e *Microsporum canis*, le specie di dermatofiti isolate da coniglio, sono agenti di zoonosi a cui sono esposti coloro che per motivi professionali vengono a contatto con animali infetti, come allevatori e macellatori (Romano, 1999; De La Torre *et al.*, 2003). La contaminazione fungina dell'aria in allevamenti di conigli è un argomento che è già stato affrontato (Martino *et al.*, 2007; Cafarchia *et al.*, 2010), non si è tuttavia mai preso in considerazione come le cariche ambientali di spore fungine possano variare al variare del sito e del momento in cui si effettua il campionamento, informazioni utili che potrebbero contribuire ad una corretta valutazione oggettiva della qualità dell'aria negli allevamenti di specie d'interesse zootecnico. Obiettivi del presente studio sono stati pertanto quelli di valutare la varianza imputabile a tali fattori, con lo scopo di definire una modalità di campionamento standardizzata applicabile in campo che dia risultati attendibili e confrontabili.

MATERIALI E METODI – Disegno sperimentale e campionamento. Per stimare in che misura l'allevamento, il sito di campionamento all'interno dell'edificio (nel senso sia della lunghezza che della larghezza) e l'altezza del punto di campionamento

incidono sulla varianza della concentrazione di spore fungine totali (FT) e di spore di dermatofiti (D), sono stati selezionati 6 allevamenti, all'interno dei quali sono stati eseguiti prelievi in punti fissi di ciascun corridoio, distanziati tra loro di 6-7 metri, in quattro distinti sopralluoghi e, per quattro volte, prelievi a tre diverse altezze dello stesso punto (a terra, a 1m e a 2m). Per stimare in che misura il momento del prelievo, nell'arco della giornata, incide sulla varianza della concentrazione di FT e D, sono stati prelevati campioni d'aria in un unico punto per corridoio, scelto in modo casuale, alle ore 9:00, 12:00, 15:00 e 18:00 di una stessa giornata. Mentre in concomitanza di quest'ultimo sopralluogo in allevamento si svolgevano le previste pratiche quotidiane, in concomitanza dei precedenti non era svolto alcun tipo di attività per evitare interferenze delle stesse sui rilievi. Allevamenti. Le caratteristiche degli allevamenti inseriti nello studio sono riportate nella tabella 1; requisito imprescindibile era il fatto di non ricorrere all'uso di disinfettanti ad azione antifungina tramite nebulizzazione, per evitare la raccolta di dati viziati dagli effetti di abbattimento della carica ambientale di spore fungine conseguenti a tale pratica. Esame microbiologico. I campioni d'aria sono stati prelevati col campionatore portatile SAS Super 100[®] (PBI International), utilizzando Sabouraud Dextrose agar addizionato con cloramfenicolo (SCA) per i FT e Mycobiotic agar (MA) per i D ed individuando per entrambi, mediante prove preliminari, un volume pari a 20 l di aria. Le piastre erano ispezionate dopo 5 (SCA) o 7 (MA) giorni d'incubazione a temperatura ambiente per la conta delle colonie e, nel caso dei soli D, per l'identificazione sulla base delle caratteristiche macroscopiche e microscopiche. Le cariche erano espresse come unità formanti colonia/m³ di aria (UFC/m³). Analisi statistica. L'associazione tra le cariche dei FT e quelle dei D è stata valutata con l'analisi di varianza (ANOVA) e con un modello di regressione lineare, previa normalizzazione delle distribuzioni di frequenza delle cariche di FT e D mediante trasformazione logaritmica. L'influenza dell'altezza del punto di prelievo e del momento del prelievo nell'arco della giornata sulla concentrazione di FT e D è stata valutata mediante il calcolo della media dei valori rilevati e della deviazione standard.

Tabella 1 – Caratteristiche degli allevamenti inseriti nello studio.

	Allevamento					
	1	2	3	4	5	6
Lunghezza, m	36	70	60	50	47	50
Larghezza, m	13	12	12	12	15	13
Area, m ²	468	840	720	600	705	650
Ventilazione	Naturale	Longitudinale	Trasversale	Trasversale	Longitudinale	Naturale
Tipologia	Riproduzione/ ingrasso	Riproduzione	Riproduzione/ ingrasso	Ingrasso	Riproduzione/ ingrasso	Riproduzione
Rimozione deiezioni	Giornaliera	Accumulo	Giornaliera	Giornaliera	3 volte a settimana	Giornaliera
Livello di igiene	Buono	Scarso	Buono	Buono	Scarso	Buono

