

**AVVISI PUBBLICI REGIONALI DI ATTUAZIONE PER L'ANNO 2017 DEL
TIPO DI OPERAZIONE 16.2.01 "SUPPORTO PER PROGETTI PILOTA E
PER LO SVILUPPO DI NUOVI PRODOTTI, PRATICHE, PROCESSI E
TECNOLOGIE NEL SETTORE AGRICOLO E AGROINDUSTRIALE"**

FOCUS AREA 3A DGR N. 227 DEL 27 FEBBRAIO 2017

RELAZIONE TECNICA INTERMEDIA X FINALE

DOMANDA DI SOSTEGNO ... 5052132

DOMANDA DI PAGAMENTO ... 5191228

FOCUS AREA: 3A

Titolo Piano	Riduzione dell'uso di antibiotici nell'allevamento della vacca da latte mediante trattamenti mirati 'MenoFarmaco'
Ragione sociale del proponente (soggetto mandatario)	Consorzio Granterre S.C.A

Durata originariamente prevista del progetto (in mesi)	18
Data inizio attività	03/09/2018
Data termine attività (incluse eventuali proroghe già concesse)	04/03/2020

Relazione relativa al periodo di attività dal	03/09/2018	al 04/03/2020
Data rilascio relazione	29/06/2020	

Autore della relazione	Aldo Dal Prà		
telefono		email	a.dalpra@crpa.it

Sommario

1 - Descrizione dello stato di avanzamento del Piano.....	3
1.1 Stato di avanzamento delle azioni previste nel Piano.....	3
2 - Descrizione per singola azione.....	4
2.1 Attività e risultati.....	4
2.2 Personale	9
2.3 Trasferte	9
2.4 Materiale consumabile.....	10
2.5 Spese per materiale durevole e attrezzature	10
2.6 Materiali e lavorazioni direttamente imputabili alla realizzazione	10
dei prototipi	10
2.7 Attività di formazione.....	11
2.8 Collaborazioni, consulenze, altri servizi	11
3 - Criticità incontrate durante la realizzazione dell'attività.....	12
4 - Altre informazioni.....	12
5 - Considerazioni finali	12
6 - Relazione tecnica.....	12

1 - Descrizione dello stato di avanzamento del Piano

Descrivere brevemente il quadro di insieme relativo alla realizzazione del piano.

Il progetto a partire dal kick-off meeting è stato caratterizzato dalla fattiva collaborazione dei soggetti coinvolti nello svolgimento delle azioni tecniche (veterinari e tecnici delle stalle) ed il personale del laboratorio incaricato allo svolgimento dell'esecuzione del significativo numero di campioni da processare, strettamente collegati ai risultati del progetto. Ciò ha permesso il rispetto pieno della tabella di marcia dettagliata nella sezione degli indicatori di risultato che dettaglia i *milestone* del Piano 'ManoFarmaco'. L'obiettivo del Piano è stato quello di fornire un tassello utile a contrastare lo sviluppo dell'antibiotico resistenza, in linea con il concetto di One-Health. Tale obiettivo si è concretizzato con l'uso mirato e ridotto di antibiotici in stalla, in particolare, alla messa in asciutta delle vacche. I trattamenti mirati effettuati anche in accordo con le Linee Guida regionali hanno consentito il perseguimento di tutti gli obiettivi prefissati, primi tra i quali: il contenimento del numero di casi di mastiti in azienda ed incremento del benessere degli animali, meno afflitti dalla malattia e le riduzioni degli scarti imputabili al latte proveniente da bovine trattate con antibiotici. Gli approfondimenti previsti e realizzati hanno consentito inoltre la caratterizzazione ed il miglioramento delle caratteristiche reologiche del latte destinato alla trasformazione in Parmigiano Reggiano, conseguente alla riduzione delle cellule somatiche del latte. L'azione di divulgazione ha consentito di coinvolgere un'ampia platea di tecnici del settore lattiero-caseario specialmente legati alla produzione di Parmigiano Reggiano; gli incontri tecnici realizzati sulla base di un piano tematico concordato sono stati tenuti da personale qualificato, sono state inoltre realizzate le previste pubblicazioni, i comunicati stampa di inizio e chiusura progetto inviati e pubblicizzati sui siti istituzionali dei partner.

