

## DECISIONE DELLA COMMISSIONE

del 19 luglio 2007

**riguardo al contributo finanziario della Comunità a favore di un'indagine da effettuare negli Stati membri relativa alla diffusione e alla resistenza agli antimicrobici del *campylobacter* spp. nei branchi di polli da ingrasso e alla diffusione del *campylobacter* spp. e della *salmonella* spp. nelle carcasse di pollo**

[notificata con il numero C(2007) 3440]

(2007/516/CE)

LA COMMISSIONE DELLE COMUNITÀ EUROPEE,

visto il trattato che istituisce la Comunità europea,

vista la decisione 90/424/CEE del Consiglio, del 26 giugno 1990, relativa a talune spese nel settore veterinario <sup>(1)</sup>, in particolare l'articolo 20,

considerando quanto segue:

- (1) La decisione 90/424/CEE fissa le procedure che disciplinano i contributi finanziari della Comunità a favore di misure veterinarie specifiche, anche a carattere tecnico e scientifico. Essa stabilisce che la Comunità deve prendere i provvedimenti tecnici e scientifici necessari a sviluppare la normativa veterinaria comunitaria, l'istruzione veterinaria e la formazione, o assistere gli Stati membri in tale attività.
- (2) Secondo la relazione sulle tendenze e sulle fonti delle zoonosi, degli agenti zoonotici, della resistenza agli antimicrobici nella Comunità nel 2005 <sup>(2)</sup>, dell'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA), sono stati rilevati 194 695 casi di campilobatteriosi negli esseri umani in 22 Stati membri. La carne di pollo è considerata la fonte d'infezione più comune. Nella carne di pollo sono stati rilevati fino al 66,4 % di campioni positivi. Nei branchi di polli da ingrasso sono risultati positivi tra lo 0,2 e l'86 % dei campioni.
- (3) Inoltre, secondo la relazione dell'EFSA, nel 2005 sono stati rilevati 168 929 casi di salmonellosi umana in 22 Stati membri. I tassi tipici di infezione del pollame fresco variano da 4 al 10 %, i più alti tra tutti gli alimenti analizzati.

- (4) Nella sua relazione, l'EFSA evidenzia anche la presenza di tassi relativamente elevati di isolati di *campylobacter* e *salmonella*, provenienti da animali e alimenti, resistenti agli antimicrobici solitamente usati nel trattamento delle malattie umane. Si tratta soprattutto della resistenza ai fluorochinoloni degli isolati di *campylobacter* provenienti dal pollame, in cui fino al 94 % degli isolati si sono rivelati resistenti alla ciprofloxacina. Le infezioni di origine alimentare causate da tali batteri resistenti presentano rischi particolari per gli esseri umani perché la terapia può non avere successo.
- (5) Informazioni comparabili sulla diffusione della *salmonella* in tali branchi sono state raccolte ai sensi della decisione 2005/636/CE della Commissione del 1° settembre 2005, relativa a un contributo finanziario della Comunità per un'indagine di riferimento sulla diffusione della *salmonella* spp. fra gli esemplari da carne di *gallus gallus* da realizzare negli Stati membri <sup>(3)</sup>. Data la mancanza di controlli armonizzati, è però molto difficile comparare la diffusione del *campylobacter* nei branchi da ingrasso e nelle carni di pollo, e della *salmonella* nelle carni di pollo, provenienti da Stati membri diversi.
- (6) Ai sensi dell'articolo 5 della 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 <sup>(4)</sup>, si possono attuare programmi coordinati di sorveglianza, quando siano accertate necessità specifiche, per valutare rischi e stabilire valori di riferimento sulle zoonosi e gli agenti zoonotici a livello degli Stati membri.
- (7) Ricercatori ed esperti hanno definito, insieme con l'EFSA, le caratteristiche tecniche di uno studio di riferimento per forme armonizzate di sorveglianza del *campylobacter* nei branchi di polli da ingrasso. Nel 2006, i tecnici di laboratorio in tutti gli Stati membri sono stati formati sui metodi di rilevamento del *campylobacter* in tali branchi e nel 2007 essi saranno addestrati sui metodi di conteggio del *campylobacter* nelle carcasse.

<sup>(1)</sup> GU L 224 del 18.8.1990, pag. 19. Decisione modificata da ultimo dalla decisione 2006/965/CE (GU L 397 del 30.12.2006, pag. 22).

<sup>(2)</sup> The EFSA Journal (2006) 94.

<sup>(3)</sup> GU L 228 del 3.9.2005, pag. 14.

<sup>(4)</sup> GU L 325 del 12.12.2003, pag. 31. Direttiva modificata dalla direttiva 2006/104/CE del Consiglio (GU L 363 del 20.12.2006, pag. 352).

