



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TORINO

DIPARTIMENTO DI SCIENZE VETERINARIE

SANITA' ANIMALE, ALLEVAMENTO E PRODUZIONI ZOOTECNICHE

COORTE 2018/2021

ESAME FINALE

Studio delle relazioni tra gestione aziendale e utilizzo del farmaco in allevamenti bovini a produzione lattifera del territorio Alessandrino e incidenza di mastiti, correlati a fenomeni di antimicrobico-resistenza.

RELATORE

Prof. Giovanni Re

CORRELATORE

Dott. Franco Piovano

CANDIDATA

Jessica Vesco

Anno Accademico 2020/21

Sommario

INTRODUZIONE	2
Mastite e Antimicrobico-Resistenza.....	4
BIOSICUREZZA E INDICATORI DI CORRETTO MANAGEMENT AZIENDALE	6
Principi generali	6
Piano di gestione sanitaria (PGS).....	6
Igiene ambiente, attrezzature e strutture	7
Alimenti e gestione della razione	7
Acqua di abbeverata.....	7
Locali e igiene di stabulazione	7
Qualità dell'aria e condizioni climatiche.....	8
Gestione delle deiezioni e smaltimento dei liquami	9
Procedure di pulizia e disinfezione	9
Principali indicatori di corretta gestione aziendale	10
Gestione dell'impianto di mungitura e della routine di mungitura	11
Routine di mungitura.....	11
Gestione dell'impianto di mungitura.....	12
Gestione sanitaria dell'allevamento.....	13
Formazione del personale	13
Diagnosi di laboratorio	13
Conta delle Cellule Somatiche (SCC).....	14
Esame colturale	15
Programma vaccinale	16
USO DELL'ANTIMICROBICO	17
Aspetti generali.....	17
Uso dell'antibiotico negli allevamenti di bovine da latte	17
Test di sensibilità agli antibiotici.....	21
Categorizzazione delle classi di antibiotici secondo l'EMA	23
OBIETTIVI.....	25
MATERIALI E METODI.....	25
INFORMAZIONI SUL MANAGEMENT DI STALLA PER OGNI AZIENDA.....	25
INFORMAZIONI SULL'UTILIZZO DEL FARMACO ANTIMICROBICO.....	30
INDAGINI BATTERIOLOGICHE E ANTIBIOGRAMMI SU CAMPIONI DI LATTE	32

Protocollo di campionamento di latte di singolo quarto per la ricerca di germi mastidogeni, consegna al laboratorio e successiva analisi	33
PASSAGGIO DI GERMI E RELATIVE RESISTENZE DAGLI ANIMALI AGLI OPERATORI	44
RISULTATI	45
Passaggio di germi dagli animali all'uomo	47
DISCUSSIONI E CONCLUSIONI	48
BIBLIOGRAFIA.....	49

INTRODUZIONE

L'uso copioso e spesso improprio degli antimicrobici negli ultimi decenni ha condotto alla comparsa di microrganismi multi-resistenti che, da qualche tempo, sono oggetto di grande attenzione in Sanità Pubblica perché responsabili di infezioni umane divenute pressoché incurabili.

Nella Comunità Europea si stimano 25mila morti ogni anno per infezioni causate da batteri resistenti con costi sanitari aggiuntivi ingenti (ECDC,2018).

Considerata la gravità di questo fenomeno, si sta cercando di intervenire a livello globale con attività volte alla riduzione del consumo di antimicrobico sia in campo umano che in medicina veterinaria. Infatti, la medicina veterinaria e le attività zootecniche sono ampiamente coinvolte in questa problematica sanitaria. E' ormai scientificamente provato uno scambio continuo e reciproco di microrganismi tra animale, ambiente e uomo. Tale fenomeno può avvenire attraverso il contatto diretto uomo-animale, tramite i reflui dispersi nell'ambiente oppure ancora tramite gli alimenti di origine animale. (Linee Guida IZLER, 2018)

Le resistenze che si creano in allevamento, quindi, possono diffondersi nella comunità.

Per questo il fenomeno dell'antimicrobico-resistenza è un problema che deve essere affrontato in una logica "One Health", essendo salute umana, salute animale ed ambiente fra di loro interconnessi. Veterinari, allevatori e tutti gli operatori del settore alimentare quindi sono chiamati ad un uso razionale e prudente dell'antibiotico.

È fondamentale quindi prendere in considerazione un approccio olistico "from farm to fork", per tutelare la salute umana, l'ambiente, e anche la qualità delle produzioni animali, sempre più richiesta dai consumatori.

Tuttavia nonostante in zootecnia dal 2006 sia vietato l'uso degli antimicrobici a scopo auxinico, siano state intraprese azioni restrittive e sia molto forte l'attenzione dell'opinione pubblica sull'argomento, ancora oggi il ricorso agli antimicrobici non sempre risulta razionale, comportando inevitabilmente la diffusione del fenomeno dell'antimicrobico-resistenza (AMR) con potenziali rischi anche per la salute pubblica umana. (Linee Guida IZLER, 2018).

Mastite e Antimicrobico-Resistenza

Se si contestualizza il fenomeno dell'antimicrobico-resistenza nell'allevamento della vacca da latte il cui obiettivo principale è quello di massimizzare le produzioni, la mastite (intesa come un'inflammatione della ghiandola mammaria) risulta uno dei problemi principali che affligge questo settore.

Le patologie a carico dell'apparato mammario, nonostante decenni di ricerche, continuano ad essere una delle principali problematiche sanitarie nell'allevamento bovino da latte, con conseguenti perdite economiche, a causa della continua evoluzione delle tecniche di allevamento e della notevole capacità di adattamento alle nuove situazioni epidemiologiche da parte degli agenti patogeni. (Fusi, 2018)

Le infezioni mammarie possono essere provocate da agenti eziologici differenti, distinguibili in tre macro-categorie:

- Agenti infettivi contagiosi: sono compresi tutti quei microrganismi che presentano un elevato tropismo per il tessuto mammario. Questa categoria di patogeni dimostra un'elevata resistenza e un'alta prolificità quando si trova a contatto con la ghiandola mammaria e al contrario, si presenta particolarmente delicata e sensibile quando si ritrova nell'ambiente esterno. La principale fonte di contagio per questi batteri è il contatto diretto delle mammelle dei soggetti sani con il latte infetto. Nella realtà dell'allevamento della bovina da latte, il principale momento di veicolazione dell'infezione tra i componenti della mandria risulta essere la mungitura e tutte le attività ad essa correlate. Le specie batteriche più diffuse che rientrano in questa categoria sono *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium bovis*, *Mycoplasma spp*;
- Agenti ambientali: sono compresi quei batteri per i quali, al contrario dei precedenti, il reservoir principale è rappresentato dall'ambiente esterno. Questi patogeni trovano il loro habitat naturale nella realtà dell'allevamento, ritrovandosi principalmente nel suolo, nelle falde acquifere contaminate, nelle deiezioni degli animali stessi e nella lettiera. Queste rappresentano le principali fonti di contagio e diffusione di questi microrganismi; l'infezione delle mammelle di animali sani con questi batteri avviene non durante la mungitura, ma piuttosto nel tempo che intercorre tra due mungiture consecutive, periodo nel quale il capezzolo si presenta più esposto e suscettibile alla colonizzazione da parte di germi

ambientali, trovandosi a diretto contatto con le deiezioni o la lettiera. Le specie batteriche più frequenti appartenenti a questa categoria sono *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, altri streptococchi (*S. parauberis*, *S. equinus*, *S. canis.*), *Escherichia coli*;

- Agenti opportunisti: sono quei batteri che risiedono normalmente sull'epidermide degli animali, ma anche nell'ambiente; tendenzialmente non rappresentano un rischio per la salute della bovina, ma possono aumentare il loro grado di patogenicità in seguito a modificazioni dello stato immunitario del soggetto. Stati di immunosoppressione marcata e/o prolungata rappresentano il principale fattore di rischio per questo tipo di patogeni. A questa categoria di batteri appartengono diverse specie di Stafilococchi, accomunati dalla caratteristica di produrre colonie coagulasi-negative (vengono anche denominati Stafilococchi Coagulasi-Negativi, CNS).

Nell'ambito degli obiettivi del presente studio, l'interesse maggiore è rivolto ai microrganismi ambientali che rappresentano ad oggi il problema più rilevante, in quanto una non corretta gestione dell'ambiente in cui sono stabulate le vacche (scarsa igiene dei locali e delle lettiere) nonché un'errata gestione della sala e della routine di mungitura determinano un potenziale continuo bacino di infezione.

L'utilizzo degli antimicrobici per la terapia della mastite quindi, contribuisce ancora oggi in molte realtà a mantenere elevata la pressione selettiva nei confronti di microrganismi che potrebbero divenire pericolosi non solo per gli animali ma anche per gli operatori qualora si venissero a scatenare fenomeni di antimicrobico-resistenza (Kossaibati and Esslemont, 1997).

Al fine del contenimento dell'antimicrobico-resistenza nel settore bovino da latte, il mondo scientifico è concorde nel sostenere che in tutte le realtà zootecniche, dalle più industrializzate a quelle la cui gestione mantiene ancora standard propri delle realtà "di nicchia", la prevenzione delle mastiti attraverso l'attuazione di misure di biosicurezza e l'ottimizzazione del management aziendale, ivi compresa la routine di mungitura e la manutenzione dell'impianto di mungitura, risultano indispensabili per limitare l'insorgenza di infezioni e la diffusione di batteri resistenti. Risulta ovviamente altrettanto essenziale l'utilizzo corretto degli antimicrobici (Bertocchi, 2016).

BIOSICUREZZA E INDICATORI DI CORRETTO MANAGEMENT AZIENDALE

Principi generali

L'insorgenza delle malattie infettive è data dalla combinazione di diversi fattori che riguardano l'animale, l'ambiente di allevamento e la circolazione di agenti infettanti. Il rispetto del benessere animale, l'adozione di buone pratiche di allevamento, un'alimentazione bilanciata e un'accurata igiene ambientale consentono all'animale di essere meno soggetto alle malattie ed esprimere al meglio il proprio potenziale produttivo, con minori spese per terapie e rimonta. (Constable, 2008)

Piano di gestione sanitaria (PGS)

Per ridurre il rischio di introduzione e di diffusione di patologie in allevamento, tra cui la mastite, l'allevatore, sotto la guida del veterinario aziendale, dovrebbe adottare un piano di gestione sanitaria (o più semplicemente piano di autocontrollo) che includa misure di biosicurezza esterna e biosicurezza interna e procedure gestionali.

L'adozione del piano deve diventare lo strumento per proteggere in maniera efficace gli allevamenti dalle malattie, garantendone efficienza produttiva, sanità e redditività e assicurando nel contempo una riduzione del consumo di sostanze antimicrobiche.

Nella stesura del piano, l'allevatore e il veterinario aziendale devono tenere in considerazione i principali fattori legati all'azienda, quali:

- dimensioni e specifiche caratteristiche aziendali (es. utilizzo del pascolo, tipo di struttura, presenza di locali esterni ecc.) e relativa gestione;
- principali problematiche sanitarie dell'allevamento e dell'area in cui si trova;
- valutazione del rischio che una specifica malattia venga introdotta e/o si diffonda nell'allevamento.

Nel piano sanitario è inoltre opportuno fissare obiettivi chiari e realistici, definire gli interventi necessari strutturali e gestionali, definire le varie responsabilità dell'attuazione delle misure previste nel piano e la frequenza non solo degli interventi a livello pratico, ma anche frequenza periodica in cui verificare i risultati ed eventualmente revisionare il piano per raggiungere gli obiettivi previsti. (EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) 2012).

Di seguito vengono illustrate le misure di biosicurezza rivolte principalmente al contenimento e all'eradicazione delle mastiti bovine, che comportano di norma un cospicuo consumo di antibiotici. Vengono analizzati quindi in dettaglio i principali punti critici da considerare nella stesura del PGS.

Igiene ambiente, attrezzature e strutture

Alimenti e gestione della razione

Gli alimenti non correttamente gestiti, somministrati o mal conservati possono diventare veicolo di trasmissione di numerosi agenti patogeni. Gli alimenti devono essere correttamente stoccati (in aree alle quali sia impedito l'accesso da parte di animali domestici e selvatici), privi di muffe, contaminanti chimici, contaminanti fisici (terra). Particolare attenzione andrà rivolta al controllo delle micotossine anche mediante specifiche analisi in regime di autocontrollo.

Acqua di abbeverata

L'acqua di abbeverata deve preferibilmente provenire da fonti sicure (acquedotto); qualora si utilizzi acqua di pozzo, è comunque consigliabile sottoporla a test chimici e microbiologici almeno una volta l'anno.

Inoltre è molto importante che gli abbeveratoi siano:

- Di facile e rapida pulizia;
- In zona pavimentata in cemento e lontani dalla lettiera;
- Con idonei distanziatori e ad una altezza adeguata ad evitare la contaminazione fecale;
- Puliti frequentemente.

Locali e igiene di stabulazione

L'adeguatezza delle strutture, la corretta ventilazione degli edifici e una gestione ottimale delle deiezioni e della lettiera aiutano a prevenire l'insorgere di malattie, nonché di mastiti.

La lettiera deve essere sempre pulita ed asciutta, deve essere rabboccata quotidianamente e sostituita completamente al massimo ogni 6 mesi.

La bovina da latte rimane infatti in decubito 9 – 14 ore al giorno, pertanto una lettiera umida e sporca aumenta significativamente il rischio di insorgenza di infezioni mammarie. Le vacche e le manze allevate nei fabbricati dovrebbero avere a disposizione un'area per il decubito ricoperta con materiale asciutto, sufficiente, comprimibile, non scivoloso e che non provochi lesioni (EFSA Journal 2012).