1.1 Stato di avanzamento delle azioni previste nel Piano

Azione	Unità aziendale responsabile	Tipologia attività	Mese inizio attività previsto	Mese inizio attività effettivo	Mese termine attività previsto	Mese termine attività effettivo
1. Esercizio della cooperazione	Consorzio Granterre SCA	Organizzazione e management delle attività progettuali	03/09/2018	03/09/2018	04/03/2020	04/03/2020
3.1. Indagine storica sull'incidenza delle mastiti e sull'uso terapeutico degli antibiotici	Centro Ricerche Produzioni Animali – CRPA S.p.A.	Indagine conoscitiva ex-ante le attività progettuali	03/09/2018	03/09/2018	04/03/2020	04/03/2020
3.2. Campionamento delle cellule somatiche e gestione della mandria (pre-parto)	Centro Ricerche Produzioni Animali – CRPA S.p.A.	Organizzazione delle attività in stalla, campionamenti ed analisi	03/09/2018	03/09/2018	04/03/2020	04/03/2020
3.3. Campionamento delle cellule somatiche e gestione della mandria (post-parto e picco)	Centro Ricerche Produzioni Animali – CRPA S.p.A.	Organizzazione delle attività in stalla, campionamenti ed analisi	03/10/2018	03/10/2018	04/03/2020	04/03/2020
3.4 Elaborazione dei dati e validazione del modello	Centro Ricerche Produzioni Animali – CRPA S.p.A.	Validazione ed elaborazione dei dati	03/09/2019	03/09/2019	04/03/2020	04/03/2020

4. Divulgazione	Consorzio Granterre SCA	Disseminazione dei dati afferenti le attività pianificate e dei risultati	03/09/2018	03/09/2018	04/03/2020	04/03/2020
-----------------	-------------------------	---	------------	------------	------------	------------

2 - Descrizione per singola azione

Compilare una scheda per ciascuna azione

2.1 Attività e risultati

Azione	1. Esercizio della cooperazione
Unità aziendale responsabile	Consorzio Granterre SCA
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p>Le attività dell'Operazione 16.2.01 'MenoFarmaco' dopo l'ufficialità delle comunicazioni istituzionali di formale avvio del progetto, sono partite con due distinti kick-off meeting, il primo amministrativo-gestionale tenutosi in data 11/10/2018 ed il secondo prettamente tecnico tenutosi in data 19/10/2018. Il ruolo di coordinatore come previsto è stato assunto dal Consorzio Granterre SCA, nel corso dei meeting sono stati attribuiti i compiti di ciascuno dei partner e delle figure coinvolte all'interno dei partner stessi. Tutti i partecipanti hanno manifestato fattiva collaborazione nel raggiungimento degli obiettivi dell'Operazione, condividendo e mettendo reciprocamente a disposizione ogni informazione, dato e risorsa necessari alle attività e in funzione dei ruoli assegnati. Come previsto è stato istituito un Comitato del Piano (CP) che formalmente si è riunito ogni 6 mesi, in realtà le specifiche attività del progetto hanno portato ad incontri tecnici frequenti (non verbalizzati) per la pianificazione e lo svolgimento delle azioni tecniche. Nei previsti tempi è stato dato l'avvio del Piano anche in termini formali/contrattuali, amministrativi e operativi. Nel corso dei previsti (CP), a cura del Consorzio Granterre SCA è stato verificato il rispetto delle scadenze e della coerenza dell'attività con il piano; la valutazione della corrispondenza delle attività in corso di svolgimento rispetto a quelle proposte e in conformità agli obiettivi del Piano; il mantenimento dei rapporti con gli uffici regionali competenti ed il corretto andamento delle operazioni e il rispetto dei vincoli di budget disponibile per il Piano. Le attività di Cooperazione sono state svolte in collaborazione con CRPA che si avvale del proprio sistema di gestione della qualità (SGQ) conforme alla norma ISO 9001:2015 ed avente come scopo di certificazione: 'servizi di ricerca e sviluppo sperimentale, consulenza tecnica (assistenza tecnica), sviluppo di sistemi informativi e divulgazione scientifica nel settore agro-alimentare e agro-ambientale'. (Certificato IT10/0274.01 (CRPA S.p.A.).</p>
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<p><i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecniche emerse durante l'attività</i></p> <p>Le attività sono state svolte in modo completo ed esaustivo</p>
Attività ancora da realizzare	<p><i>Solo per relazioni intermedie - descrivere sinteticamente le attività ancora da realizzare</i></p>