- (8) Durante la riunione del 16 e 17 ottobre 2006, la task force dell'EFSA che raccoglie i dati sulla sorveglianza delle zoonosi ha approvato la relazione sulle proposte di caratteristiche tecniche di un programma di sorveglianza coordinato della *salmonella* e del *campylobacter* nella carne di pollo nell'UE <sup>(1)</sup>.
- (9) Il 20 febbraio 2007, la task force ha anche approvato una relazione contenente la proposta di un regime di sorveglianza armonizzato sulla resistenza agli antimicrobici della *salmonella* nelle galline (*gallus gallus*), nei tacchini e nei suini e del *campylobacter* (*campylobacter jejuni* e *campylobacter coli*) nel pollame <sup>(2)</sup>. La relazione raccomanda un regime di sorveglianza armonizzato e una metodologia armonizzata per i test di suscettibilità agli antimicrobici.
- (10) Ai sensi dell'articolo 7, paragrafo 3 e dell'allegato II, punto B, della direttiva 2003/99/CE, vanno definite norme dettagliate di sorveglianza della resistenza agli antimicrobici del *campylobacter jejuni* e del *campylobacter coli* nel pollame. Occorre raccogliere dati in modo da poter definire tali regole. Nell'indagine volta a raccogliere i dati necessari vanno perciò inclusi test di resistenza agli antimicrobici.
- (11) Dato la diffusa presenza di *salmonella* e *campylobacter* negli esseri umani, l'importanza del pollame e della carne di pollo come fonte d'infezione e la crescente apprensione per l'andamento della resistenza agli antimicrobici, è opportuno che negli Stati membri si raccolgano dati comparabili sulla diffusione del *campylobacter* nel pollame e nella carne di pollo e della *salmonella* nella carne di pollo, per misurare necessità, fattibilità, costi e vantaggi di iniziative di sorveglianza a livello comunitario.
- (12) L'indagine dovrà fornire informazioni tecniche atte a sviluppare la normativa veterinaria comunitaria, come indicazioni sull'uso degli antimicrobici nei programmi di sorveglianza delle zoonosi nel pollame. Data l'importanza di raccogliere dati comparabili sulla diffusione della *salmonella* e del *campylobacter* nel pollame e nella carne di pollo e sulla resistenza del *campylobacter* agli antimicrobici nei branchi di polli da ingrasso negli Stati membri, è opportuno concedere a quest'ultimi un contributo finanziario della Comunità per soddisfare i requisiti specifici dell'indagine. Si ritiene adeguato rimborsare il 100 %, entro un determinato massimale, delle spese sostenute per le analisi di laboratorio. Tutte le altre spese (amministrative, di campionamento, di viaggio) vanno del tutto escluse dal contributo finanziario della Comunità.
- (13) Il contributo finanziario della Comunità può essere concesso solo se l'indagine è conforme al diritto comunitario e se soddisfa una serie di altre condizioni.
- (14) Il contributo finanziario della Comunità può essere concesso solo se le azioni previste sono effettivamente eseguite e se le autorità competenti forniscono le informazioni richieste entro le scadenze previste dalla presente decisione.
- (15) Per ragioni di efficienza amministrativa, tutte le spese dichiarate ai fini del contributo finanziario della Comunità vanno espresse in euro. In base al regolamento (CE) n. 1290/2005 del Consiglio, del 21 giugno 2005, relativo al finanziamento della politica agricola comune <sup>(3)</sup>, il tasso di conversione delle spese in valute diverse dall'euro sarà quello fissato dalla Banca centrale europea e in vigore fino al primo giorno del mese in cui lo Stato membro interessato presenta la domanda.
- (16) Le misure previste dalla presente decisione sono conformi al parere del comitato permanente per la catena alimentare e la salute degli animali,

HA ADOTTATO LA PRESENTE DECISIONE:

#### Articolo 1

##### Oggetto e campo di applicazione

La presente decisione fissa le norme relative a un contributo finanziario della Comunità a favore di un'indagine da effettuare negli Stati membri avente per oggetto:

- a) la diffusione del *campylobacter* spp. nei branchi di polli da ingrasso e la loro resistenza agli antimicrobici; nonché
- b) la diffusione del *campylobacter* spp. e della *salmonella* spp. nelle carcasse di pollame.

#### Articolo 2

##### Definizioni

Ai fini della presente decisione si applicano le seguenti definizioni:

- a) «branco» indica tutto il pollame (come quello da ingrasso) avente lo stesso stato sanitario, allevato nello stesso stabilimento o recinto e costituente un'unica unità epidemiologica; in caso di pollame in batteria, il branco comprende tutti i volatili che condividano lo stesso ambiente;

<sup>(1)</sup> The EFSA Journal (2007) 96, pagg. 1-46.

<sup>(2)</sup> The EFSA Journal (2006) 403, pagg. 1-62.

<sup>(3)</sup> GU L 209 dell'11.8.2005, pag. 1. Regolamento modificato da ultimo dal regolamento (CE) n. 378/2007 (GU L 95 del 5.4.2007, pag. 1).

b) «lotto di macellazione» indica una partita di polli da ingrasso, allevati nello stesso branco, e portati nello stesso giorno a un mattatoio;

c) «autorità competente» indica la o le autorità di uno Stato membro, designate ai sensi dell'articolo 3 del regolamento (CE) n. 2160/2003 del Parlamento europeo e del Consiglio <sup>(1)</sup>.