RISULTATI E CONCLUSIONI – Dall'ANOVA e dal modello di regressione lineare è emerso che le concentrazioni delle spore, sia di FT che di D, sono in primo luogo influenzate dall'allevamento e che la distribuzione delle spore di FT non è associata ai corridoi. Non è stato evidenziato alcun gradiente nella concentrazione delle spore di FT, né in senso trasversale, né in senso longitudinale, come si potrebbe supporre in relazione al tipo di ventilazione (trasversale, longitudinale, naturale) ed al conseguente presunto "tragitto" del flusso dell'aria nel capannone, che pertanto non sembra

influenzare la dispersione delle spore. Nel caso delle spore di D l'ANOVA e il modello di regressione lineare hanno evidenziato un certo grado di correlazione del livello di contaminazione con alcuni corridoi. Per quanto riguarda l'influenza dell'altezza del punto di prelievo sulla varianza della concentrazione di spore fungine, dal confronto tra le medie dei valori registrati a diverse altezze e tra queste e la media complessiva, è emerso che la concentrazione di FT non sembra correlata con l'altezza mentre quella di D è nettamente superiore a 1-2 m d'altezza rispetto a quella rilevata ad altezza pavimento. E' ragionevole supporre che tale differenza sia dovuta alla presenza, a 1-2 m di altezza, delle gabbie e quindi dei conigli, potenziali ospiti dei dermatofiti di cui rilasciano le spore. Infine, sulla base dei dati derivanti dai campioni prelevati in diversi momenti, si può affermare in linea generale che le cariche di FT e D sono piuttosto omogenee nell'arco della giornata. I risultati di questo studio, che affronta per la prima volta con un approccio statistico il tema delle modalità di campionamento dell'aria negli allevamenti di conigli, suggeriscono quanto segue. Per stimare il livello medio di contaminazione da FT si possono prelevare campioni di 20 l d'aria con SAS Super 100® in un punto qualsiasi di ognuno dei corridoi, ad un'altezza compresa tra 0 e 3 metri, in occasione di un unico sopralluogo in allevamento. In caso di una contaminazione ambientale attesa particolarmente elevata si suggerisce di ridurre il volume d'aria per limitare il rischio di ottenere piastre inutilizzabili a causa della confluenza delle colonie. Il grado medio di contaminazione può essere quindi rappresentato in maniera sufficientemente adeguata dalla media aritmetica delle cariche dei singoli campioni, espressa come UFC/m³. Per stimare il livello medio di contaminazione da D si possono prelevare campioni di 20 l d'aria con SAS Super 100®, in un punto per ciascun corridoio, ad un'altezza di 1-2 m, in occasione di un unico sopralluogo in allevamento. Nella scelta dei singoli siti di campionamento è preferibile privilegiare i punti in corrispondenza di gabbie in cui si trovano animali con lesioni, visto che sembra che la distribuzione delle spore di D sia in una certa misura legata alla posizione degli animali malati. Nel caso dei D potrebbe essere opportuno aumentare il volume di aria o fare prelievi aggiuntivi per aumentare la sensibilità, soprattutto in caso di micosi lieve o scarsamente diffusa. Anche in questo caso la media aritmetica delle cariche dei singoli prelievi espressa in UFC/m³, può rappresentare in modo sufficientemente adeguato il livello medio di contaminazione da D dell'allevamento.

Questo studio è stato realizzato grazie al finanziamento del Ministero della Salute nell'ambito del progetto di ricerca corrente IZSve 01/08 "Valutazione di alcuni parametri ambientali in allevamenti di conigli da carne e correlazioni col benessere animale".

BIBLIOGRAFIA – Cafarchia, C., Camarda, A., Coccioli, C., Figueredo, L.A., Circella, E., Danesi, P., Capelli, G., Otranto, D., 2010. Epidemiology and risk factors for dermatophytoses in rabbit farms. *Med. Mycol.* 48:975-980. De La Torre, A.M., Cuenca-Estrella, M., Rodríguez-Tudela, J.L., 2003. Estudio epidemiológico sobre las dermatofitosis en España (abril-junio 2001). *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 21:477-483. Martino, P.A., Luzi, F., Verga, M., 2007. Fungal environment in different rabbit intensive farms. *Ital. J. Anim. Sci.* 6(Suppl. 1):774-776. Romano, C., 1999. Tinea capitis in Siena, Italy. An 18-year survey. *Mycoses* 42:559-562. Torres-Rodríguez, J.M., Dronda, M.A., Rossell, J., Madrenys, N., 1992. Incidence of dermatophytoses in rabbit farms in Catalonia, Spain, and its repercussion on human health. *Eur. J. Epidemiol.* 8:326-329.