Azione	3.1. Indagine storica sull'incidenza delle mastiti e sull'uso terapeutico degli antibiotici
Unità aziendale responsabile	Centro Ricerche Produzioni Animali – CRPA S.p.A.
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p>Le azioni del Piano si sono sviluppate principalmente nelle 3 aziende di produzione primaria beneficiarie della filiera (Azienda La Corte, Azienda Oppio e Azienda Castello); nei 2 caseifici (Albalat e Bonlatte-Riolo) dove è conferito il latte di queste aziende. Le fasi della filiera coinvolte sono state prevalentemente la produzione agricola ma anche la trasformazione.</p> <p>La routine di gestione ed i principi attivi utilizzati sono stati individuati in questa specifica azione. Oppio e Castello effettuavano i trattamenti sull'intera mandria. La pregressa esperienza dell'azienda la Corte sull'impiego dell'asciutta selettiva anche con l'ausilio del conteggio delle cellule somatiche differenziali (linfociti, macrofagi e leucociti polimorfonucleati) come descritto da Damm et al., 2017; ha invece portato ad una significativa riduzione dell'utilizzo degli antibiotici già nella fase precedente a questa di sperimentazione (26 % rispetto al totale degli animali asciugati); non sono stati elaborati dati in merito alle differenze tra il gruppo di bovine asciugate 'tradizionalmente' e quelle asciugate con la sola applicazione di sigillante mammario.</p>
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<p><i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnico-scientifiche emerse durante l'attività</i></p> <p>Le attività sono state svolte in modo completo ed esaustivo</p>
Attività ancora da realizzare	<p><i>Solo per relazioni intermedie - descrivere sinteticamente le attività ancora da realizzare</i></p>

Azione	3.2. Campionamento delle cellule somatiche e gestione della mandria (pre-parto)
Unità aziendale responsabile	ARTEST S.p.A.
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p>L'azione 3.2 anche sulla base dei risultati ottenuti dall'Azione 3.1 'Indagine storica sull'incidenza della mastiti e sull'uso terapeutico degli antibiotici' si è posta l'obiettivo, mediante un dettagliato piano di monitoraggio, di evidenziare l'incidenza delle cellule somatiche durante la fase della messa in asciutta delle bovine. E' stato condotto un accurato studio sulle cellule somatiche (metodica: ISO13366-2:2006 IDF 148-2:2006 Milk Enumeration of somatic cells – Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters) dei singoli quarti (oltre 2.200 bovine nella fase di pre-parto ed immediato post-parto, 2.200 bovine al picco di lattazione). A differenza delle metodiche tradizionalmente utilizzate, oltre al numero complessivo di cellule, le analisi, finalizzate alla conta cellulare del latte, sono state effettuate mediante l'utilizzo dello strumento Fossomatic™ 7 (conta le cellule somatiche utilizzando la citometria a flusso per riconoscere il DNA delle cellule) ed hanno restituito i valori della conta differenziale (linfociti, macrofagi e leucociti polimorfonucleati). I risultati ottenuti hanno consentito una significativa riduzione dell'uso degli antibiotici in questa delicata fase di allevamento sia nella stalla con pregressa esperienza (La Corte) che nelle altre</p>