#### Articolo 3

##### Zoonosi e agenti zoonotici compresi nell'indagine

Gli Stati membri effettuano un'indagine che valuti la diffusione delle seguenti zoonosi e agenti zoonotici in campioni prelevati da mattatoi scelti a caso in conformità dell'allegato I:

a) *campylobacter* spp. nei branchi di polli da ingrasso e resistenza agli antimicrobici;

b) *campylobacter* spp. nelle carcasse di pollame;

c) *salmonella* spp. nelle carcasse di pollame;

in tutta la Comunità. Sono compresi nell'indagine solo i polli da ingrasso prodotti fin dall'inizio nello Stato membro interessato.

#### Articolo 4

##### Modalità di campionamento e di analisi

1. Il campionamento viene effettuato dall'autorità competente, o sotto il suo controllo, in base alle caratteristiche tecniche definite nell'allegato I.

2. I laboratori nazionali di riferimento (LNR) per *salmonella* spp., *campylobacter* spp. e le prove di resistenza agli antimicrobici, effettueranno le relative analisi di campioni e isolati.

3. L'autorità competente può però decidere di far eseguire le analisi dei campioni e degli isolati ad altri laboratori coinvolti nei controlli ufficiali di *salmonella* spp., *campylobacter* spp. e nelle prove di resistenza agli antimicrobici.

In tal caso, i LNR sosterranno tali laboratori, addestrandone il personale e garantendo che soddisfino le norme sui controlli di qualità attraverso ring test a scadenze regolari.

I laboratori designati conformemente al paragrafo 3, primo comma, del presente articolo che eseguono le prove devono soddisfare le seguenti condizioni:

a) disporre di comprovata esperienza nell'uso dei metodi da applicare alla prova;

b) disporre di un sistema di garanzia della qualità che soddisfi la norma EN/ISO 17025;

c) sottoporsi alla supervisione dei pertinenti LNR.

#### Articolo 5

##### Condizioni per l'ottenimento di un contributo finanziario della Comunità

1. Del contributo finanziario comunitario alle spese di campionamento e di analisi beneficiano gli Stati membri fino all'importo complessivo massimo del cofinanziamento di cui all'allegato II.

2. Il contributo finanziario comunitario di cui al paragrafo 1 verrà versato agli Stati membri se l'indagine viene effettuata secondo le pertinenti disposizioni del diritto comunitario, come le norme di concorrenza e di aggiudicazione dei pubblici appalti, e purché siano soddisfatte le seguenti condizioni:

a) entro e non oltre il 31 dicembre 2007 devono entrare in vigore le disposizioni legislative, regolamentari e amministrative prescritte per effettuare l'indagine;

b) entro e non oltre il 31 maggio 2008 va presentata alla Commissione una relazione provvisoria contenente le informazioni di cui all'allegato I, parte E, punto 1, riguardante i primi 3 mesi d'indagine;

c) entro e non oltre il 28 febbraio 2009 va presentata alla Commissione una relazione finale sull'esecuzione dell'indagine, contenente le informazioni di cui all'allegato I, parte E, punti 1 e 2, la documentazione comprovante le spese di campionamento e di analisi sostenute dagli Stati membri e i risultati ottenuti nel periodo dal 1° gennaio 2008 al 31 dicembre 2008; la documentazione delle spese sostenute conterrà almeno le informazioni di cui all'allegato III;

d) l'indagine va effettuata secondo modalità appropriate.

<sup>(1)</sup> GU L 325 del 12.12.2003, pag. 1. Regolamento modificato da ultimo dal regolamento (CE) n. 1791/2006 del Consiglio (GU L 363 del 20.12.2006, pag. 1).

3. Se la relazione finale di cui al paragrafo 2, punto c), non viene presentata entro e non oltre il 28 febbraio 2009, il contributo finanziario si riduce progressivamente del 25 % dell'importo globale fino al 30 marzo 2009, del 50 % fino al 30 aprile 2009 e del 100 % fino al 30 maggio 2009.

#### Articolo 6

##### Importi massimi rimborsabili

L'importo massimo del contributo finanziario comunitario a favore delle spese rimborsabili di analisi e campionamento sostenute dagli Stati membri nel quadro dell'indagine non sarà superiore a:

- a) 20 EUR per ogni prova d'individuazione del *campylobacter* e della *salmonella* spp;
- b) 30 EUR per ogni conferma, speciazione e conteggio degli isolati di *campylobacter* spp. e per la sierotipizzazione degli isolati di *salmonella* spp.;
- c) 30 EUR per la prova di resistenza antimicrobica degli isolati di *campylobacter* provenienti da branchi di polli da ingrasso.

#### Articolo 7

##### Raccolta dei dati, valutazione e relazioni

1. L'autorità competente che redige la relazione nazionale annuale ai sensi dell'articolo 9, paragrafo 1, della direttiva 2003/99/CE deve raccogliere e valutare i risultati del campionamento e le analisi sulla diffusione della *salmonella* e del *campylobacter* effettuati ai sensi dell'articolo 4 della presente decisione e comunicare alla Commissione, entro e non oltre il 28 febbraio 2009, i dati necessari e la loro valutazione effettuata dallo Stato membro pertinente. Ai sensi dell'articolo 9, paragrafo 1, della direttiva 2003/99/CE, i risultati dalla prova di resistenza antimicrobica vanno comunicati entro la fine di maggio 2009 nell'ambito della relazione annuale.