Si sottolinea l'importanza della corretta gestione della lettiera e del rispetto degli spazi di stabulazione anche per tutto il periodo dell'asciutta, in cui è elevato il rischio di insorgenza di nuove infezioni mammarie, che tendono a manifestarsi nelle prime settimane dopo il parto.

Il pavimento dei locali di stabulazione deve essere adeguato, pieno o fessurato, idoneo, rugoso e non scivoloso su tutte le superfici di camminamento.

L'area di riposo deve essere ricoperta di materiale da lettiera adeguato per evitare l'insorgenza di lesioni e per garantire la pulizia degli animali.

Gli spazi devono essere sufficienti nelle aree di riposo, così come il numero di posti in mangiatoia per ogni box deve essere adeguato alla consistenza di animali per box.

Anche la tipologia di stabulazione deve essere ottimale: la possibilità di accesso ad un'area di esercizio esterna (e/o pascolo) per tutti i gruppi produttivi garantirebbe un livello di benessere ottimale. In alternativa è preferibile la presenza di cuccette (pulite periodicamente) rispetto alla lettiera permanente. La presenza della posta fissa rimane invece una condizione obsoleta.

Qualità dell'aria e condizioni climatiche

La qualità dell'aria e le condizioni climatiche sono importanti per la salute e il benessere dei bovini e del personale. La qualità dell'aria dipende dalla concentrazione di alcuni gas naturalmente prodotti dalle deiezioni animali e dalla respirazione (ammoniaca, solfuro di idrogeno, monossido di carbonio e metano) e delle polveri, nonché dalla carica microbica presente nell'aria della stalla e nelle aree circostanti.

Una buona ventilazione unita a una corretta gestione delle deiezioni garantiscono non solo una qualità dell'aria accettabile, ma anche temperatura e umidità adeguate, due parametri fondamentali sia per garantire il benessere animale che per prevenire l'insorgenza di infezioni mammarie.

Gestione delle deiezioni e smaltimento dei liquami

La corretta gestione delle deiezioni limita i rischi sanitari legati alla trasmissione delle infezioni da un reparto all'altro dell'allevamento (nel caso delle mastiti è molto importante per la prevenzione delle infezioni da germi mastidogeni ambientali).

La gestione ottimale delle deiezioni prevede nel caso delle cuccette:

- impiego dei raschiatori automatici 3-4 volte/giorno nelle corsie di servizio, o almeno 1 volta al giorno in assenza di un sistema automatico;
- corretto flusso di rimozione: dall'area meno a rischio (giovani) a quella più a rischio (adulti);
- rinnovo delle lettiere almeno 1 volta ogni 2 giorni (1,5 – 2,5 kg di paglia/capo/die per uno spessore di 15-20 cm oppure 1,1 - 1,7 kg di segatura 2/3 volte a settimana oppure 4,5 - 5,5 kg di sabbia/capo/settimana):

Nel caso della lettiera permanente:

- 5/6 kg di paglia/capo/giorno (densità media di 7/8 metri quadri per capo);
- Pulizia quotidiana dell'area di esercizio;
- Eliminazione delle deiezioni accumulate ogni 2/3 mesi.

L'utilizzo promiscuo di attrezzature per la pulizia delle lettiere e per la somministrazione di alimenti deve essere evitato, così come il passaggio dei mezzi in corsia di alimentazione con ruote sporche di feci e/o fango.

Le vasche di raccolta di liquami devono soddisfare gli standard minimi di legge e devono essere abbastanza capienti in modo da poter contenere almeno 6 mesi di produzione, riducendo così la necessità di svuotamenti frequenti. Infatti lo stoccaggio prolungato (di almeno 4 settimane) neutralizza la maggior parte dei microrganismi patogeni.

Procedure di pulizia e disinfezione

La disinfezione di ambienti ed attrezzature deve essere effettuata con adeguata frequenza.

Dev'essere sempre preceduta da un'accurata pulizia e detersione, in quanto i disinfettanti hanno poca o nessuna azione su superfici sporche. Il materiale organico infatti fornisce protezione ai microrganismi e inattiva il disinfettante, impedendone l'azione.

Una prima pulizia grossolana può essere effettuata mediante pale e raschiatori manuali o meccanici e successivamente perfezionata mediante l'utilizzo di idropultrici e detergenti.

Prima di reintrodurre gli animali è necessario lasciare asciugare perfettamente gli ambienti e le attrezzature trattate, anche in considerazione del fatto che molti microrganismi vengono neutralizzati in ambiente secco.

Principali indicatori di corretta gestione aziendale

Nella seguente Tabella sono riportati i principali indicatori gestionali, caratteristici dell'allevamento della bovina da latte (Bertocchi L. et al, 2016, CReNBA).

Parametro di valutazione	Livello di accettabilità	Livello ottimale
Stato di nutrizione (bovine in lattazione, asciutte e manze)	Meno del 10% di animali con valori di BCS oltre i limiti accettabili (< 2.5 e > 4.25 punti)	Meno del 5 % di animali con valori di BCS oltre i limiti accettabili (<2.5 e >4.25 punti)
Pulizia degli animali in tutti i gruppi (bovine in lattazione e in asciutta, manze)	10-20% di animali sporchi in almeno 2 delle 3 aree seguenti: - quarti posteriori (coscia, fianco e parte posteriore del corpo inclusa la coda) - estremità distale degli arti posteriori - mammella.	<10% di animali sporchi in almeno 2 delle 3 aree seguenti: - quarti posteriori (coscia, fianco e parte posteriore del corpo inclusa la coda) - estremità distale degli arti posteriori - mammella.
Sanità della mammella	Media Geometrica Somatic Cellular Count (SCC) 300-400.000 / ml	Media Geometrica Somatic Cellular Count <300.000/ml Assenza di agenti di mastite contagiosa nel latte di massa (<i>S.agalactiae</i> , <i>S.aureus</i> , <i>M.bovis</i> , <i>Prototheca</i>)
Numero di bovine trattate per mastite clinica negli ultimi 12 mesi	40-80% rispetto al n. di bovine in lattazione presenti al momento dell'ispezione	<40% rispetto al n. di bovine in lattazione presenti al momento dell'ispezione

Superficie disponibile per il decubito	vacche (lattazione e asciutte): 6 – 7 mq/capo su lettiera permanente o n. di cuccette utilizzabili almeno = al n. di capi ☐ manze: 3.5 – 4 mq/capo su lettiera permanente o n. di cuccette utilizzabili almeno = al n. di capi	vacche (lattazione e asciutte): > 7 mq/capo su lettiera permanente o n. di cuccette utilizzabili > del 10% rispetto al n. di capi ☐ manze: > 4 mq/capo su lettiera permanente o n. di cuccette utilizzabili > del 10% rispetto al n. di capi
Adeguatezza dell'area di riposo (La valutazione deve essere effettuata a distanza di almeno 2 ore dalla mungitura o dalla distribuzione dell'alimento)	Cuccette occupate per almeno il 50 – 70%.	Utilizzo completo ed uniforme degli spazi di riposo a lettiera permanente o a cuccette.
Infermeria	Presenza di infermeria dedicata al ricovero ed isolamento degli animali infetti che presentano mastite clinica	
Adeguatezza della posta in rastrelliera	Le dimensioni (per capo) devono essere: - ≥ 68 cm per vacche in lattazione ed asciutte; - ≥ 50 cm per manze;	
Dimensioni degli abbeveratoi	- Manze: almeno 1 abbeveratoio a tazzetta ogni 15 capi o almeno 5 cm lineari/capo per abbeveratoi a vasca; - Vacche (lattazione e asciutta): almeno 1 abbeveratoio a tazzetta ogni 10 capi o almeno 7 cm lineari/capo per abbeveratoi a vasca.	
Pulizia e gestione dello spazio adibito al decubito	Pulito, asciutto e con ricambio frequente della lettiera in tutti i gruppi	

Gestione dell'impianto di mungitura e della routine di mungitura

Routine di mungitura

Per "routine di mungitura" si intende l'insieme di attività da svolgere regolarmente nella quotidianità durante la mungitura della bovina per ottimizzare le produzioni e migliorare le condizioni igienico sanitarie della mammella, favorendo quindi la prevenzione delle mastiti. (Japertiene, (2007).

Una corretta routine di mungitura è indispensabile per la sanificazione della mammella, favorire l'eiezione del latte, ridurre la migrazione microbica dalla cute verso il canale del capezzolo e limitare la trasmissione delle infezioni. (Feldmann, 2006)

I passaggi fondamentali per una corretta routine di mungitura sono i seguenti:

- regolarizzare l'orario di ingresso in sala mungitura (ciò influisce sul rilascio condizionato di latte);

- limitare lo stress nell'accesso alla sala mediante buone pratiche operative, quali il rispetto del benessere animale, il rispetto della consistenza della sala di attesa, una buona ventilazione ecc. (il cortisolo, rilasciato in caso di stress, riduce la liberazione ossitocina, ormone implicato nell'eiezione del latte);
- separare i capi mastitici e mungerli separatamente;
- Indossare guanti monouso durante le operazioni di mungitura;
- Effettuare il Pre-Dipping, ovvero l'applicazione sul capezzolo di una soluzione schiumogena contenente disinfettante (clorexidina), facendolo agire per 30 secondi prima della mungitura;
- Asciugare i capezzoli dopo un adeguato tempo di contatto con teli di cotone puliti monouso (un telo per ogni vacca);
- Effettuare lo Stripping, ovvero l'esame dei primi 3 - 4 getti di latte per valutare eventuali anomalie o presenza di coaguli e stoppini;
- Attaccare correttamente i gruppi mungitura entro 60-90 secondi (tempi di rilascio dell'ossitocina) dalla preparazione della mammella, controllando l'allineamento del gruppo al capezzolo durante la mungitura;
- Impostare lo stacco automatico (se presente) ad un flusso di 0,4 kg/min. In caso di stacco manuale interrompere il vuoto prima di rimuovere il gruppo mungitura;
- Effettuare il Post-dipping, ovvero l'applicazione di una soluzione disinfettante (a base di iodio) immediatamente dopo la rimozione del gruppo di mungitura. Assicurare una copertura completa dei capezzoli con il disinfettante. (Andrea Valiani, 2018)

Gestione dell'impianto di mungitura

Anche una buona gestione dell'impianto di mungitura è fondamentale per evitare la contaminazione del latte, degli animali, dell'uomo e delle macchine. L'igiene dell'impianto, e in particolare delle guaine, è un fattore che ha mostrato un effetto importante nel preservare l'integrità dei capezzoli e la sanità della mammella (Piccinini et al., 2008; Sandrucci et al., 2010).

Il lavaggio dell'impianto di mungitura è obbligatorio per legge (Regolamento CE n. 1662/2006), inoltre una buona igiene è la base per mantenere alta la qualità del latte prodotto. (Maddalena Zucali, 2011)

Oltre al lavaggio periodico dell'impianto di mungitura, è necessario che vengano effettuati:

- Controlli periodici dell'impianto di mungitura almeno 2 volte l'anno;
- Verifiche funzionali ed eventuali azioni correttive (vuoto d'esercizio, frequenza delle pulsazioni, rapporto tra le diverse fasi che costituiscono un ciclo di pulsazione);
- Controllo delle fluttuazioni del vuoto sotto il capezzolo con conseguente flusso incrociato ed aumento del numero degli impatti;
- Pulizia e disinfezione: accanto alle procedure automatizzate è necessario procedere al periodico smontaggio, pulizia delle diverse componenti e sostituzioni delle parti usurate;
- Verifiche igieniche della presenza di microrganismi patogeni che tendono a permanere nell'impianto (bio-film) (Haltia, 2006)

Gestione sanitaria dell'allevamento

Formazione del personale

Il personale di stalla, per avere un ruolo efficace nell'attuazione del Piano di Gestione Sanitaria, deve essere coinvolto e adeguatamente formato su argomenti come benessere e comportamento animale, corretto rapporto animale-uomo, alimentazione, tecniche di mungitura, riconoscimento dei sintomi delle principali patologie e in particolare della mastite, gestione e somministrazione dei medicinali veterinari.

In particolare, ai fini della prevenzione e del trattamento delle mastiti, il personale deve essere in grado di:

- identificare gli animali che necessitano di una diagnosi e/o di un eventuale trattamento terapeutico;
- gestire correttamente la somministrazione dei farmaci secondo i protocolli terapeutici definiti dal veterinario aziendale;
- identificare in modo inequivocabile gli animali da escludere dalla mungitura perché sotto trattamento terapeutico.

Diagnosi di laboratorio

La corretta identificazione dell'agente eziologico coinvolto, attraverso la diagnosi di laboratorio, risulta essere l'unico punto di partenza valido nella formulazione di una terapia e di piani di controllo che siano realmente efficienti verso il problema della mastite.

Le analisi che possono essere effettuate in laboratorio a partire da campioni di latte sono molteplici, e altrettanto variegata sono le informazioni che possiamo ricavarne; tra tutte, la metodologia *gold standard* per la determinazione dello stato di mastite è rappresentata dalle colture batteriche. Esistono però altri parametri in grado di fornire importanti informazioni in merito.

Di seguito vengono elencati i parametri e le metodologie principali utilizzate per la diagnosi di mastite clinica e subclinica:

Conta delle Cellule Somatiche (SCC)

All'interno del parametro "cellule somatiche" rientra tutta la componente cellulare presente nel campione di latte; essa è rappresentata da due gruppi cellulari: cellule infiammatorie e cellule epiteliali, in diversa percentuale in base allo stato sanitario della mammella.

Le cellule infiammatorie, principalmente leucociti neutrofili, macrofagi e linfociti, sono presenti normalmente nel latte sano in concentrazioni inferiori a 200.000 cell/ml e aumentano notevolmente la loro concentrazione durante gli episodi mastitici. Al contrario, le cellule di sfaldamento epiteliali sono un reperto normale e non rivestono importanza patologica, né subiscono variazioni quantitative significative.

Le cellule somatiche relative a campioni individuali quindi forniscono informazioni sullo stato sanitario della mammella dell'animale esaminato.