	due realtà aziendali coinvolte. Le attività di asciutta selettiva proseguiranno oltre la durata della presente sperimentazione.
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnicoscientifiche emerse durante l'attività</i>
Attività ancora da realizzare	Le attività sono state svolte in modo completo ed esaustivo <i>Solo per relazioni intermedie - descrivere sinteticamente le attività ancora da realizzare</i>

Azione	3.3. Campionamento delle cellule somatiche e gestione della mandria (post-parto e picco)
Unità aziendale responsabile	ARTEST S.p.A.
Descrizione delle attività	<i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i> L'azione 3.3 anche sulla base dei risultati ottenuti dall'Azione 3.1 'Indagine storica sull'incidenza della mastiti e sull'uso terapeutico degli antibiotici' si è posta l'obiettivo, mediante un dettagliato piano di monitoraggio, di evidenziare l'incidenza delle cellule somatiche durante due successive fasi del post-parto: A. 8 giorni dal parto (\pm 5 giorni); B. Picco di lattazione 60 giorni dal parto (\pm 9 giorni). Nelle due fasi oggetto dell'indagine è stato condotto un accurato studio sulle cellule somatiche (metodica: ISO13366-2:2006 IDF 148-2:2006 Milk Enumeration of somatic cells – Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters) dei singoli quarti (oltre 2.200 bovine nella fase di pre-parto ed immediato post-parto, 2.200 bovine al picco di lattazione). A differenza delle metodiche tradizionalmente utilizzate, oltre al numero complessivo di cellule, le analisi, finalizzate alla conta cellulare del latte, sono state effettuate mediante l'utilizzo dello strumento Fossomatic™ 7 (conta le cellule somatiche utilizzando la citometria a flusso per riconoscere il DNA delle cellule) ed hanno restituito i valori della conta differenziale (linfociti, macrofagi e leucociti polimorfonucleati). I risultati ottenuti non hanno fatto registrare differenze significative tra i gruppi precedentemente trattati (pre-asciutta) con antibiotico e quelli con il solo sigillante in termini di infezioni contratte successivamente al parto. L'asciutta effettuata sui singoli capezzoli risulta di complessa gestione in stalla e si suggerisce pertanto, laddove necessario, l'asciutta selettiva applicata a livello di mammella intera (singolo animale)
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnicoscientifiche emerse durante l'attività</i>

	Le attività sono state svolte in modo completo ed esaustivo
Attività ancora da realizzare	<i>Solo per relazioni intermedie - descrivere sinteticamente le attività ancora da realizzare</i>

Azione	3.4 Elaborazione dei dati e validazione del modello
Unità aziendale responsabile	Centro Ricerche Produzioni Animali – CRPA S.p.A.
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p>Il presente studio suggerisce come un protocollo di asciutta selettiva, basato su criteri rigorosi di analisi e di trattamento, sia oggi possibile in Italia senza ripercussioni negative in termini di aumento di mastiti cliniche o subcliniche e con evidenti ricadute positive in termini di riduzione dell'utilizzo del farmaco e, di conseguenza, del rischio di insorgenza di antibiotico-resistenza. Il passaggio ormai cogente tra trattamento di massa nella fase del pre-asciutta e trattamento selettivo della mandria non può tuttavia non rappresentare una fase del processo di management generale che tenga in debito conto degli aspetti legati all'igiene della mungitura, al miglioramento degli ambienti di stabulazione e di gestione sanitaria in senso lato.</p>
Grado di raggiungimento degli obiettivi, scostamenti rispetto al piano di lavoro, criticità evidenziate	<p><i>descrivere in che misura sono stati raggiunti gli obiettivi previsti, giustificando eventuali scostamenti dal progetto originario. Analizzare eventuali criticità tecnico scientifiche emerse durante l'attività</i></p> <p>Le attività sono state svolte in modo completo ed esaustivo</p>
Attività ancora da realizzare	<i>Solo per relazioni intermedie - descrivere sinteticamente le attività ancora da realizzare</i>