2. La Commissione trasmette all'Autorità europea per la sicurezza alimentare, perché li esamini, i risultati ottenuti con l'indagine nonché i dati aggregati nazionali e la valutazione che ne danno gli Stati membri.

Gli Stati membri devono approvare preventivamente un uso dei dati da essi presentati per fini diversi da quelli dell'indagine.

3. I risultati e i dati nazionali aggregati vanno pubblicati salvaguardandone la riservatezza.

#### Articolo 8

##### Tasso di conversione applicabile alle spese

Se la spesa di uno Stato membro avviene in una valuta diversa dall'euro, tale Stato membro la convertirà in euro applicando il tasso di cambio fissato dalla Banca centrale europea e in vigore fino al primo giorno del mese in cui lo Stato membro interessato presenta la domanda.

#### Articolo 9

##### Applicazione

La presente decisione si applica dal 1° gennaio 2008.

#### Articolo 10

##### Destinatari

Gli Stati membri sono destinatari della presente decisione.

Fatto a Bruxelles, il 19 luglio 2007.

Per la Commissione  
Markos KYPRIANOU  
Membro della Commissione

## ALLEGATO I

## SPECIFICHE TECNICHE DI CUI ALL'ARTICOLO 4

## PARTE A

**Base di campionamento**

Per evitare distorsioni connesse all'età, la sorveglianza avverrà per lotti di macellazione al macello.

Poiché è dimostrato che la diffusione del *campylobacter* spp. varia significativamente a seconda della stagione, occorre effettuare una stratificazione. A tal fine, un periodo di 12 mesi va suddiviso in 12 periodi di un 1 mese. In ciascuno di essi, va prelevato 1/12 del campione totale.

Altrimenti, il campionamento deve basarsi su una selezione casuale, sia per ciò che riguarda i macelli, che per i giorni di campionamento ogni mese, che per i lotti da prelevare in un determinato giorno di campionamento. In particolare, il piano di randomizzazione deve garantire una scelta di lotti di macellazione proporzionati al numero di branchi ingrassati a seconda dei vari tipi di produzione (convenzionale, all'aperto, ecologica). Lo statuto della *salmonella* spp. o del *campylobacter* spp., se noto all'atto della macellazione, non deve, inoltre, influenzare la randomizzazione. L'autorità competente genererà il piano di randomizzazione e garantirà la sua corretta attuazione. Un esempio di tale piano si trova nella relazione della task force dell'EFSA che raccoglie i dati sulla sorveglianza delle zoonosi, riguardo alle specifiche tecniche proposte per un programma di sorveglianza coordinato sulla *salmonella* e il *campylobacter* nella carne di pollo nell'UE. I dettagli del procedimento di randomizzazione vanno comunicati alla Commissione.

## PARTE B

**Dimensione del campione****1. Dimensione del campione elementare**

- a) La dimensione del campione elementare dà il numero di lotti di macellazione da provare.
- b) Vanno prelevati almeno 384 lotti di macellazione. In previsione di mancate risposte, si preleva il 10 % in più circa delle cifre indicate.
- c) In deroga al punto b), in Estonia, Lettonia e Lussemburgo va prelevato il seguente numero di lotti di macellazione<sup>(1)</sup>:
  - i) in Estonia, almeno 96 lotti di macellazione;
  - ii) in Lettonia, almeno 120 lotti di macellazione;
  - iii) in Lussemburgo, almeno 12 lotti di macellazione.

**2. Dimensione del campione secondario**

La dimensione del campione secondario dà il numero dei singoli polli da carne da campionare per lotto di macellazione. Esso sarà di 10 volatili per individuare il *campylobacter* negli intestini ciechi e di 1 volatile per individuare il *campylobacter* e la *salmonella* nelle carcasse. I campioni degli intestini ciechi e il campione della carcassa devono provenire dallo stesso lotto di macellazione.

## PARTE C

**Raccolta, trattamento e analisi dei campioni per individuare il *campylobacter* spp nei branchi di polli da ingrasso e provare la sua resistenza antimicrobica****1. Raccolta e trasporto**

I *campylobacter* sono organismi relativamente fragili, che muoiono rapidamente all'esterno dell'intestino ospite. I campioni vanno perciò prelevati con la dovuta attenzione e analizzati rapidamente. Evitare temperature estreme; effettuare eventuali spostamenti nel modo più veloce possibile.

I campioni da prelevare devono essere intestini ciechi intatti. I campioni di intestino cieco saranno prelevati al momento dell'eviscerazione.

<sup>(1)</sup> Stima: numero di aziende (4 in Estonia, 5 in Lettonia) × 2 branchi per azienda × 2 lotti di macellazione per branco × 6 cicli all'anno. In Lussemburgo, vengono macellati solo polli da ingrasso di 3 piccoli branchi. Si preleva 1 lotto di macellazione da ciascuno di essi ogni trimestre.