La quantificazione di questo parametro in laboratorio può essere effettuata o mediante l'osservazione microscopica diretta e la conta delle cellule presenti nel campione, oppure mediante l'utilizzo di macchinari in grado di eseguire automaticamente questo conteggio (Ruegg, 2017).

E' possibile però utilizzare un vecchio metodo per quantificare approssimativamente il valore di SCC in allevamento per ogni quarto mammario: il California Mastitis Test (CMT). Questa metodica utilizza un tensioattivo per rompere la parete delle cellule somatiche, provocando la liberazione del loro materiale genetico che gelifica nella soluzione. Il CMT conferma solo che il latte prodotto dal quarto in questione presenta SCC "elevata". La sensibilità, o la capacità di rilevare un quarto veramente infetto, è molto variabile. Detto questo, il CMT rimane un eccellente test di screening per individuare i casi di mastite subclinica. (Randy, 2003)

Esame colturale

Come precedentemente accennato, l'esame colturale di campioni di latte rappresenta la metodica di riferimento per la diagnosi definitiva di mastite. Questa metodologia permette, infatti, sia di isolare l'agente eziologico coinvolto nel processo patologico, sia di tipizzarlo attraverso ulteriori purificazioni su differenti terreni selettivi.

Nonostante questa metodica rappresenti il gold standard nella diagnosi della mastite, una quota dei campioni di latte provenienti da bovine con forma clinica (circa il 25-40%) può risultare negativo all'esame colturale (Arrigoni et al, 2014); le principali cause alla base di un risultato colturale negativo in una bovina con segni conclamati di mastite clinica possono essere (Arrigoni et al, 2014):

- dose di inoculo insufficiente: le normali procedure di laboratorio prevedono la semina di 0,01 ml di campione su piastra, ma alcuni microrganismi, quali ad esempio *Mycoplasma* spp., *Staphylococcus aureus* e i coliformi, sono escreti nel latte in percentuali molto basse, tanto da necessitare di una dose di inoculo pari a 0,1 ml di latte per poter essere rilevati;
- assenza del microrganismo: in alcuni casi di mastite, la patologia potrebbe essere sostenuta non tanto da un batterio, ma piuttosto dalle sue tossine. In questi casi, tipici dei coliformi, l'esame colturale può risultare negativo;
- azione degli antibiotici: i campioni prelevati da bovine in corso di terapia antibiotica possono risultare negativi, in quanto il chemioterapico potrebbe già aver compromesso la rilevabilità del microrganismo;
- errori nel campionamento e/o nella conservazione dei campioni;
- microrganismi con particolari necessità colturali: le procedure standard di laboratorio prevedono protocolli abbastanza stereotipati, che potrebbero non risultare però sufficienti per la crescita in vitro di tutti i microrganismi potenzialmente coinvolti nel processo mastitico. Alcuni microrganismi con necessità colturali particolari sono, ad esempio, i *Micoplasm*i, che necessitano di terreni selettivi incubati in atmosfera arricchita in CO₂ per una corretta crescita in laboratorio; oppure i coliformi, che necessitano di una dose di inoculo maggiore rispetto alla routinaria dose di inoculo pari a 0,01 ml; in altri casi, può essere necessario un tempo di incubazione maggiore rispetto all'intervallo usuale di 24-48 h, come nel caso di *Prototheca* spp., *Mycoplasma*, *Nocardia*, *Mycobacterium* spp., *Candida* spp ecc.

Per un corretto esito degli esami colturali, deve essere posta particolare cura sia nelle metodiche di prelievo dei campioni, che devono essere eseguiti in maniera sterile attraverso l'uso di materiale monouso, sia nelle tecniche impiegate per la loro conservazione. I campioni che non possono essere portati subito in laboratorio, devono essere refrigerati a $+4^{\circ}$ - $+8^{\circ}\text{C}$ ed eventualmente, addizionati con specifici conservanti forniti dai laboratori stessi, e risulta opportuno recapitarli presso i laboratori di competenza entro 24 h dal momento del prelievo. Nel caso in cui non sia possibile recapitare i campioni di latte entro questo limite di tempo, è necessario congelare gli stessi a temperatura di -18°C .

Una volta giunti al laboratorio, i campioni di latte subiscono una diluizione (1:10) in acqua peptonata per essere preparati alla successiva semina su piastre.

In seguito alla diluizione, una quantità pari a 0,1 ml del campione così ottenuto viene seminato su apposite piastre, preparate con differenti terreni selettivi di partenza, a seconda del protocollo di isolamento e identificazione impiegato dal laboratorio. I terreni impiegati per questi protocolli sono molteplici: Agar sangue (AS), AS addizionato con esculina o tossina stafilococcica beta, Agar Sale Mannite (MSA), Agar MacConkey, Agar Baird Parker (BP), Agar Triptosio, MTKT Agar.

Questi terreni sono in grado di fornire altrettante molteplici informazioni permettendo l'osservazione del comportamento colturale dei microrganismi in determinate particolari condizioni. (Arrigoni, 2014).

Una volta completato l'isolamento colturale e lo studio morfologico delle colonie presenti nel campione, si può proseguire con l'esame microbiologico delle colonie ottenute continuando a seminare queste ultime su altre tipologie di terreni selettivi, con caratteristiche differenti da quelli impiegati precedentemente nell'esame colturale.

Programma vaccinale

In molti casi le vaccinazioni sono il principale strumento per il controllo delle infezioni, tra cui anche la mastite. Ogni allevamento deve disporre di un proprio programma vaccinale, definito in accordo con il veterinario aziendale.

I vaccini hanno 2 effetti principali, entrambi determinanti ai fini della riduzione del consumo di antimicrobici: rendono gli animali meno suscettibili a contrarre l'infezione ed a manifestare la malattia, con conseguente miglioramento delle performance produttive e riproduttive; aumentano

l'immunità della mandria, con minore circolazione di agenti infettanti e conseguente miglioramento dello stato di salute generale degli animali.

USO DELL'ANTIMICROBICO

Aspetti generali

Dalla scoperta della Penicillina in poi, gli antibiotici hanno salvato milioni di vite umane e il loro uso ha contribuito in modo significativo a migliorare la salute e il benessere dell'uomo e degli animali.

L'uso di antibiotici negli animali destinati alla produzione di alimenti ha contribuito a garantire nel tempo animali più sani e più produttivi, oltre che minore incidenza di malattie e ridotta morbilità e mortalità negli stessi. Nel campo dell'economia alimentare, l'utilizzo degli antimicrobici ha permesso la produzione di abbondanti quantità di alimenti nutrienti, di alta qualità e a basso costo per il consumo umano.

Nonostante questi benefici, ad oggi sussiste una notevole preoccupazione da parte degli studiosi e dell'opinione pubblica sull'uso degli antibiotici negli animali da produzione alimentare. Negli ultimi tre decenni infatti, lo sviluppo di antimicrobico-resistenze pericolose ed impattanti sul trattamento di malattie umane che richiedono un intervento antibiotico è diventato un problema significativo per la Salute Pubblica a livello globale. (Oliver, 2011)

Uso dell'antibiotico negli allevamenti di bovine da latte

Nelle aziende di vacche da latte, gli antibiotici sono spesso somministrati alle vacche in lattazione per trattare la mastite, e di routine alla messa in asciutta. La mastite, come già detto, rappresenta una delle patologie più frequenti nell'allevamento bovino da latte. Un aumento dell'incidenza di mastite in uno stesso si traduce generalmente in un aumento dell'uso di antimicrobici. Ciò a sua volta aumenta il rischio di riscontro di residui di antibiotici nel latte e di conseguenza il potenziale aumento della resistenza batterica agli antimicrobici. E' chiaro quindi che l'uso di antibiotici nelle vacche da latte può contribuire ad aumentare la resistenza antimicrobica. (Oliver and Murinda, 2011)

È chiaro quindi che risultano necessarie strategie volte a impiegare l'uso prudente degli antibiotici per gestire la problematica dell'antimicrobico-resistenza.

In accordo con le “Linee guida sull’uso prudente degli antimicrobici in medicina veterinaria” (Comunicazione della Commissione 2015/C 299/04 del 11.9.2015), al fine di limitare il rischio di insorgenza di antimicrobico-resistenza, si raccomanda, nelle aziende zootecniche, l’applicazione sistematica dei seguenti principi di uso prudente del farmaco antimicrobico:

- Utilizzare l’antibiotico in modo mirato, sulla base della diagnosi clinica e, ove possibile, eziologica, e dei relativi risultati dei test di sensibilità (antibiogramma), seguendo le indicazioni del veterinario aziendale (protocolli terapeutici);
- Ricorrere il più possibile alle indagini batteriologiche su latte individuale per ogni singolo capo bovino;
- Utilizzare preferenzialmente antibiotici contenenti molecole a spettro limitato; infatti antimicrobici ad ampio spettro portano allo sviluppo di resistenze in microorganismi non-target più rapidamente rispetto agli antimicrobici con spettro d’azione più limitato. Utilizzare soltanto come ultima scelta le molecole considerate “di importanza critica” (CIAs) in terapia umana (cefalosporine di terza e quarta generazione, macrolidi, fluorochinoloni e colistina);
- Evitare l’utilizzo di cocktail di antimicrobici;
- Preferire l’uso locale a quello sistemico;
- Evitare la terapia di massa; ove possibile, gli animali devono essere isolati e trattati individualmente;
- Evitare l'utilizzo di antimicrobici ai fini di profilassi e/o metafilassi. Oltre a non risultare efficace ed economico rispetto alla corretta gestione di allevamento, non è più ammesso se non in casi motivati e documentati.
- Seguire scrupolosamente nella somministrazione le istruzioni riportate sul foglietto illustrativo (dose, frequenza, durata del trattamento, limitazione d’uso e tempo di sospensione). Il prolungamento di una terapia o la variazione del dosaggio indicato (c.d. uso improprio) devono essere riservati ai casi di dimostrata inefficacia del farmaco utilizzato secondo AIC, previa segnalazione di farmacovigilanza da parte del medico veterinario, mediante apposita scheda, prevista dal DL.vo 193/2006.

Le pratiche sopra citate, ottengono gli obiettivi di:

- migliorare l’efficacia della terapia antimicrobica;
- ridurre il consumo degli antimicrobici, evitandone l’uso ingiustificato;
- evitare spese inutili ed ingiustificate all’allevatore;

- contribuire al contenimento dell'antimicrobicoresistenza.

A tale scopo l'allevatore e il personale di allevamento devono osservare regolarmente gli animali per la rilevazione precoce di segni di malattia, lesioni o comportamenti anomali (Arrigoni, 2018)

I test diagnostici, in questo caso costituiti dall'esame batteriologico su latte individuale, sono indispensabili per due motivi fondamentali:

- raccogliere elementi utili ad impostare una terapia ai fini dell'utilizzo mirato dell'antimicrobico;
- definire gli interventi gestionali necessari a limitare la diffusione di eventuali microrganismi, attraverso l'identificazione e la correzione dei punti critici sopra citati, generali o specifici.

La terapia della mastite in alcuni casi può unicamente servire a coadiuvare la gestione del problema. Se per alcune infezioni infatti l'utilizzo dell'antibiotico risulta fortemente indicato (Streptococchi), nella maggior parte dei casi di mastite la terapia antimicrobica risulta inutile o ingiustificata (per esempio nei casi di mastite causata da germi ambientali, come E.Coli e Prototheca). (Constable, 2008)

Nella seguente tabella sono elencati i principali agenti eziologici di mastite ed i relativi sintomi, sia sul gruppo che sul singolo capo.

Agente eziologico	Sintomi nel gruppo o nel latte di massa	Sintomi nell'animale
<i>Streptococcus Agalactiae</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento significativo e persistente SCC - Aumento CBT in caso di prevalenza elevata 	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento significativo e persistente SCC - Significativo calo produttivo - Scarsa correlazione con stadio di lattazione - Raramente mastite clinica
<i>Staphilococcus Aureus</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento moderato SCC 	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento moderato SCC - Generalmente forma subclinica - Talvolta mastite lieve, raramente mastite gangrenosa - Moderato calo produttivo
<i>Mycoplasma Bovis</i>	Forme articolari in animali di ogni età	<ul style="list-style-type: none"> - Mastite parenchimatosa senza risentimento generale - Calo significativo della produzione latte - Aumento di volume dei linfonodi sopramammari - Interessamento di più quarti contemporaneamente o (più frequentemente) in sequenza - Assenza di una risposta a seguito di terapia antimicrobica - Latte "alterato" (sedimento, colorazione scura)
<i>Prototheca Spp.</i>	<ul style="list-style-type: none"> Aumento SCC (prevalenza elevata) Aumento CBT (prevalenza elevata) 	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento SCC graduale e persistente - Mastite cronica evolutiva, subclinica o lieve - Indurimento e atrofia del quarto - Totale refrattarietà a tutti i trattamenti antimicrobici
<i>Streptococchi "ambientali"</i>	<ul style="list-style-type: none"> Aumento SCC (prevalenza elevata) Aumento CBT (prevalenza elevata) 	<ul style="list-style-type: none"> - Aumento significativo e persistente SCC - Forma cliniche moderate o lievi (talvolta gravi), più frequentemente a inizio lattazione - Esito colturale positivo - Possibile tendenza alla cronicizzazione
<i>Coliformi (Escherichia coli, Klebsiella. etc.)</i>	Aumento del latte di scarto	<ul style="list-style-type: none"> - Forme cliniche gravi o moderate (talvolta lievi), - comparsa forma clinica più frequentemente a inizio lattazione - Esito colturale spesso negativo - Forma clinica generalmente di breve durata
<i>Trueperella Pyogenes</i>	Forme generalmente sporadiche	<ul style="list-style-type: none"> - Latte alterato e maleodorante - Presenza di ascessi nel parenchima

Test di sensibilità agli antibiotici

Una volta eseguito l'isolamento batterico tramite l'esame colturale, buona prassi operativa è quella di completare l'iter diagnostico eseguendo un antibiogramma sulle colonie ottenute; l'esecuzione di questo esame permette di valutare in vitro gli effetti dei diversi chemioterapici nei confronti della crescita batterica ed orientare, così, la scelta della molecola antibiotica da impiegare.