Azione	4. Divulgazione
Unità aziendale responsabile	Consorzio Granterre SCA
Descrizione delle attività	<p><i>descrizione delle attività svolte per il raggiungimento degli obiettivi previsti dall'azione</i></p> <p>Le attività dell'Operazione 16.2.01 'MenoFarmaco' è stata realizzata da Consorzio Granterre S.C.A. con il supporto tecnico-scientifico di CRPA S.p.A. Lo scopo del piano di divulgazione e trasferimento dei risultati è stato quello di ottenere, con un mix di iniziative, un'ampia ricaduta dei risultati ottenuti dalle attività del Piano di Innovazione: in primo luogo a favore delle aziende che partecipano alla filiera perché prime utilizzatrici dirette degli strumenti e dei prodotti dal Piano, delle aziende del settore. Con approccio condiviso è stato infatti pianificato un programma di eventi tecnico divulgativi funzionali al</p>

trasferimenti delle attività svolte all'intera filiera coinvolta (dalle aziende di produzione primaria fino alla trasformazione del latte). Nel corso dei 18 mesi di lavoro, sono state realizzate le seguenti le attività di divulgazione e trasferimento dei risultati in concerto con gli altri componenti dell'Operazione 'MenoFarmaco':

- una pagina internet dedicata al piano nel dominio di Granterre (<https://www.granterre.it/index.php/progetto-feasr>). Il sito si compone di una home page con carosello e news in primo piano e diverse sezioni con le news di 'MenoFarmaco'.

Realizzazione di prodotti divulgativi:

- Un Comunicato stampa di avvio del progetto il 20 ottobre 2018;
Stesura e pubblicazione di n. 2 articoli di n. 2 in programma su riviste/siti specializzati:

- GAMBERINI A., Meno antibiotici, si può fare. Agrinotizie. 8 Aprile 2019. <https://agronotizie.imagelinetwork.com/zootecnia/2019/04/08/meno-antibiotici-si-puo-fare/62549>;

- RUI G., MANTOVI P., DAL PRA' A. Con il separato in lettiera un'opportunità di risparmio. SUPPLEMENTO a L'Informatore agrario, numero 4, 2020, p.43-45. <https://www.informatoreagrario.it/filiere-produttive/zootecnia/con-il-separato-in-lettiera-unopportunita-di-risparmio/>

Sono stati organizzati i previsti eventi di divulgazione: nello specifico 2 incontri tecnici di approfondimento entro i partecipanti alla filiera e dedicati alla illustrazione delle metodologie e degli strumenti prodotti in uso nel Piano. La finalità è stata quella di coinvolgere ed informare i partecipanti al progetto di filiera sulla iniziativa di innovazione che li va a toccare e sulle opportunità che la sua applicazione potrà dare. Sono stati realizzati i template degli inviti e spediti a cura del Capofila (in parte anche da CRPA), i partecipanti hanno firmato il predisposto registro delle presenze. Sotto il dettaglio degli eventi:

- Strutture d'allevamento, benessere e sanità animale. 28 Novembre 2019; (relazione tecnica a cura di A. Gastaldo – Fondazione CRPA Studi Ricerche);
- Le rese casearie nel comprensorio del Parmigiano Reggiano: aspetti innovativi, tecnologici e monitoraggio del dato nel caseificio. 06 Dicembre 2019; (relazioni tecniche a cura di E. Bortolazzo - CRPA Lab, D. Capitani - Artest, F. Gericke - Parmareggio);
- Un Comunicato stampa di fine del progetto il 24 Febbraio 2020;
- Il Convegno finale del progetto previsto il 24 Febbraio 2020 è stato cancellato a seguito del Decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri (GU Serie Generale n.47 del 25-02-2020). Lo stesso evento è stato realizzato con modalità webinar in data 27 Maggio 2020, in occasione del webinar finale è stato inoltre redatto ed inviato ai partecipanti il comunicato stampa finale e