La raccolta dei campioni va affidata esclusivamente a personale addestrato alle procedure standard di campionamento. L'obiettivo principale è ridurre al minimo la contaminazione esterna del contenuto cecale durante il prelievo. Il modo migliore per ottenerlo è un'accurata trazione manuale alla giunzione con l'intestino. Si prende un intestino cieco intatto per volatile; i campionatori verificano che l'intestino cieco sia pieno; in caso contrario non verrà preso in considerazione. I volatili vanno possibilmente prelevati a caso in tutto il lotto (evitando la prima parte del lotto da macellare); effettuare un campionamento in ordine sparso. I 10 intestini ciechi raccolti possono essere messi in un'unica borsa/imballaggio sterili per il trasporto.

Ogni utile informazione sul campione sarà annotata su un modulo di campionamento fornito dall'autorità competente per soddisfare i requisiti di notifica di cui alla parte E. Ogni campione, e il relativo modulo, va etichettato con un unico numero da usare dal campionamento alle prove. L'autorità competente organizzerà l'elaborazione e l'uso del sistema di numerazione unica. Lo stesso numero di identificazione del lotto di macellazione sarà usato per il campione delle carcasce.

Entro 24 ore, si trasporteranno i campioni di intestino cieco al laboratorio, dove saranno analizzati immediatamente, come intestini ciechi intatti (trasporto notturno o corriere). In caso di impedimento, i campioni vanno tenuti refrigerati almeno fino al trasporto al laboratorio; l'analisi deve avvenire entro 72-80 ore dopo il campionamento. Al laboratorio, i campioni che non possono essere provati il giorno di arrivo vanno tenuti refrigerati fino all'analisi.

In laboratorio, il contenuto cecale va rimosso in condizioni asettiche e riunito in un campione composito.

## 2. Metodo diagnostico

### 2.1. Coltura

La coltura diretta in ambiente selettivo fornisce una buona stima della diffusione dei *campylobacter*. La coltura diretta del campione va effettuata in un ambiente selettivo adatto al *campylobacter* [ambiente selettivo modificato per *campylobacter*, esente da sangue (CCDA); Karmali; o Preston agar].

Le piastre vanno incubate a  $41,5 \pm 1$  °C, in atmosfera microaerobica, per almeno  $48 \pm 2$  ore. Una crescita può essere accertata dopo 24 ore.

L'atmosfera microaerobica può essere ottenuta in incubatrici microaerobiche normalmente in commercio (miscela di gas 10 % CO<sub>2</sub>/6 % O<sub>2</sub>). In mancanza di tali incubatrici, si possono usare sistemi di coltura microaerobici come i contenitori di gas. Esistono in commercio sistemi d'imballaggio sotto gas che forniscono un'atmosfera microaerobica adeguata.

Per ogni lotto di campioni messo a coltura, vanno previsti adeguati controlli positivi e negativi.

### 2.2. Conferma e speciazione del genere *campylobacter*

L'isolamento e la conferma di organismi di *campylobacter* devono avvenire secondo la norma ISO 10272-1:2006(E). Effettuare la speciazione di almeno un isolato di *campylobacter* per lotto usando metodi fenotipici secondo la norma ISO 10272-1:2006(E) o metodi molecolari come le tecniche di reazione a catena della polimerasi (PCR). Indicare i metodi usati. Utilizzare l'isolato speciato per la successiva prova di resistenza antimicrobica.

Se un laboratorio non ha molta esperienza nel campo della speciazione, conserva l'isolato come descritto al punto 2.4 per il tempo necessario a un'adeguata formazione o lo invia a un laboratorio con maggior esperienza, dopo aver consultato il laboratorio comunitario di riferimento per il *campylobacter*.

### 2.3. Controllo di qualità

A garanzia della qualità, occorre inviare al laboratorio comunitario di riferimento per il *campylobacter*, a fini di conferma e speciazione, una parte degli isolati di *campylobacter* spp. (non più di 8).

Una parte di tali isolati va inviata al laboratorio in un unico lotto o trimestralmente. L'eventuale trasporto degli isolati da un laboratorio all'altro va effettuato in modo appropriato (per esempio in tamponi di carbone).

### 2.4. Conservazione

Se è garantita la sopravvivenza dei ceppi per almeno 2 anni, si conserva almeno un isolato per campione positivo presso i LNR, con il normale metodo di raccolta delle colture degli LNR.

### 2.5. Prove della resistenza antimicrobica

Nella sorveglianza della resistenza antimicrobica, vanno inclusi 170 isolati di *campylobacter* per Stato membro. Nella sorveglianza non va incluso più di 1 isolato per specie di *campylobacter* proveniente dallo stesso lotto di macellazione.

Negli Stati membri in cui, in un determinato anno, è disponibile un numero di isolati inferiore alla dimensione prescritta del campione, tali isolati vanno tutti inclusi nella sorveglianza della resistenza antimicrobica.

Negli Stati membri in cui è disponibile un numero di isolati superiore, vanno inclusi tutti gli isolati oppure un campione rappresentativo casuale di dimensione pari o maggiore a quella prescritta del campione.