Per ottenere univocità nella valutazione dei risultati, sono fornite delle griglie che includono standard internazionali di riferimento per l'interpretazione del binomio batterio-molecola, validati e divulgati dagli Organismi scientifici internazionali competenti, come il Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI).

Attualmente, i protocolli approvati per eseguire l'antibiogramma sono due (Arrigoni et al, 2014):

- Metodica per Diluizione: questo protocollo prevede l'inoculo di batteri provenienti dalle colonie isolate precedentemente su terreni con diluizioni seriali di una determinata molecola antibiotica; le diluizioni vengono effettuate in brodo o in Agar. Osservando l'azione delle varie diluizioni sulla crescita batterica, si può arrivare all'identificazione della MIC (Concentrazione Minima Inibente) relativa a quel determinato binomio batterio-molecola, fattore che rende questa metodologia gold standard per la determinazione della sensibilità in vitro di un chemioterapico. Nonostante l'elevata accuratezza, queste metodiche non sono impiegate routinariamente a causa dell'eccessiva laboriosità nonché delle tempistiche richieste.
- Metodica per Diffusione (Disk Diffusion): questo secondo protocollo, invece, risulta quello di maggiore impiego nella comune pratica di laboratorio, data la sua rapidità di esecuzione e la sua economicità. La metodica di Kirby-Bauer (Bauer et al, 1966) prevede l'inoculo di una quantità nota di batteri su un particolare terreno di coltura, sul quale verranno in seguito applicati dei dischetti antibiotati e osservata l'eventuale modificazione nella crescita batterica. I terreni impiegati per la prova sono il Muller-Hinton Agar, e il Muller-Hinton Agar Sangue.

Il protocollo prevede i seguenti passaggi:

1. prelievo di una concentrazione nota di batteri;
2. semina sul terreno scelto;
3. apposizione dei dischetti imbevuti con una concentrazione nota di antibiotico;

4. incubazione a 37°C per 18-24 h in aerobiosi o anaerobiosi a seconda del caso;
5. osservazione dell'eventuale inibizione della crescita batterica.

La metodica per diffusione in Agar (Kirby-Bauer), classifica il patogeno come sensibile (S), intermedio (I) o resistente (R) nei confronti delle molecole antimicrobiche testate.

Per ottenere un sufficiente numero di informazioni riguardo alla sensibilità dei microrganismi verso i diversi principi attivi, è importante effettuare una selezione ponderata delle molecole rappresentative di ogni classe di antibiotici da inserire nel pannello dell'antibiogramma. L'analisi dell'attività battericida di ogni molecola testata viene fatta mediante l'osservazione degli "aloni di inibizione" eventualmente presenti attorno ai dischetti applicati; il loro diametro viene misurato e paragonato a delle griglie interpretative, che permettono di suddividere i microrganismi in base alla sensibilità alle molecole in:

- sensibili: la crescita batterica è inibita dai normali dosaggi terapeutici di quella molecola;
- moderatamente sensibili o intermedi: la crescita batterica è inibita presumibilmente solo con elevati dosaggi della molecola antibiotica;
- resistenti: il microrganismo non è inibito dalla molecola esaminata (Arrigoni, 2018).

Uno dei problemi è quello di definire quali principi attivi inserire nell'antibiogramma. A questo scopo sono state individuate, su indicazione del Centro di Referenza per l'Antimicrobico-resistenza (CRAB) – IZS Lazio Toscana, molecole cosiddette "prototipo", che meglio predicono l'efficacia in vivo attraverso il loro impiego in vitro.

Di seguito sono elencati i principali principi attivi implicati nella terapia delle mastiti bovine, considerate molecole-prototipo:

Gram +	Gram –
Ampicillina	Ampicillina
Cefalotina	Cefalotina
Ceftiofur	Cefazolina
Enrofloxacin	Ceftiofur
Eritromicina	Enrofloxacin
Kanamicina	Kanamicina
Oxacillina	SXT
Penicillina	Sulfametossazolo

Pirlimicina	Tetraciclina
Rifampicina	
SXT	
Sulfametossazolo	
Tetraciclina	
Tilmicosina	

Categorizzazione delle classi di antibiotici secondo l'EMA

L'Agencia europea dei medicinali (Ema) ha espresso un parere scientifico sull'uso prudente degli antibiotici che è stato oggetto di una consultazione pubblica avviata nel 2019.

L'EMA ha così prodotto un documento destinato ai veterinari che suddivide gli antibiotici in 4 classi: Avoid, Restrict, Caution, Prudence. Gli antibiotici sono classificati, spiega Ema, considerando i rischi per la salute umana correlati all'insorgenza di resistenze e la necessità di avere armi a disposizione per la medicina veterinaria. Il documento è stato stilato dal Gruppo di esperti sugli antibiotici (Ameg) e già adottato sia dal Comitato per i medicinali veterinari (Cvmp) che dal Comitato per i medicinali a uso umano (Chmp).

- La categoria A (Avoid): comprende antibiotici che attualmente non sono autorizzati in medicina veterinaria nell'UE. Questi medicinali non possono essere utilizzati negli animali da produzione alimentare.
- La categoria B (Restrict): si riferisce ai chinoloni, alle cefalosporine di terza e quarta generazione e alle polimixine. Gli antibiotici in questa categoria sono di fondamentale importanza nella medicina umana e il loro uso negli animali dovrebbe essere limitato per mitigare il rischio per la salute pubblica.
- La categoria C (Caution): comprende gli antibiotici per i quali esistono generalmente alternative nella medicina umana nell'Ue, ma in alcune indicazioni veterinarie sono disponibili solo poche alternative. Questi antibiotici dovrebbero essere usati solo quando non ci sono sostanze antimicrobiche nella categoria D che sarebbero clinicamente efficaci.
- La categoria D ("Prudence"): comprende antibiotici che dovrebbero essere usati come trattamenti di prima linea, quando possibile. Questi antibiotici possono essere utilizzati negli animali in modo prudente. Ciò significa che dovrebbero essere evitati l'uso non necessario e lunghi periodi di trattamento e il trattamento di gruppo dovrebbe essere limitato a situazioni in cui il trattamento individuale non è possibile. (EMA/CVMP/CHMP, 2019).

A	Aminopenicilline mecillinam pivmecillinam	Carbapenemi meropenem doripenem	Medicinali usati solo per trattare la tubercolosi o altre malattie causate da micobatteri isoniazide etambutolo pirazinamide etionamide	Glicopeptidi vancomicina	EVITARE
	Ketolidi telitromicina	Lipopeptidi daptomicina		Gliciciline tigeciclina	
	Monobattami aztreonam	Oxazolidinoni linezolid		Derivati dell'acido fosfonico fosfomicina	
	Rifamicine (tranne rifaximina) rifampicina	Riminofenazine dofazimina	Altre cefalosporine e penemi (codice ATC J01DI), comprese le combinazioni di cefalosporine di terza generazione con inibitori delle beta-lattamasi ceftabiprololo ceftarolina ceftalozano-tazobactam faropenem	Acidi pseudomonici mupirocina	
	Carbossiopenicillina e ureidopenicillina, comprese le combinazioni con inibitori delle beta-lattamasi piperacillina-tazobactam	Solfoni dapsono		Sostanze di recente autorizzazione nella medicina umana in seguito alla pubblicazione della classificazione AMEG da definire	
Streptogramine pristinamicina virginamicina					
B	Cefalosporine di terza e quarta generazione con l'eccezione di combinazioni con inibitori delle beta-lattamasi cefoperazone cefovecina cefquinome ceftiofur	Polimixine colistina polimixina B	Chinoloni: fluorochinoloni e altri chinoloni cinoxacina danofloxacina difloxacina enrofloxacina flumequina ibafloxacina	marbofloxacina norfloxacina orbifloxacina acido oxolinico pradofloxacina	LIMITARE
C	Aminoglicosidi (tranne spectinomina) amikacina apramicina didroestreptomicina framicetina gentamicina kanamicina neomicina paromomicina streptomina tobramicina	Aminopenicilline, in associazione con inibitori delle beta-lattamasi amoxicillina + acido clavulanico ampicillina + sulbactam	Aminofenicoli cloramfenicolo florfenicolo tiamfenicolo	Macrolidi eritromicina gamitromicina oleandomicina spiramicina tilidiclosina tilimicosina tulatromidina tilosina tilvalosina	ATTENZIONE
		Cefalosporine di prima e seconda generazione e cefamicine cefacetrile cefadrossil cefalexina cefalonio cefalotina cefapirina cefazolina	Lincosamidi clindamicina lincomicina pirimicina		
			Pleuromutiline tiamulina valnemulina	Rifamicine: solo rifaximina rifaximina	
D	Aminopenicilline, senza inibitori delle beta-lattamasi amoxicillina ampicillina metampicillina	Aminoglicosidi: solo spectinomina spectinomina	Sulfonamidi, inibitori della diidrotolato ridotti e combinazioni formosulfabiazolo ftalilsulfabiazolo sulfacetamide sulfaclopiridazina sulfaclozina sulfadiazina sulfadimetoxina sulfadimidina sulfadoxina sulfafurazolo sulfaguanidina	sulfalene sulfamerazina sulfametozolo sulfametoxazolo sulfametoxipiridazina sulfamonometoxina sulfanilamide sulfapiridina sulfachinosalina sulfafiazolo trimetoprim	PRUDENZA
	Tetracicline clortetraciclina doxiciclina oxitetraciclina tetraciclina	Penicilline anti-stafilococche (penicilline beta-lattamasi resistenti) cloxacillina dicloxacillina nafcillina oxacillina			
	Penicilline naturali, a spettro ristretto (penicilline sensibili alle beta-lattamasi) benzilpenicillina benzatinica fenossimetilpenicillina benzatinica benzilpenicillina penetamato iodidato	feneticillina fenossimetilpenicillina benzilpenicillina procaina	Polipeptidi ciclici bacitracina	Nitroimidazoli metronidazolo	
		Antibatterici steroidi acido fusidico	Derivati nitrofuranci furaladone furazolidone		

OBIETTIVI

Evidenziare la relazione esistente tra gestione manageriale, inclusa quella del farmaco (determinanti), e incidenza di mastiti e di antimicrobico-resistenza (outcome).

MATERIALI E METODI

Sono state prese in considerazione 6 aziende zootecniche di bovine da latte, sulla base della consistenza numerica di animali in lattazione:

- Due aziende di consistenza “piccola”: una con 35 (allevamento 1) e l'altra con 50 capi in produzione (allevamento 2);
- Due aziende di consistenza “media”: una con 90 (allevamento 3) e l'altra con 145 capi in produzione (allevamento 4);
- Due aziende di consistenza “elevata”: una con 430 (allevamento 5) e l'altra con 700 capi in produzione (allevamento 6).

Per ogni azienda sono stati analizzati 3 aspetti principali:

1. Informazioni sul *management di stalla* al momento dell'inizio dello studio e *misure di biosicurezza* adottate nello stesso momento, finalizzate al contenimento delle mastiti;
2. Informazioni sull'*utilizzo del farmaco antibiotico* nei 12 mesi precedenti al seguente studio;
3. *Indagini batteriologiche* coadiuvate da *prove di antibiogramma* su campioni di latte mastitico e non, sulla base della consistenza di stalla.

Parallelamente è stato intrapreso un percorso, rimasto embrionale ma non per questo meno importante ed interessante rispetto all'obiettivo principale del progetto, riguardante il passaggio di germi mastidogeni di rilevanza pubblica dal latte bovino alle prime vie respiratorie dei mungitori.

INFORMAZIONI SUL MANAGEMENT DI STALLA PER OGNI AZIENDA

Per ovviare all'esigenza di uniformare le informazioni da raccogliere e di utilizzare un metodo applicabile in ogni realtà considerata, è stata presa come riferimento la check list del C.R.E.N.B.A.

sul benessere animale, e sono state considerate solo le voci utili alla prevenzione delle mastiti (Vedi Allegato 1).

Per ognuna delle risposte alle diverse voci presenti nella check list, è stato corrisposto un punteggio prendendo come riferimento i dati C.R.E.N.B.A. (vedi Tabella 1). Intervistando gli allevatori, visitando l'azienda e compilando la check list, per ogni voce selezionata è stato preso in considerazione il punteggio corrispondente e poi sommato a quello di tutte le altre voci. In questo modo è stato possibile ottenere un punteggio finale complessivo, rappresentativo del livello di gestione generale di stalla.

Più il punteggio complessivo è elevato, peggiore è la gestione di stalla.