2.7 Attività di formazione

Descrivere brevemente le attività già concluse, indicando per ciascuna: ID proposta, numero di partecipanti, spesa e importo del contributo richiesto

--

2.8 Collaborazioni, consulenze, altri servizi

CONSULENZE - PERSONE FISICHE

Nominativo del consulente	Importo contratto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
Totale:			

CONSULENZE – SOCIETÀ

Ragione sociale della società di consulenza	Referente	Importo contratto	Attività realizzate / ruolo nel progetto	Costo
Centro Ricerche Produzioni Animali – CRPA S.p.A.		49.330,00	Attività azione 3.1 raccolta ed elaborazione dati storici mastiti e uso trattamenti farmacologici antibiotici, regimi alimentari e situazione igienico-sanitaria delle aziende partner; raccolta ed elaborazione dati rese casearie (per euro 11.030,00) Attività azione 3.4 monitoraggio dati, elaborazione, validazione modello gestionale mastiti in azienda (per euro 28.200,00) Attività azione 4 Divulgazione collaborazione alla predisposizione di contenuti tecnici, materiali e report (per euro 10.100,00).	49.330,00
Artest S.p.A.		184.894,00	Attività azione 3.2 campionamenti cellule somatiche e gestione mandria (pre-parto), dettagliato piano di monitoraggio per evidenziare l'incidenza delle cellule somatiche durante la fase della messa in asciutta delle bovine (per euro 88.410,00) Attività azione 3.3 campionamenti cellule somatiche e gestione mandria (post-parto e picco) ripetizione del monitoraggio delle cellule somatiche dei singoli quarti delle 2200 bovine interessate alla prima fase del	184.894,00

			monitoraggio, così da avere un primo riscontro sull'efficacia della gestione delle due differenti tesi (per euro 96.484,00)	
		Totale:	234.224,00	Totale: 234.224,00

3 - Criticità incontrate durante la realizzazione dell'attività

Lunghezza max 1 pagina

Criticità tecnico scientifiche	
Criticità gestionali (ad es. difficoltà con i fornitori, nel reperimento delle risorse umane, ecc.)	
Criticità finanziarie	

4 - Altre informazioni

Riportare in questa sezione eventuali altri contenuti tecnici non descritti nelle sezioni precedenti

5 - Considerazioni finali

Riportare qui ogni considerazione che si ritiene utile inviare all'Amministrazione, inclusi suggerimenti sulle modalità per migliorare l'efficienza del processo di presentazione, valutazione e gestione di proposte da cofinanziare

6 - Relazione tecnica

DA COMPILARE SOLO IN CASO DI RELAZIONE FINALE

Descrivere le attività complessivamente effettuate, nonché i risultati innovativi e i prodotti che caratterizzano il Piano e le potenziali ricadute in ambito produttivo e territoriale