Gli Stati membri proveranno almeno gli antimicrobici di cui alla tabella 1, usando i valori limite dati e un'adeguata gamma di concentrazioni per determinare la sensibilità del *campylobacter*.

Tabella 1

	Antimicrobico	Valore limite (mg/l) R >
<i>Campylobacter jejuni</i>	Eritromicina	4
	Ciprofloxacina	1
	Tetraciclina	2
	Streptomicina	2
	Gentamicina	1
<i>Campylobacter coli</i>	Eritromicina	16
	Ciprofloxacina	1
	Tetraciclina	2
	Streptomicina	4
	gentamicina	2

Le diluizioni avverranno con i metodi di cui agli orientamenti M31-A3, Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals (Third Edition) e M100-S16, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing (Sixteenth International Supplement), del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

## PARTE D

### Raccolta, trattamento e analisi dei campioni per individuare il *campylobacter* spp. e la *salmonella* spp. nelle carcasse di polli da ingrasso

#### 1. Raccolta e trasporto

Immediatamente dopo la refrigerazione ma prima di ulteriori trasformazioni (come congelamento, taglio o imballaggio), si preleva un'intera carcassa per lotto di macellazione. I campioni sono prelevati dopo il pre-raffreddamento nei macelli in cui questa fase è l'ultima prima di ulteriori trasformazioni.

Il campione prelevato, messo in un sacchetto separato di plastica sterile per evitare contaminazioni trasversali, è inviato al laboratorio che effettua il campionamento della pelle.

Durante la raccolta delle carcasse, va evitata la contaminazione trasversale da altre carcasse o da altri campioni di intestini ciechi. Bisogna perciò sempre prendere ogni precauzione per escludere che l'attrezzatura usata per il campionamento, il trasporto e la conservazione non sia contaminata con gli agenti patogeni studiati nell'indagine.

Ogni utile informazione sul campione va annotata su un modulo di campionamento fornito dall'autorità competente per soddisfare i requisiti di registrazione di cui alla parte E.

Ogni campione, e il relativo modulo, va etichettato con un unico numero da usare dal campionamento alle prove. L'autorità competente organizzerà l'elaborazione e l'uso del sistema di numerazione unica. Lo stesso numero di identificazione del lotto di macellazione sarà usato per i campioni di intestino cieco.

Durante eventuali trasporti, i campioni vanno tenuti a una temperatura tra 2 e 8 °C ed esenti da contaminazione esterna.

Sarebbe bene che tutti i campioni raggiungessero il laboratorio entro 24 ore dal campionamento. In situazioni eccezionali (viaggi lunghi, fine settimana, feste nazionali), tale periodo può essere portato a 80 ore.

Se si usano più laboratori per le prove sul *campylobacter* e sulla *salmonella*, quello che prova il *campylobacter* avrà la precedenza per il ricevimento del campione.

## 2. Campionamento in laboratorio e metodi d'analisi

### 2.1. Ricevimento dei campioni

Al ricevimento dei campioni, i laboratori controllano le informazioni registrate dal campionatore e completano le pertinenti sezioni del modulo di campionamento.

In laboratorio, i campioni vanno tenuti a una temperatura di + 2-8 °C e la procedura di campionamento comincerà appena possibile dopo l'arrivo dei campioni al laboratorio e comunque entro 72/80 ore dall'atto del campionamento.

### 2.2. Preparazione del campione

Prima delle prove, si accerta l'integrità dell'imballaggio di trasporto esaminando tutti i campioni ricevuti.

In tutte le fasi, gli operatori eviteranno contaminazioni trasversali tra campioni e dall'ambiente circostante.

Indossando guanti monouso, essi rimuoveranno il pollo dalla scatola del campione, stando attenti a non contaminare la superficie esterna del volatile.

Servendosi di strumenti sterili e in condizioni asettiche, si toglie la pelle del collo, se presente, insieme a quella di un lato della carcassa, senza grasso, per comporre una porzione di prova di 27 g, ponendola in un sacchetto per stomacher (o nel pulsifier).

### 2.3. Sospensione iniziale

La porzione di prova da 27 g viene aggiunta a 9 volumi d'acqua (243 ml) con tampone di peptone (Buffered Peptone Water — BPW) portata in precedenza a temperatura ambiente. La miscela va trattata in uno stomacher o in un pulsifier per circa 1 minuto (sono necessari 27 g per l'analisi parallela di *salmonella* spp. e *campylobacter* spp. da uno stesso campione). Evitare la formazione di schiuma sottraendo allo stomacher tutta l'aria possibile.

La sospensione iniziale sarà utilizzata nel modo che segue:

- a) per individuare il *campylobacter* spp. si aggiungono 10 ml (~1g) a 90 ml del mezzo d'arricchimento;
- b) si aggiungono 10 ml (~1g) a una pipetta sterile vuota; 1 ml si usa per conteggiare il *campylobacter* spp. su piastre selettive.

Il resto della sospensione iniziale (250 ml, ~25g) si usa per individuare la *salmonella* spp.