Tabella 1 – Check List

DATI GENERALI		
Parametro	Descrizione	Punteggio
Formazione degli addetti	<input type="checkbox"/> Esperienza minore di 7 anni e nessun corso di formazione	3
	<input type="checkbox"/> Esperienza di almeno 7 anni e nessun corso di formazione sull'allevamento bovino o esperienza minore di 7 anni ma con frequenza di almeno un corso di formazione	1
	<input type="checkbox"/> Esperienza di almeno 7 anni e almeno un corso di formazione sull'allevamento bovino	0
Formazione degli addetti alla mungitura	<input type="checkbox"/> Esperienza minore di 7 anni e nessun corso di formazione	3
	<input type="checkbox"/> Esperienza di almeno 7anni e nessun corso di formazione sulla mungitura o esperienza minore di 7 anni ma con frequenza di corso di formazione sulla mungitura	1
	<input type="checkbox"/> Esperienza di almeno 7 anni e almeno un corso di formazione sulla mungitura	0
Numero di ispezioni al giorno	<input type="checkbox"/> 1	3
	<input type="checkbox"/> 2	1
	<input type="checkbox"/> > 2	0
Conduzione aziendale informatizzata:	<input type="checkbox"/> No	3
	<input type="checkbox"/> Si	0
Assistenza tecnica: Veterinario	<input type="checkbox"/> non ha un veterinario di riferimento	4
	<input type="checkbox"/> è presente un veterinario di riferimento che opera su chiamata	2
	<input type="checkbox"/> è presente un veterinario di riferimento che opera su programma (con cadenza di visite almeno mensile)	0
	<input type="checkbox"/> Razione empirica senza calcoli relativi ai fabbisogni	3

Gestione della razione	<input type="checkbox"/> Razione specifica per ogni gruppo di base (rimonta-asciuttalattazione-ingrasso)	0	
	<input type="checkbox"/> Razione calcolata da un alimentarista e corretta conservazione degli alimenti	0	
Acqua di abbeverata	<input type="checkbox"/> Provenienza solo da una fonte (pozzo o acquedotto) senza cisterna	3	
	<input type="checkbox"/> Provenienza da acquedotto o pozzo con cisterna capiente e sufficiente per alcune ore	1	
	<input type="checkbox"/> Provenienza da più fonti (acquedotto e pozzo o due pozzi)	0	
Disponibilità di acqua (tutti i gruppi produttivi)	<input type="checkbox"/> Assenza di acqua di bevanda o acqua razionata (non ad libitum) per uno o più animali	4	
	<input type="checkbox"/> Presenza di abbeveratoi funzionanti in tutti i gruppi	0	
	<input type="checkbox"/> Acqua ad libitum per tutti gli animali	0	
Pulizia degli abbeveratoi (tutti i gruppi produttivi)	<input type="checkbox"/> Presenza di sporco in superficie e sulle pareti degli abbeveratoi	3	
	<input type="checkbox"/> Presenza di alimento solo sulla superficie dell'acqua o solo sul fondo (l'acqua rimane comunque limpida.)	1	
	<input type="checkbox"/> Assenza di sporco, abbeveratoi puliti e acqua limpida	0	
Tipologia di stabulazione	<input type="checkbox"/> Posta fissa	3	
	<input type="checkbox"/> Libera (cucchette / lettiera permanente)	1	
	<input type="checkbox"/> Libera per tutti i gruppi produttivi con possibilità di accesso ad un'area di esercizio esterna (e/o pascolo)	0	
Adeguatezza degli spazi	<input type="checkbox"/> Spazi insufficienti nelle aree di riposo e/o assenza di numero di posti in mangiatoia adeguato	4	
	<input type="checkbox"/> Spazi appena sufficienti nelle aree di riposo e/o numero di posti in mangiatoia pari al numero di capi che ne usufruisce	2	
	<input type="checkbox"/> Spazi più che sufficienti nelle aree di riposo e/o posti in mangiatoia in sovrannumero rispetto ai capi	0	
Pulizia degli ambienti di stabulazione (lettiera compresa)	<input type="checkbox"/> Insufficiente: ambienti sporchi in quasi tutti i gruppi	6	
	<input type="checkbox"/> Sufficiente: ambienti discretamente puliti in quasi tutti i gruppi	2	
	<input type="checkbox"/> Corretta: ambienti correttamente gestiti, puliti ed asciutti in tutti i gruppi	0	
Condizioni climatiche	Luminosità	<input type="checkbox"/> carente	2
		<input type="checkbox"/> accettabile	1
		<input type="checkbox"/> controllata / pascolo	0
	Temperatura	<input type="checkbox"/> carente	2
		<input type="checkbox"/> accettabile	1
		<input type="checkbox"/> controllata / pascolo	0
	Umidità	<input type="checkbox"/> carente	2
		<input type="checkbox"/> accettabile	1
		<input type="checkbox"/> controllata / pascolo	0
ABM			
Stato di nutrizione: Valori di BCS minori di 2 (animali molto magri) e maggiori di 4 (animali molto grassi) sono oltre i limiti accettati	<input type="checkbox"/> Più del 10% di animali con BCS oltre i limiti	3	
	<input type="checkbox"/> Tra il 5% e il 10% di animali con BCS oltre i limiti	1	
	<input type="checkbox"/> Meno del 5% di animali con BCS oltre i limiti	0	
Pulizia degli animali	<input type="checkbox"/> Più del 20% di animali sporchi	3	
	<input type="checkbox"/> Tra il 10% e il 20% di animali sporchi	1	
	<input type="checkbox"/> Meno del 10% di animali sporchi	0	

Rapporto uomo-animale	<input type="checkbox"/> Carente	4
	<input type="checkbox"/> Sufficiente	1
	<input type="checkbox"/> Ottimale	0
BIOSICUREZZA		
Rimonta	<input type="checkbox"/> Esterna e animali provenienti da allevamenti con la sola certificazione sanitaria del SSN (o da stalle di sosta)	3
	<input type="checkbox"/> Esterna e animali provenienti da allevamenti con stato sanitario noto	0
	<input type="checkbox"/> Totalmente interna	0
Quarantena	<input type="checkbox"/> Non viene effettuata quarantena	4
	<input type="checkbox"/> Quarantena effettuata in maniera empirica e/o locale predisposto non sufficientemente separato e/o mezzi utilizzati non dedicati	3
	<input type="checkbox"/> Quarantena effettuata in maniera corretta (per tempi, materiali e disinfezione) e locale sufficientemente distante dagli altri animali allevati	0
Infermeria	<input type="checkbox"/> Non esiste un locale dedicato	3
	<input type="checkbox"/> il locale infermeria viene utilizzato come tale solo in presenza di animali malati. Quando non ci sono animali malati viene dedicata ad altri utilizzi	2
	<input type="checkbox"/> il locale infermeria è correttamente separato dagli altri ambienti. Utilizzato esclusivamente per il ricovero di animali malati e correttamente gestita	0
Procedure di biosicurezza nei confronti di animali infestanti, selvatici e domestici	<input type="checkbox"/> Insufficienti (mancanza totale o grave di interventi per il controllo di roditori, infestanti, selvatici e domestici)	3
	<input type="checkbox"/> Sufficiente (parziale presenza di elementi di controllo)	1
	<input type="checkbox"/> Corretta (presenza di strutture e procedure per limitare l'ingresso di altre specie animali nelle zone di stabulazione, corretta gestione dei domestici)	0
Precauzioni per l'ingresso di mezzi estranei e/o visitatori	<input type="checkbox"/> Mancanza completa di controllo degli accessi, nessuna distanza di sicurezza viene mantenuta per i mezzi estranei all'allevamento. Ai visitatori è consentito l'ingresso negli ambienti di stabulazione senza particolari provvedimenti.	3
	<input type="checkbox"/> Esistono strutture per il controllo degli accessi, ma le procedure per i mezzi e i visitatori sono approssimative e non complete	1
	<input type="checkbox"/> Presenza di presidi di disinfezione per mezzi esterni, sufficiente distanza tra mezzi e animali allevati. Ai visitatori vengono forniti calzari e/o camici prima dell'ingresso in stalla.	0
Procedure di pulizia e disinfezione al cambio di lettiera	<input type="checkbox"/> Mancanza totale o grave di interventi di pulizia e disinfezione	4
	<input type="checkbox"/> Presenza di protocolli di pulizia e disinfezione	1
	<input type="checkbox"/> Presenza di protocolli di pulizia e disinfezione, rotazione dei disinfettanti, formazione degli addetti	0
Presenza di programmi vaccinali	<input type="checkbox"/> No non sono presenti programmi vaccinali aziendali	3
	<input type="checkbox"/> Si, ma empirico	1
	<input type="checkbox"/> Si, definito con il veterinario aziendale	0
MUNGITURA		
Igiene della sala o del robot di mungitura	<input type="checkbox"/> Presenza di feci sui gruppi di mungitura, su pavimenti e muri	3
	<input type="checkbox"/> Pulizia adeguata dei gruppi ma feci su pavimenti e muri	1

	<input type="checkbox"/> Assenza di feci e buona igiene generale	0
Manutenzione dell'impianto di mungitura	<input type="checkbox"/> Inadeguata per mancata conoscenza dei parametri di base e assenza di una manutenzione programmata da parte di tecnici specializzati	4
	<input type="checkbox"/> Verifiche periodiche approssimative, manutenzione specialistica solo in caso di guasti e assenza di una documentazione che attesti un'attenta manutenzione periodica	2
	<input type="checkbox"/> Manutenzione programmata, ricambio periodico delle parti soggette ad usura e presenza di una registrazione scritta delle operazioni di manutenzione	0
Utilizzo di guanti monouso	<input type="checkbox"/> No	3
	<input type="checkbox"/> Si ma non li sostituisce in maniera adeguata	1
	<input type="checkbox"/> Si e procede sistematicamente alla loro sostituzione in caso di rottura o di sporcizia	0
Indicare rapporto fra i gruppi di mungitura presenti nella sala e il numero di mungitori presenti ad ogni ciclo	<input type="checkbox"/> 1 mungitore > 12 gruppi	2
	<input type="checkbox"/> 1 mungitore per 8-12 gruppi	1
	<input type="checkbox"/> 1 mungitore < 8 gruppi	0
La mungitura avviene a seguito di una divisione in gruppi e ordine di mungitura?	<input type="checkbox"/> no	3
	<input type="checkbox"/> si, divisione gruppi ma senza una gestione dell'ordine di mungitura	1
	<input type="checkbox"/> si, corretto	0
In quanti animali si evidenzia una mammella non pulita prima della mungitura?	<input type="checkbox"/> più del 30 %	3
	<input type="checkbox"/> tra il 10 ed il 30%	1
	<input type="checkbox"/> meno del 10 %	0
Viene effettuata una pulizia del capezzolo prima della mungitura?	<input type="checkbox"/> No o uso non corretto di acqua e asciugatura inefficace	3
	<input type="checkbox"/> Sì, efficace rimozione dello sporco a secco	1
	<input type="checkbox"/> Sì, uso corretto di acqua e asciugatura efficace	0
Se viene effettuato il pre-dipping, lo stesso viene adottato:	<input type="checkbox"/> in maniera scorretta	2
	<input type="checkbox"/> in maniera corretta, ma solo su parte dei capi in funzione della pulizia della mammella	1
	<input type="checkbox"/> in maniera corretta su tutti i capi	0
I primi getti di latte vengono sistematicamente raccolti e controllati?	<input type="checkbox"/> No	3
	<input type="checkbox"/> Sì, solo eliminati	1
	<input type="checkbox"/> Sì, e la raccolta dei getti di latte è effettuata in maniera corretta	0
Viene effettuato il post-dipping?	<input type="checkbox"/> no	3
	<input type="checkbox"/> si, scorretto	1
	<input type="checkbox"/> si, corretto	0
GESTIONE SANITARIA		
Accertamenti diagnostici in caso di mortalità/forme cliniche	<input type="checkbox"/> Nessun accertamento	3
	<input type="checkbox"/> Accertamenti sporadici	1
	<input type="checkbox"/> Accertamenti sistematici	0
Accertamenti diagnostici per controllo e prevenzione delle MASTITI	<input type="checkbox"/> Nessun accertamento	3
	<input type="checkbox"/> Occasionali / solo in caso di forme cliniche	1
	<input type="checkbox"/> Sistematici prima dell'asciutta / a campione durante l'anno	0

Percentuale di mastiti cliniche (asciutta-lattazione) ultimo anno	<input type="checkbox"/> > 50%	4
	<input type="checkbox"/> Tra 30-50%	2
	<input type="checkbox"/> < 30%	0
Media geometrica SCC (per valutazione sanitaria)	<input type="checkbox"/> > 400.000	3
	<input type="checkbox"/> tra 200.000 e 400.000	2
	<input type="checkbox"/> < 200.000	0
Esistono animali che vengono riformati per problematiche ricorrenti di mastite?	<input type="checkbox"/> Sì	3
	<input type="checkbox"/> No	0
FARMACO		
I trattamenti antimicrobici per mastiti cliniche in lattazione sono in generale effettuati in seguito:	<input type="checkbox"/> Indipendentemente dalla visita clinica del veterinario	4
	<input type="checkbox"/> A sola diagnosi Clinica	2
	<input type="checkbox"/> Diagnosi Clinica + diagnosi di laboratorio diretta o indiretta e/o test di sensibilità	0
Nell'indisponibilità di un referto laboratoristico tempestivo la terapia antimicrobica per mastiti cliniche in lattazione:	<input type="checkbox"/> Viene effettuata con antibiotico ad ampio spettro	4
	<input type="checkbox"/> Si basa sui risultati di indagini effettuate in precedenza	2
	<input type="checkbox"/> Viene effettuata con antibiotico ad ampio spettro o si basa sui risultati di indagini effettuate in precedenza, modulando poi la scelta sulla base del referto di laboratorio	0
Vengono utilizzati trattamenti di massa con antibiotici per mastiti cliniche in lattazione?	<input type="checkbox"/> Sì, sempre o in più del 50% dei trattamenti effettuati	4
	<input type="checkbox"/> Sì, solo in seguito a specifica diagnosi	2
	<input type="checkbox"/> Mai	0
C'è un uso profilattico/metafilattico dell'antibiotico per mastiti cliniche in lattazione?	<input type="checkbox"/> Sì, sempre	4
	<input type="checkbox"/> Sì, valutandone l'esigenza	2
	<input type="checkbox"/> Mai	0

INFORMAZIONI SULL'UTILIZZO DEL FARMACO ANTIMICROBICO

Per quantificare ed armonizzare i dati dei consumi di antibiotico, per ogni azienda sono state calcolate, sulla base del consumo di antibiotici nei 12 mesi precedenti lo studio, le DDD (Defined Daily Dose):

In ambito veterinario la DDD rappresenta la *dose espressa in milligrammi di principio attivo utilizzata per tenere sotto trattamento un chilogrammo di peso vivo nell'arco di ventiquattro ore* (definizione del DGSAN). Questa unità di misura consente una corretta comparazione dei dati fra popolazioni animali diverse di diversi allevamenti. Il DDD quindi rappresenta uno strumento per conoscere il consumo di antibiotico di ogni azienda zootecnica.