### 2.4. Metodi di individuazione e d'identificazione della *salmonella* spp.

#### 2.4.1. Individuazione della *salmonella* spp.

La *salmonella* spp. viene individuata in base alla norma ISO 6579-2002 (E). «Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of *salmonella* spp.»



#### 2.4.2. Sierotipizzazione della *salmonella* spp.

Usando lo schema Kaufmann-White, il LNR per la *salmonella* tipizzerà almeno un isolato per ogni campione positivo.

A garanzia della qualità, una parte di isolati non tipizzabili (16 al massimo) va inviata all'LCR per la *salmonella*. Una parte di tali isolati sarà inviata a tale laboratorio con scadenza trimestrale.

#### 2.4.3. Fagotipizzazione della *salmonella* spp.

Per la *S. Enteritidis* e la *S. Typhimurium*, si raccomanda che almeno un isolato di ogni campione positivo sia fagotipizzato, usando il protocollo definito dall'Agenzia per la tutela della salute (HPA), Colindale, Londra.

### 2.5. Metodi d'individuazione, d'identificazione e di quantificazione del *campylobacter* spp.

#### 2.5.1. Individuazione del *campylobacter* spp.

L'isolamento e la conferma di organismi di *campylobacter* devono avvenire secondo la norma ISO 10272-1:2006 (E). Effettuare la speciazione di almeno un isolato di *campylobacter* per lotto usando metodi fenotipici secondo la norma ISO 10272-1:2006 (E) o metodi molecolari come le tecniche di reazione a catena della polimerasi (PCR). Indicare i metodi usati.

A garanzia della qualità, occorre inviare all'LCR per il *campylobacter*, a fini di conferma e speciazione, una parte degli isolati di *campylobacter* spp. (non più di 8).

Una parte degli isolati va inviata a tale laboratorio con scadenza trimestrale. L'eventuale trasporto degli isolati da un laboratorio all'altro va effettuato in modo appropriato (per esempio in tamponi di carbone).

#### 2.5.2. Quantificazione del *campylobacter* spp.

L'individuazione quantitativa del *campylobacter* spp. deve avvenire secondo la norma ISO/TS 10272-2:2006 «Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for detection and enumeration of *campylobacter* spp. Part 2: Colony-count technique». A partire da 10 ml di sospensione iniziale, si esamina 0,1 ml di tale sospensione e delle sue ulteriori diluizioni per permettere di conteggiare fino a  $10^6$  CFU/g. Si esamina inoltre 1 ml di sospensione iniziale non diluita per ottenere un limite di conteggio di 10 CFU/g. Tutti i conteggi su piastre sono fatti 2 volte.

Per permettere una comparazione e un giudizio corretti sui dati (per future valutazioni di rischio), per ogni laboratorio si stima l'incertezza di misurazione (IM) del metodo di individuazione quantitativa.

Per stimare l'IM, si ricorre alla specifica tecnica ISO/TS 19036:2006 quando, per tale stima, non si usano le diluizioni parallele della sospensione iniziale.

La IM è derivata dalla deviazione standard, interna al laboratorio, della riproducibilità. I dati sulla stima dell'IM vanno raccolti da maggio a settembre per garantire campioni positivi. Si esamineranno, 2 volte, 12 campioni positivi in tutto e si prepareranno diluizioni parallele a partire dalla sospensione iniziale di 10 ml. I dati originali sulla stima dell'IM vanno comunicati separatamente come parte della descrizione complessiva sull'indagine eseguita, come precisato nella parte E.

### 3. Stoccaggio degli isolati

Si raccomanda di conservare un sottoinsieme rappresentativo di isolati al fine, per esempio, di provarne in un secondo tempo la sensibilità antimicrobica. Va conservato un isolato per campione positivo. È preferibile conservare l'isolato di *campylobacter* ottenuto dall'analisi quantitativa. Se è garantita la sopravvivenza dei ceppi per almeno 2 anni, gli isolati vanno conservati presso gli LNR, con il normale metodo di raccolta delle colture dell'LNR.

#### PARTE E

#### Relazioni

Le relazioni devono contenere almeno le seguenti informazioni:

##### 1) Descrizione complessiva dell'attuazione dell'indagine:

— macelli: numero totale per paese e numero di quelli sottoposti a campionamento,

- dimensione del campione elementare realizzato,
- descrizione delle procedure di stratificazione e randomizzazione,
- descrizione delle attività di controllo della qualità che comprenda una relazione sulle 12 stime dell'IM effettuate per laboratorio in relazione alla quantificazione del *campylobacter*,
- risultati complessivi;

2) Informazioni specifiche riguardo ai dati sulla diffusione

Gli Stati membri presentano i risultati della ricerca in forma di dati grezzi usando un dizionario dei dati e i formulari per la loro raccolta, forniti dalla Commissione.

Tali dati comprenderanno almeno le seguenti informazioni:

- nome/codice del macello,
- numero di identificazione del lotto di macellazione,
- nome/codice dell'azienda agricola d'origine del lotto di macellazione,
- dimensione dell'azienda, se nota,
- stato di vaccinazione del branco contro la *salmonella*, se noto,
- età dei polli da ingrasso all'atto del campionamento (macello),
- indicazione se il lotto di macellazione di un determinato branco fosse il primo o uno successivo (precedente o no l'assottigliamento),
- tipo di produzione (convenzionale, all'aperto, ecologica),
- risultati di prove precedenti sulla *salmonella* e il *campylobacter* nello stesso branco,
- data del campionamento,
- numero di volatili macellati all'anno in tale macello,
- metodo di refrigerazione impiegato (aria, immersione, spray),
- particolari del protocollo di trasporto (come precisato: S/N),
- data di ricevimento da parte del laboratorio,
- data del test,
- identificazione del laboratorio,
- tipo di campione,
- descrizione dei metodi di coltura usati, in particolare del/degli ambienti selettivi,
- isolati di *campylobacter*: metodo di speciazione,

- *campylobacter*: risultato della prova batteriologica, compresa la speciazione a partire dal campione cecale,
  - *campylobacter*: risultato della prova batteriologica, compresa la speciazione e la quantificazione a partire dal campione di carcasse,
  - *salmonella*: risultato della prova batteriologica e della sierotipizzazione,
  - lasso di tempo tra campionamento e analisi (periodi di 12 ore);
- 3) Informazioni specifiche riguardo alla prova di resistenza agli antimicrobici degli isolati di *campylobacter* di campioni provenienti dall'intestino cieco.

Conformemente all'articolo 9 della direttiva 2003/99/CE, i risultati sulla sorveglianza della resistenza agli antimicrobici vanno valutati e trasmessi nella relazione annuale sulle tendenze e le fonti delle zoonosi, degli agenti zoonotici e della resistenza agli antimicrobici.

Fatte salve le disposizioni dell'allegato IV della direttiva 2003/99/CE, vanno comunicate le seguenti informazioni:

- origine degli isolati, cioè studio di riferimento, programma di controllo, sorveglianza passiva,
  - numero di isolati per specie di *campylobacter* sottoposti alla prova di sensibilità,
  - numero di isolati risultati resistenti, per antimicrobico e per specie di *campylobacter*, nonché
  - numero di isolati totalmente sensibili e numero di isolati resistenti agli antimicrobici 1, 2, 3, 4 e > 4 di cui alla tabella 1, per specie di *campylobacter*.
-

## ALLEGATO II

**Contributo finanziario massimo della Comunità agli Stati membri**

(EUR)

Stato membro	Importo totale massimo per il cofinanziamento del campionamento e delle analisi
Belgio — BE	58 092
Bulgaria — BG	58 092
Repubblica ceca — CZ	58 092
Danimarca — DK	58 092
Germania — DE	58 092
Estonia — EE	14 688
Irlanda — IE	58 092
Grecia — EL	58 092
Spagna — ES	58 092
Francia — FR	58 092
Italia — IT	58 092
Cipro — CY	58 092
Lettonia — LV	18 360
Lituania — LT	58 092
Lussemburgo — LU	1 836
Ungheria — HU	58 092
Malta — MT	58 092
Paesi Bassi — NL	58 092
Austria — AT	58 092
Polonia — PL	58 092
Portogallo — PT	58 092
Romania — RO	58 092
Slovenia — SI	58 092
Slovacchia — SK	58 092
Finlandia — FI	58 092
Svezia — SE	58 092
Regno Unito — UK	58 092
Totale	1 429 092

## ALLEGATO III

**Relazione finanziaria certificata sull'attuazione di un'indagine relativa alla diffusione e alla resistenza agli antimicrobici del *campylobacter* spp. nei branchi di polli da ingrasso e alla diffusione del *campylobacter* spp. e della *salmonella* spp. nelle carcasse di pollo**

Periodo di riferimento: dal ..... al .....

**Dichiarazione relativa alle spese sostenute per l'indagine e ammissibili al contributo finanziario della Comunità**

Numero di riferimento della decisione della Commissione relativa al contributo finanziario della Comunità:

.....  
 .....

Spese sostenute in rapporto a:	Numero di prove	Totale delle spese sostenute per le prove durante il periodo di riferimento (valuta nazionale)
individuazione batteriologica del <i>campylobacter</i> spp.		
individuazione batteriologica della <i>salmonella</i> spp.		
conferma del <i>campylobacter</i> spp.		
speciazione degli isolati di <i>campylobacter</i>		
conteggio degli isolati di <i>campylobacter</i>		
sierotipizzazione degli isolati di <i>salmonella</i>		
prove di resistenza agli antimicrobici degli isolati di <i>campylobacter</i>		

**Dichiarazione del beneficiario**

Si dichiara che:

- le spese di cui sopra sono state effettivamente sostenute per espletare i compiti previsti dalla presente decisione ed erano indispensabili alla corretta esecuzione di tali compiti,
- l'intera documentazione che le giustifica è a disposizione per le verifiche contabili,
- non è stato richiesto alcun altro contributo comunitario per questo programma.

**Data:** .....

**Responsabile finanziario:** .....

**Firma:** .....

\_\_\_\_\_