Secondo le più recenti indicazioni del mondo accademico e scientifico, l'esposizione degli animali all'uso degli antibiotici dev'essere determinata per specie ed espressa in ADD (Animal Daily Dose). Questo acronimo può essere sostituito e chiamato DDY (Daily Dose Year) o DDDY (Defined Daily Dose Year). Il calcolo del DDDY si basa sulla Defined Daily Dose umana, unità di misura standardizzata utilizzata in medicina umana la cui trasposizione in medicina veterinaria è DDDA (Defined Daily Dose Animal) considerata dall'Organizzazione Mondiale della Sanità l'unità di misura standard di elezione per ricerche sull'utilizzo dei medicinali. Il DDDA rappresenta la dose media al giorno espressa in mg/kg per le principali indicazioni d'uso di un medicinale. Il DDDA viene stabilito considerando la posologia indicata dal produttore del medicinale, e si basa sulla dose media tenendo conto di eventuali diversi dosaggi, per esempio per diverse indicazioni d'uso (F. Aldrovandi, 2014).

Quindi questa dose non rappresenta quella realmente somministrata in campo bensì la posologia corretta, definita dal riassunto delle caratteristiche del prodotto (RCP). Tale dose è identificata e separata per ciascun principio attivo presente nei farmaci antimicrobici veterinari utilizzabili nelle specie inserite nel sistema di monitoraggio (DGSAN).

La formula per il calcolo del DDDY è la seguente:

$$\text{DDD/y} = \frac{\text{Quantità totale del medicinale utilizzato (Mg di Pr. Attivo) / DDDA}}{\text{Numero capi mediamente presenti} * \text{Peso medio}}$$

Esempio: FARMACO X 50 mg di p.a. / ML

DDDA = 1 mg/kg/die

Usati 100 ML = 5000 mg

$$\text{DDD/y} = \frac{5000 / 1}{\text{n. capi} * \text{peso m}} = \frac{5000 (= \text{gg di tratt. se 1 kg di peso})}{\text{n. 1 capo di 500 Kg}}$$

$$\text{DDD/y} = 10 (\text{gg di trattamento})$$

Il DDY rappresenta un “indice di rischio”: indica cioè per quanti giorni in un dato allevamento o in una data popolazione animale vi sia il rischio che ogni animale presente sia trattato con antibiotici.

Il limite del DDY è il fatto che è fortemente influenzato dal valore che poniamo al denominatore (numero medio degli animali presenti nell'allevamento ma soprattutto il peso medio degli animali). Per questo motivo, per garantire la corretta comparazione dei dati, per quanto riguarda l'allevamento delle vacche da latte è stato adottato, al pari di altre istituzioni in altri Paesi, un peso medio standard: quello delle vacche (utile per il nostro studio) è di 600 kg.

Per ogni azienda è stata riservata particolare attenzione agli antimicrobici d'importanza critica a maggior priorità (Highest priority Critically Important Antimicrobials: fluorochinoloni, cefalosporine di 3 e 4 generazione, polimixine, macrolidi, in quanto ultima scelta in caso di infezioni multiresistenti).

Il calcolo dei DDD/Y di ogni Azienda Zootecnica considerata sono stati eseguiti sfruttando il database a disposizione dei Medici Veterinari sul portale SIVAR www.veterinariodifiducia.it. In particolare, è stata selezionata la funzione “calcolo annuale” nonché la categoria “vacche da latte”.

INDAGINI BATTERIOLOGICHE E ANTIBIOGRAMMI SU CAMPIONI DI LATTE

In ogni azienda oggetto dello studio, al fine di raccogliere informazioni su eventuali germi mastidogeni circolanti e relative resistenze antimicrobiche, è stato adottato un piano di campionamento:

- Nelle aziende zootecniche “piccole” (1 e 2) sono stati effettuati due campionamenti di latte su tutti i bovini in lattazione (1 campione per ogni quarto mammario) a distanza di due mesi l'uno dall'altro;
- Nelle aziende zootecniche “medie” (Allevamento 3 e Allevamento 4) e “grandi” (Allevamento 5 e Allevamento 6), per impossibilità pratiche e logistiche di poter campionare tutte le bovine in lattazione in uno stesso momento, è stato adottato il piano di campionamento di seguito descritto:
 - Tutte le nuove infezioni, intese come nuovi casi clinici di mastite;

- Tutte le mastiti subcliniche, intese come tutti i rialzi di cellule somatiche (indicativo di un'infezione subclinica) rilevato da controlli funzionali o da California Mastitis Test (CMT).

Il periodo preso in considerazione per lo studio (l'arco di tempo in cui sono stati campionati i nuovi casi di mastite clinica e subclinica), è stato quello dei mesi di marzo, aprile, maggio e giugno.

I campioni prelevati a scopo diagnostico sono stati effettuati tenendo in considerazione le seguenti caratteristiche (OIE Manual):

- Rappresentatività: numero, tipologia, stadio della patologia
- Idoneità: sono stati prelevati in contenitori appropriati (sterili e a tenuta ermetica), gestiti correttamente (temperatura di conservazione idonea (tra +2 e +8°C) e consegnati tempestivamente al laboratorio IZS del Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta - sezione di Alessandria)
- Unicità: sono stati identificati in modo inequivocabile riportando su ogni singolo campione il numero aziendale del bovino.

[Protocollo di campionamento di latte di singolo quarto per la ricerca di germi mastidogeni, consegna al laboratorio e successiva analisi](#)

Al fine di ottenere campioni di latte in condizioni igieniche tali da evitare contaminazioni da microrganismi presenti sulla cute dell'animale/del mungitore o nell'ambiente, sono state rispettate le seguenti procedure:

- preparazione e numerazione delle provette sterili monouso;
- preparazione del materiale da impiegare per la disinfezione del capezzolo;
- pulizia del capezzolo: in presenza di capezzoli relativamente puliti, si è proceduto alla pulizia "a secco" di ogni capezzolo con carta a perdere; in caso di capezzoli sporchi, invece, la pulizia è stata effettuata tramite l'applicazione locale di schiume detergenti, successivamente rimosse con carta a perdere;
- utilizzo di guanti monouso da parte degli operatori coinvolti nel campionamento;
- disinfezione del capezzolo: questa procedura è stata eseguita tramite l'utilizzo di garze imbevute di alcool;

- eliminazione dei primi 3-4 getti di latte dal quarto da campionare. E' stata posta particolare attenzione nell'evitare il contatto tra il latte e le mani del mungitore;
- apertura asettica della provetta;
- eiezione del latte del quarto interessato nella provetta. E' stata posta particolare cura nell'impedire il contatto tra capezzolo e provetta e tra latte e mano del mungitore;
- ripetizione della procedura per ogni quarto da campionare.

I campioni di latte effettuati per il campionamento delle aziende zootecniche 1 e 2 sono stati mantenuti ad una temperatura non superiore ai +4°C e sono stati consegnati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta, sezione di Alessandria, entro 24 ore dal prelievo.

I campioni di latte effettuati sulle restanti aziende zootecniche invece, sono stati congelati a -18° C per poi essere consegnati all'IZS del Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta, sezione di Alessandria, entro 7 giorni a temperatura di congelamento.

All'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta – sede di Torino, presso i Laboratori SC Diagnostica Generale ed SS Benessere Animale, tutti i campioni di latte sono stati sottoposti ad esame batteriologico utilizzando protocolli diagnostici basati su:

- Isolamento su terreni selettivi;
- Identificazione mediante:
 - Spettrometria di massa MALDI-TOF (attuale Vitek MS, in acquisizione Bruker Biotyper)
 - Gallerie API
 - Vitek® 2 Biomerieux
 - Sequenziamento 16S RNA
- Tecniche NGS su isolati batterici
- Inserimenti dei ceppi isolati in ceppoteca

Successivamente, gli isolati batterici sono stati sottoposti ai seguenti saggi di sensibilità':

- Diffusione in agar o Kirby-Bauer

- Etest
- MIC su Vitek® 2 (card GN96, GN97, GP79, GP80, ST03) attualmente in uso
- MIC in micrometodo con Sensititre (sistema automatizzato in acquisizione, piastre customizzate per approccio terapeutico specie batterica e specie animale specifico)

I dati del campionamento descritto sono stati riassunti in una scheda compilata con le rilevazioni di ogni azienda che contiene il mese di rilevazione, il numero dei campioni infetti rilevati, il numero dei campioni positivi all'esame batteriologico, la natura delle positività e le resistenze alle prove di antibiogramma.

AZIENDA ZOOTECNICA 1

Capi in lattazione: 35

Mese	N. infezioni	n. campioni positivi all'esame batteriologico	Natura positività	Resistenze antibiogramma
Marzo	12	12	12 x Streptococcus Uberis	Streptococcus Uberis: CEFOXITINA Sensibile CEFTIOFUR Sensibile AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Intermedio AMPICILLINA Sensibile CEFACETRILE + RIFAXIMINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALEXINA + KANAMICINA Sensibile CEFALONIO Sensibile CEFAPIRINA Sensibile CEFOPERAZIONE Sensibile CEFQUINOME Sensibile CEFUROXIM Resistente CLOXACILLINA Resistente ENROFLOXACINA Sensibile MARBOFLOXACINA Resistente NEOMYCIN Sensibile OXACILLINA Sensibile PENETAMATO + FRAMICETINA Sensibile PENICILLINA Sensibile SPIRAMICINA Sensibile STREPTOMICINA Resistente TETRACICLINA Sensibile THIAMPHENICOLO Sensibile TYLOSINA Sensibile
Maggio	11	11	11 x Streptococcus Uberis	CEFOXITINA Sensibile CEFTIOFUR Sensibile AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Intermedio AMPICILLINA Sensibile CEFACETRILE + RIFAXIMINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALEXINA + KANAMICINA Sensibile

				CEFALONIO Sensibile CEFAPIRINA Sensibile CEFOPERAZONE Sensibile CEFQUINOME Sensibile CEFUROXIM Sensibile CLOXACILLINA Resistente ENROFLOXACINA Sensibile MARBOFLOXACINA Sensibile NEOMYCIN Resistente OXACILLINA Sensibile PENETAMATO + FRAMICETINA Sensibile PENICILLINA Sensibile SPIRAMICINA Sensibile STREPTOMICINA Resistente TETRACICLINA Sensibile THIAMPHENICOLO Sensibile TYLOSINA Sensibile
--	--	--	--	--

AZIENDA ZOOTECNICA 2

Capi in lattazione: 50

Mese	N. infezioni	n. campioni positivi all'esame batteriologico	Natura positività	Resistenze antibiogramma
Marzo	12	12	-11 x Streptococcus Uberis -1 x Streptococcus Dysgalactiae - 1 x Escherichia Coli - 1 x Streptococcus Gruppo D	Streptococcus Uberis: CEFOXITINA Sensibile CEFTIOFUR Sensibile AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Sensibile AMPICILLINA Sensibile CEFACETRILE + RIFAXIMINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALOTINA Resistente CEFALEXINA + KANAMICINA Sensibile CEFALONIO Sensibile CEFAPIRINA Sensibile CEFOPERAZONE Sensibile CEFQUINOME Sensibile CEFTIOFUR Resistente CEFUROXIM Resistente CLOXACILLINA Resistente ENROFLOXACINA Sensibile MARBOFLOXACINA Resistente NEOMYCIN Sensibile OXACILLINA Sensibile PENETAMATO + FRAMICETINA Sensibile PENICILLINA Resistente SPIRAMICINA Sensibile STREPTOMICINA Resistente TETRACICLINA Sensibile THIAMPHENICOLO Sensibile TYLOSINA Sensibile Streptococcus Dysgalactiae: CEFTIOFUR Sensibile

				<p>AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Sensibile AMPICILLINA Sensibile CEFACETRILE + RIFAXIMINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALEXINA + KANAMICINA Sensibile CEFALOTINA Sensibile CEFAPIRINA Sensibile CEFOPERAZONE Sensibile CEFQUINOME Sensibile CEFUROXIM Sensibile CLOXACILLINA Resistente ENROFLOXACINA Sensibile MARBOFLOXACINA Sensibile NEOMYCIN Intermedio OXACILLINA Sensibile PENETAMATO + FRAMICETINA Sensibile PENICILLINA Sensibile SPIRAMICINA Sensibile STREPTOMICINA Resistente TETRACICLINA Resistente THIAMPHENICOLO Sensibile TYLOSINA Sensibile</p>
Maggio	11	11	<p>-9 x Streptococcus Uberis -1 x Streptococcus Dysgalactiae - 1 x Escherichia Coli</p>	<p>Streptococcus Uberis: CEFOXITINA Sensibile CEFTIOFUR Sensibile AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Sensibile AMPICILLINA Sensibile CEFACETRILE + RIFAXIMINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALOTINA Resistente CEFALEXINA + KANAMICINA Sensibile CEFALONIO Sensibile CEFAPIRINA Sensibile CEFOPERAZONE Sensibile CEFQUINOME Sensibile CEFTIOFUR Resistente CEFUROXIM Resistente CLOXACILLINA Resistente ENROFLOXACINA Sensibile MARBOFLOXACINA Sensibile NEOMYCIN Resistente OXACILLINA Sensibile PENETAMATO + FRAMICETINA Sensibile PENICILLINA Resistente SPIRAMICINA Sensibile STREPTOMICINA Resistente TETRACICLINA Sensibile THIAMPHENICOLO Sensibile TYLOSINA Sensibile</p> <p>Streptococcus Dysgalactiae: CEFTIOFUR Sensibile</p>

				AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Sensibile AMPICILLINA Sensibile CEFACETRILE + RIFAXIMINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALEXINA + KANAMICINA Sensibile CEFALOTINA Sensibile CEFAPIRINA Sensibile CEFOPERAZONE Sensibile CEFQUINOME Sensibile CEFUROXIM Sensibile CLOXACILLINA Resistente ENROFLOXACINA Sensibile MARBOFLOXACINA Sensibile NEOMYCIN Intermedio OXACILLINA Sensibile PENETAMATO + FRAMICETINA Sensibile PENICILLINA Sensibile SPIRAMICINA Sensibile STREPTOMICINA Resistente TETRACICLINA Resistente THIAMPHENICOLO Sensibile TYLOSINA Sensibile
--	--	--	--	--

AZIENDA ZOOTECNICA 3

Capi in lattazione: 90

Mese	N. nuove infezioni	n. campioni positivi all'esame batteriologico	Natura positività	Resistenze antibiogramma
Marzo	6	2	2 x Enterococcus Faecalis	-
Aprile	5	2	- 1 x Enterococcus Faecalis - 1 x Escherichia Coli	-
Maggio	5	3	- 1 x Streptococcus gruppo D - 1 x Escherichia Coli - 1 x Serratia Liquefascens	-
Giugno	6	2	2 x Serratia Marcescens	-

AZIENDA ZOOTECNICA 4

Capi in lattazione: 145

Mese	N. nuove infezioni	n. campioni positivi all'esame batteriologico	Natura positività	Resistenze antibiogramma
Marzo	13	9	- 6 x Serratia Marcescens	-

			- 2 x Prototheca - 1 x Escherichia Coli	
Aprile	18	7	- 3 x Serratia Marcescens - 2 x Prototheca - 2 x Escherichia Coli	-
Maggio	10	6	- 5 x Serratia Marcescens - 1 x Prototheca	-
Giugno	27	3	- 2 x Serratia Marcescens - 1 x Escherichia Coli	-

AZIENDA ZOOTECNICA 5

Capi in lattazione: 430

Mese	N. nuove infezioni	n. campioni positivi all'esame batteriologico	Natura positività	Resistenze antibiogramma
Marzo	17	6	- 1 x Serratia Liquefascens - 3 x Streptococcus Uberis - 2 x Escherichia Coli	Streptococcus Uberis: CEFTIOFUR Sensibile AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Sensibile AMPICILLINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALOTINA Sensibile CEFOPERAZONE Sensibile CEFQUINOME Sensibile CEFUROXIM Sensibile CLOXACILLINA Resistente ENROFLOXACINA Resistente NEOMYCIN Sensibile PENICILLINA Sensibile SPIRAMICINA Intermedio STREPTOMICINA Resistente TETRACICLINA Resistente THIAMPHENICOLO Sensibile TYLOSINA Resistente
Aprile	16	3	- 1 x Streptococcus Dysgalactiae - 1 x Escherichia Coli - 1 x Streptococcus Uberis	Streptococcus uberis: CEFTIOFUR Sensibile AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Sensibile AMPICILLINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALOTINA Sensibile CEFOPERAZONE Sensibile CEFQUINOME Sensibile CEFUROXIM Sensibile CLOXACILLINA Resistente ENROFLOXACINA Sensibile MARBOFLOXACINA Sensibile NEOMYCIN Resistente PENICILLINA Sensibile SPIRAMICINA Intermedio

				<p>STREPTOMICINA Resistente TETRACICLINA Resistente THIAMPHENICOLO Sensibile TYLOSINA Resistente</p> <p>Streptococcus Dysgalactiae: CEFTIOFUR Sensibile AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Sensibile AMPICILLINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALOTINA Sensibile CEFOPERAZONE Sensibile CEFQUINOME Sensibile CEFUROXIM Sensibile</p> <p>CLOXACILLINA Resistente ENROFLOXACINA Intermedio MARBOFLOXACINA Sensibile NEOMYCIN Sensibile PENICILLINA Sensibile</p> <p>SPIRAMICINA Intermedio STREPTOMICINA Sensibile</p> <p>TETRACICLINA Resistente THIAMPHENICOLO Sensibile TYLOSINA Sensibile</p>
Maggio	9	1	Streptococcus Dysgalactiae	<p>Streptococcus Dysgalactiae: CEFTIOFUR Sensibile AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Sensibile AMPICILLINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALOTINA Sensibile CEFOPERAZONE Sensibile CEFQUINOME Sensibile CEFUROXIM Sensibile</p> <p>CLOXACILLINA Resistente ENROFLOXACINA Intermedio MARBOFLOXACINA Sensibile</p> <p>NEOMYCIN Resistente PENICILLINA Sensibile</p> <p>SPIRAMICINA Intermedio STREPTOMICINA Resistente TETRACICLINA Resistente THIAMPHENICOLO Resistente TYLOSINA Sensibile</p>
Giugno	11	3	- 1 x Escherichia Coli - 2 x Streptococcus Uberis	<p>Streptococcus uberis: CEFTIOFUR Sensibile AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Sensibile AMPICILLINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALOTINA Sensibile CEFOPERAZONE Sensibile CEFQUINOME Sensibile</p>

				CEFUROXIM Sensibile CLOXACILLINA Resistente ENROFLOXACINA Sensibile MARBOFLOXACINA Sensibile NEOMYCIN Resistente PENICILLINA Sensibile SPIRAMICINA Intermedio STREPTOMICINA Resistente TETRACICLINA Resistente THIAMPHENICOLO Sensibile TYLOSINA Sensibile
--	--	--	--	---

AZIENDA ZOOTECNICA 6

Capi in lattazione: 700

Mese	N. nuove infezioni	n. campioni positivi all'esame batteriologico	Natura positività	Resistenze antibiogramma
Marzo	55	12	- 6 x Streptococcus Uberis - 3 x Streptococcus Dysgalactiae - 3 x Echerichia Coli	Streptococcus Uberis: CEFTIOFUR Sensibile AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Sensibile AMPICILLINA Sensibile CEFACETRILE + RIFAXIMINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALEXINA + KANAMICINA Sensibile CEFALOTINA Sensibile CEFAPIRINA Sensibile CEFOPERAZONE Sensibile CEFQUINOME Sensibile CEFUROXIM Sensibile CLOXACILLINA Resistente ENROFLOXACINA Sensibile MARBOFLOXACINA Sensibile NEOMYCIN Resistente OXACILLINA Sensibile PENETAMATO + FRAMICETINA Sensibile PENICILLINA Sensibile SPIRAMICINA Resistente STREPTOMICINA Resistente TETRACICLINA Sensibile THIAMPHENICOLO Sensibile TYLOSINA Sensibile Streptococcus Dysgalactiae: CEFTIOFUR Sensibile AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Resistente AMPICILLINA Sensibile CEFACETRILE + RIFAXIMINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALEXINA + KANAMICINA Sensibile CEFALOTINA Sensibile CEFAPIRINA Sensibile

				<p>CEFOPERAZONE Sensibile CEFUQUINOME Sensibile CEFUROXIM Sensibile CLOXACILLINA Resistente ENROFLOXACINA Sensibile MARBOFLOXACINA Sensibile NEOMYCIN Sensibile OXACILLINA Sensibile PENETAMATO + FRAMICETINA Sensibile PENICILLINA Sensibile SPIRAMICINA Sensibile STREPTOMICINA Resistente TETRACICLINA Resistente THIAMPHENICOLO Sensibile TYLOSINA Sensibile</p>
Aprile	78	10	<p>- 1 x Pasteurella Multocida - 2 x Serratia Marcescens - 2 x Escherichia Coli - 5 x Streptococcus Uberis</p>	<p>Streptococcus Uberis: CLOXACILLINA Resistente ENROFLOXACINA Intermedio MARBOFLOXACINA Sensibile NEOMYCIN Sensibile OXACILLINA Sensibile PENETAMATO + FRAMICETINA Sensibile PENICILLINA Sensibile SPIRAMICINA Sensibile STREPTOMICINA Resistente TETRACICLINA Intermedio THIAMPHENICOLO Sensibile TYLOSINA Sensibile CEFTIOFUR Sensibile AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Resistente AMPICILLINA Sensibile CEFACETRILE + RIFAXIMINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALEXINA + KANAMICINA Sensibile CEFALOTINA Sensibile CEFAPIRINA Sensibile CEFOPERAZONE Sensibile CEFUQUINOME Sensibile CEFUROXIM Sensibile</p> <p>Pasteurella SPP: CEFTIOFUR Sensibile AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Sensibile AMPICILLINA Sensibile CEFACETRILE + RIFAXIMINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALEXINA + KANAMICINA Sensibile CEFALOTINA Sensibile CEFAPIRINA Sensibile CEFOPERAZONE Sensibile CEFUQUINOME Sensibile CEFUROXIM Sensibile CLOXACILLINA Resistente</p>

				<p>ENROFLOXACINA Sensibile MARBOFLOXACINA Sensibile NEOMYCIN Resistente OXACILLINA Sensibile PENETAMATO + FRAMICETINA Sensibile PENICILLINA Sensibile SPIRAMICINA Sensibile STREPTOMICINA Sensibile TETRACICLINA Sensibile THIAMPHENICOLO Sensibile TYLOSINA Sensibile</p>
Maggio	50	11	<p>- 3 x Serratia Marcescens - 3 x Escherichia Coli - 5 x Streptococcus Uberis</p>	<p>Streptococcus Uberis: CEFTIOFUR Sensibile AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Sensibile AMPICILLINA Sensibile CEFACETRILE + RIFAXIMINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALEXINA + KANAMICINA Sensibile CEFALOTINA Sensibile CEFAPIRINA Sensibile CEFOPERAZONE Sensibile CEFQUINOME Sensibile CEFUROXIM Sensibile CLOXACILLINA Resistente ENROFLOXACINA Sensibile MARBOFLOXACINA Sensibile NEOMYCIN Resistente OXACILLINA Sensibile PENETAMATO + FRAMICETINA Sensibile PENICILLINA Sensibile SPIRAMICINA Sensibile STREPTOMICINA Sensibile TETRACICLINA Sensibile THIAMPHENICOLO Sensibile TYLOSINA Sensibile</p>
Giugno	75	13	<p>- 7 x Streptococcus Uberis - 2 x Streptococcus Dysgalactiae - 4 x Echerichia Coli</p>	<p>Streptococcus Uberis: CEFTIOFUR Sensibile AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Intermedio AMPICILLINA Sensibile CEFACETRILE + RIFAXIMINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALEXINA + KANAMICINA Sensibile CEFALOTINA Sensibile CEFAPIRINA Sensibile CEFOPERAZONE Sensibile CEFQUINOME Sensibile CEFUROXIM Sensibile CLOXACILLINA Resistente ENROFLOXACINA Sensibile MARBOFLOXACINA Sensibile NEOMYCIN Resistente OXACILLINA Sensibile PENETAMATO + FRAMICETINA Sensibile PENICILLINA Sensibile</p>

				<p>SPIRAMICINA Resistente STREPTOMICINA Resistente TETRACICLINA Sensibile THIAMPHENICOLO Sensibile TYLOSINA Sensibile</p> <p>Streptococcus Dysgalactiae: CEFTIOFUR Sensibile AMOXICILLINA Sensibile AMOXICILLINA + AC. CLAVULANICO Resistente AMPICILLINA Sensibile CEFACETRILE + RIFAXIMINA Sensibile CEFALEXINA Sensibile CEFALEXINA + KANAMICINA Sensibile CEFALOTINA Sensibile CEFAPIRINA Sensibile CEFOPERAZONE Sensibile CEFQUINOME Sensibile CEFUROXIM Sensibile CLOXACILLINA Resistente ENROFLOXACINA Sensibile MARBOFLOXACINA Sensibile NEOMYCIN Sensibile OXACILLINA Sensibile PENETAMATO + FRAMICETINA Sensibile PENICILLINA Sensibile</p>
--	--	--	--	---

Le analisi statistiche descrittive sono state eseguite con il foglio di calcolo MS Excel ed è stato utilizzato il coefficiente di correlazione. La relazione lineare fra i determinanti e gli outcome registrati è stata analizzata utilizzando la regressione lineare semplice di MS Excel. Il valore di correlazione diretta viene considerato debole se compreso tra [0 e 0,25]; come moderata se tra (0,25 e 0,50]; come decisa se tra (0,50 e 0,75]; infine come forte se tra (0,75 e 1]. Mentre il valore di correlazione inversa viene considerato debole se compreso tra [0 e -0,25]; come moderata se tra (-0,25 e -0,50]; come decisa se tra (-0,50 e -0,75]; infine come forte se tra (-0,75 e -1].

PASSAGGIO DI GERMI E RELATIVE RESISTENZE DAGLI ANIMALI AGLI OPERATORI

Un lavoro rimasto embrionale ma sicuramente interessante che è stato intrapreso è stato quello di indagare sulla presenza negli operatori delle aziende oggetto di interesse di germi riscontrati nel latte mastitico delle bovine munte negli stessi allevamenti.

Con l'ausilio di Dispositivi di Protezione Individuale idonei nonché di tamponi idonei, è stato effettuato un tampone nasale su due operatori dell'azienda zootecnica 1 e tre operatori dell'azienda zootecnica 2.

Una volta effettuati, gli stessi tamponi sono stati trasportati entro 3 ore all'Ospedale di Tortona a temperatura di + 4°C e sottoposti ad esame colturale nel Laboratorio di Patologia Clinica e Microbiologia di Tortona.

In particolare, è stata posta particolare attenzione nei confronti di quelle specie microbiche isolate dai campioni di latte bovino.

RISULTATI

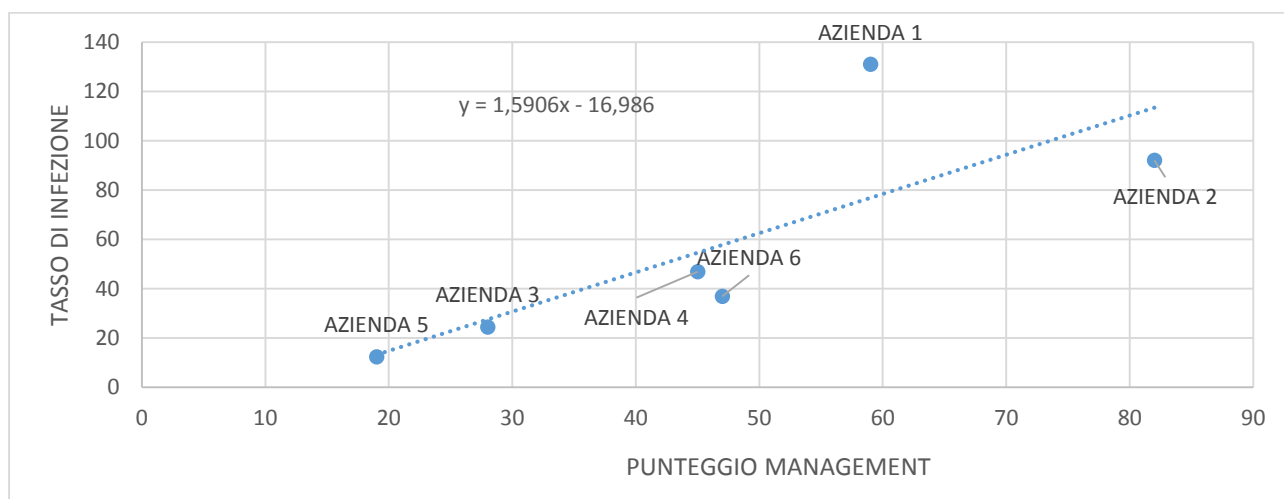
In ogni azienda è stata applicata la check-list del C.R.E.N.B.A. (Tabella 1) dalla quale si è ottenuto un punteggio finale riportato in Tabella 1 (colonna "Punteggio Complessivo Management") che costituisce il primo determinante; il secondo determinante è rappresentato dall'Indice di rischio (espresso in DDD/Y) che è stato calcolato utilizzando il database del SIVAR e il risultato è rappresentato in Tabella 1, nella colonna "Indice di Rischio".

Gli outcome di nostro interesse sono costituiti dal tasso di infezione che è stato calcolato come numero di infezioni registrate diviso il numero di capi per ogni azienda, mentre il tasso di resistenza è stato calcolato come numero di resistenze rilevate dal laboratorio IZS diviso il numero dei campioni raccolti per ogni azienda (schede analitiche aziendali in Tabella 2); i risultati sono presentati nelle colonne in Tabella 3, colonna "tasso di infezione" e "tasso di resistenze".

Tabella 3: risultati delle rilevazioni dei determinanti (gestione aziendale e consumo di farmaci) e degli outcome (incidenza di infezioni e antimicrobico-resistenza)				
AZIENDA	PUNTEGGIO COMPLESSIVO MANAGEMENT	INDICE DI RISCHIO (DDD/Y)	TASSO DI INFEZIONE (n.infezioni/n.capi) *100	TASSO DI RESISTENZE (n.resistenze/n.campioni positivi)*100
1	59	6,240	131	69,56
2	82	-	92	51,06
3	28	4,463	24,4	0
4	45	11,098	46,89	0
5	19	4,838	12,32	61,53
6	47	13,686	36,85	152,38

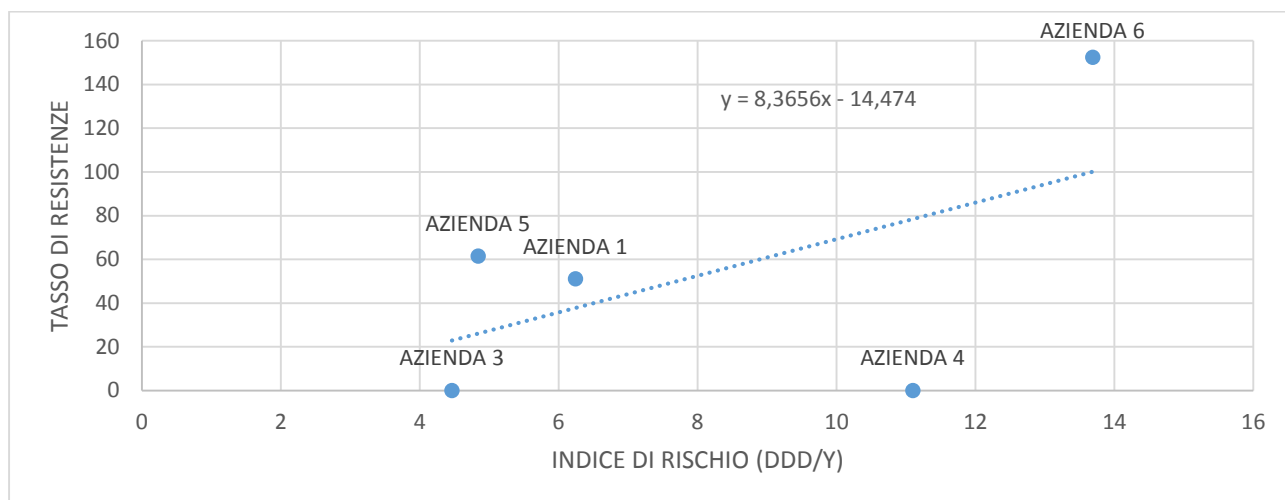
Volendo studiare la potenziale relazione tra il punteggio manageriale e il tasso di infezione, osserviamo dal Grafico 1 seguente che la correlazione statistica fra queste due variabili è pari a 0,74, che corrisponde a una correlazione decisa tra gestione manageriale e incidenza di infezioni; inoltre osserviamo che il coefficiente di regressione pari a 1,5, indica che ad ogni variazione di un punto del punteggio della gestione manageriale può corrispondere un incremento dell'incidenza delle infezioni pari a 1,5 per 100 capi, in altre parole una variazione di 10 punti della gestione manageriale può corrispondere a un incremento di 15 infezioni per 100 capi. Bisogna sottolineare che la ridotta dimensione campionaria rende queste stime puramente indicative.

Grafico 1: correlazione tra tasso di infezione e punteggio management



Volendo studiare invece la potenziale relazione tra l'indice di rischio espresso in DDD/Y e il tasso di resistenze, osserviamo dal grafico 2 seguente che la correlazione statistica fra queste due variabili è pari a 0,55, che corrisponde a una correlazione anche in questo caso decisa tra utilizzo del farmaco e incidenza di resistenze; inoltre osserviamo che il coefficiente di regressione pari a 8,4, indica che ad ogni variazione di un punto del punteggio dell'indice di rischio può corrispondere un incremento dell'incidenza delle resistenze pari a 8,4 per 100 capi, in altre parole una variazione di 10 punti del DDD/Y può corrispondere a un incremento di 84 resistenze per 100 capi. Anche in questo caso dobbiamo sottolineare che la ridotta dimensione campionaria rende queste stime puramente indicative.

Grafico 2: correlazione tra tasso di resistenze e indice di rischio



Passaggio di germi dagli animali all'uomo

I risultati dei tamponi nasali effettuati sugli operatori delle aziende zootecniche 1 e 2 sono stati i seguenti:

Operatore	Risultato da esame colturale	Isolamento dello stesso germe da latte bovino	Resistenze germi tampone nasale	Resistenze germi latte bovino
Operatore 1 Azienda 1	Streptococcus spp	Si (vedi Tabella 2)	Ceftriaxone Moxifloxacina Levofloxacina	uguali
Operatore 2 Azienda 1	Proteus Mirabilis	-	-	-
Operatore 1 Azienda 2	-	-	-	-
Operatore 2 Azienda 2	Streptococcus spp	Si (vedi Tabella 2)	Ceftriaxone Moxifloxacina Levofloxacina	uguali
Operatore 3 Azienda 2	-	-	-	-

DISCUSSIONI E CONCLUSIONI

Dall'analisi delle due correlazioni si dimostra che il tasso di resistenze e il tasso di infezione sono fortemente influenzati da due fattori:

- nel primo caso dal numero di antibiogrammi effettuati dal laboratorio e su quali germi lo stesso decide di effettuare l'antibiogramma;
- nel secondo caso dall'affidabilità dell'allevatore e dall'operatore nel campionare effettivamente tutti i casi di nuove infezioni, sia da casi clinici che da rialzi di cellule somatiche.

Inoltre la piccola dimensione campionaria non permette di concludere in modo definitivo, tuttavia sulla base degli esiti analitici e in relazione alle diverse tipologie aziendali, si può concludere che questi suggeriscono una correlazione positiva tra gestione manageriale e incidenza di infezioni mammarie (mastiti), nonché tra indice di rischio relativo al consumo di farmaco e insorgenza di resistenze.

Applicare questo metodo di analisi in un campione più grande potrebbe aiutarci a suggerire con maggiore sicurezza qual è la relazione tra gli stessi determinanti e outcome.

Per quanto riguarda il riscontro di microrganismi appartenenti alla stessa specie sia nel latte bovino che negli operatori aziendali, questo dimostra la potenziale trasmissione di germi dall'animale all'uomo. Per capire se entrambi effettivamente condividono gli stessi agenti eziologici bisognerebbe approfondire l'argomento con studi che prevedano il sequenziamento genetico dei microrganismi sia animali che umani.

Risulta però altrettanto interessante la presenza delle stesse resistenze tra i germi riscontrati nel latte bovino e quelli nelle prime vie respiratorie degli operatori, riscontro che meriterebbe sicuramente ulteriori approfondimenti.

BIBLIOGRAFIA

“Aggiornamenti in Buiatria”, Ed. EV, Cremona, Italia.

Arrigoni N., Diegoli G., Lanza G. Lazzaretti G., Miraglia V., Trambajolo G. (2018): “linee guida Uso dell’antimicrobico nell’allevamento bovino da latte Regione Emilia-Romagna”

Arrigoni N, Garbarino C, Franco A, Battisti A (2014). “Strumenti diagnostici e test di sensibilità agli antibiotici nell’approccio alla terapia della mastite bovina”. In Seminario Nazionale SIVAR

Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turk M (1966) “Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Path”, 45(4): 493-6.

Constable P.D., Pyörälä S. e Smith G. W. (2008). “Guidelines for antimicrobial use in cattle”.

Committee for Medicinal Products for Veterinary use (CVMP), Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP), 2019. “Categorisation of antibiotics in the European Union”

Constable P.D., Pyörälä S. e Smith G. W. (2008). Guidelines for antimicrobial use in cattle. Da: Guardabassi L, Jensen L.B. e Kruse H., Guide to antimicrobial use in animals, ed. Blackwell, Oxford; 143-160.

ECDC, The Lancet Infectious Diseases (2018). Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis.

EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) (2012). Scientific Opinion on the use of animal-based measures to assess welfare of dairy cows, EFSA Journal 2012; 10(1):2554.

Feldmann M., A Zimmermann, M Hoedemaker (2006) “Influence of milking technique, milking hygiene and environmental hygiene parameters on the microbial contamination of milking machines”.

Franco Aldrovandi, (2014) “DDD: monitorare gli antibiotici” – Professione Veterinaria 13-2014

Fusi Roberta, Tesi di laurea specialistica (2016) “Indagini sulle mastiti bovine: aspetti diagnostici e microbiologici”.

Haltia Laura, Tuula Honkanen-Buzalski, Irina Spiridonova, Arvi Olkonen, Vesa Myllys (2006) “A study of bovine mastitis, milking procedures and management practices on 25 Estonian dairy herds”.

Japertiene R., V.Juozaitiene, J.Kriauziene, J.Rudejeviene, S.Japertas (2007) "The interrelationships between milkability traits and subclinical mastitis in cows".

Luigi Bertocchi, F.Fusi, A. Angelucci, V. Lorenzi, (2018). "Linee guida per la valutazione del benessere e della biosicurezza nell'allevamento bovino da carne".

M.A.Kossaibati, R.J.Esslemont (1997). The costs of production diseases in dairy herds in England.

Olivo R., P.Semprini (2006) Mechanical milking and its relation to the hygiene of milk.

Rajala-Schultz P.J., K.L.Smith, J.S.Hogan, B.C.Love (2004). "Antimicrobial susceptibility of mastitis pathogens from first lactation and older cows"

Randy T. Dingwell, Ken E. Leslie, Ynte H. Schukken, Jan M. Sargeant, and Leo L. Timms (2003). "Evaluation of the California mastitis test to detect an intramammary infection with a major pathogen in early lactation dairy cows"

Ruegg P.L. - Journal of dairy science (2017) "A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention"

Sandrucci A., L.Bava, M.Brasca, M.Laurenti, R.Lodi, R.Piccinini, P.Roveda, M.Sanna, A.Tamburini, L.Vanoni, L.Zanini, A.Zecconi, M.Zucali (2010) "igiene e sicurezza del latte bovino alla stalla: sistema integrato di diagnosi"

Stephen P.Oliver, Shelton E. Murinda, Bhushan M. Jayarao (2011), "Impact of antibiotic use in adult dairy cows on antimicrobial resistance of veterinary and human pathogens: a comprehensive review"

Stephen P.Oliver, Shelton E.Murinda (2011), "Antimicrobial resistance of mastitis pathogens"

Valiani A., Piermario Mangili (2018), "miglioramento della qualità del latte. Servizi di consulenza tecnica in zootecnia e programma di prevenzione e controllo delle epizootie", IZS Umbria e Marche DGR n°1402/2016 e 103/2017.

Zucali Maddalena, Luciana Bava, Alberto Tamburini, Milena Brasca, Laura Vanoni, Anna Sandrucci (2011) "Effects of season, milking routine and cow cleanliness on bacterial and somatic cell counts of bulk tank milk"