L'Operazione 'MenoFarmaco' con un importante programma di analisi del latte e gestione della mandria ha consentito di fornire importanti informazioni in linea con l'obiettivo di ridurre l'utilizzo di antibiotici promuovendo altresì un razionale impiego delle molecole. Le attività dell'Operazione che si sono concentrate sulla fase di 'messa in asciutta' delle bovine, ha consentito di dimostrare l'applicabilità dell'asciutta selettiva che ha permesso una significativa riduzione degli antibiotici in questa fase. Il progetto ha dimostrato come i fenomeni biologici e la diversa prevalenza di agenti eziologici di mastite nelle diverse stalle, renda difficile l'applicazione di un protocollo univoco di gestione ed indirizza invece verso una gestione personalizzata alle singole realtà. I diversi risultati nelle tre stalle oggetto dell'indagine confermano pertanto che non è possibile modificare un parametro in un'equazione (cessazione della terapia antibiotica generale) senza allo stesso tempo modificare l'aspetto gestionale e comportamentale nella mandria adattandolo alla nuova situazione. Il 'fenomeno' delle mastiti così penalizzante sui bilanci aziendali è 'spiegato' anche dall'igiene della mungitura, dal benessere degli animali, dal management e dalle strutture aziendali. I risultati di 'MenoFarmaco' seppur ottenuti in 3 realtà dove gli aspetti di cui sopra risultano essere estremamente curati, può essere esteso a realtà più piccole ma altrettanto importanti per il circuito della DOP Parmigiano Reggiano ed in generale per l'economia della Regione Emilia-Romagna.

Data 29/06/2020

IL LEGALE RAPPRESENTANTE



UNIONE EUROPEA
Fondo Europeo Agricolo
per lo Sviluppo Rurale



Regione Emilia-Romagna

L'Europa investe nelle zone rurali

Regione Emilia Romagna - Programma regionale di sviluppo rurale 2014 2020 - Misura 16.2.01

SUPPORTO PER PROGETTI PILOTA E PER LO SVILUPPO DI NUOVI PRODOTTI,
PRATICHE, PROCESSI E TECNOLOGIE NEL SETTORE AGRICOLO E AGROINDUSTRIALE

Focus Area 3A

DGR N. 227 DEL 27 FEBBRAIO 2017

Consorzio Granterre S.C.A

**Riduzione dell'uso di antibiotici nell'allevamento
della vacca da latte mediante trattamenti mirati 'MenoFarmaco'**

(domanda di sostegno: 5052132)

ALLEGATO alla Rendicontazione tecnica finale

redazione tecnica a cura di:



Azione 1. Esercizio della cooperazione

Unità aziendale responsabile - Consorzio Granterre SCA

L'azione è stata realizzata da Consorzio Granterre S.C.A. con il supporto tecnico di CRPA.

Azione 3.1. Indagine storica sull'incidenza delle mastiti e sull'uso terapeutico degli antibiotici

Unità aziendale responsabile - Centro Ricerche Produzioni Animali – CRPA S.p.A.

a) Introduzione

La mastite bovina è una patologia della ghiandola mammaria su base infiammatoria largamente diffusa nell'allevamento bovino da latte in tutto il mondo. Considerando la grande varietà di agenti eziologici implicati in questo tipo di processo, le loro differenze dal punto di vista microbiologico, patogenetico ed epidemiologico, nonché il forte impatto esercitato dalla gestione aziendale e, in particolare, dalle pratiche igieniche e di mungitura sulla sua insorgenza e diffusione, essa rappresenta una delle sfide più complesse nell'ambito dell'allevamento degli animali da reddito. Le difficoltà che si incontrano nel tentativo di stabilire una strategia terapeutica adeguata, quando essa si renda necessaria, sono molteplici e comprendono fattori relativi all'animale (età, stadio di lattazione, gravità della sintomatologia), alla stessa terapia (tipo di antibiotico, via di somministrazione) e all'agente eziologico (specie, fattori di virulenza). Inoltre, affinché essa risulti efficace, è fondamentale servirsi di metodiche che permettano di valutare la suscettibilità agli antibiotici dei microrganismi implicati, e di scegliere le molecole a più stretto spettro d'azione, al fine di limitare quanto più possibile l'insorgenza di fenomeni di resistenza. Le attività tecniche dell'Operazione 'MenoFarmaco', sono state concertate in modo specifico per la fase di messa in asciutta delle bovine (specifiche indagini sono comunque state fatte nel post parto/lattazione). Una gestione ottimale della messa in asciutta, in termini di prevenzione delle patologie mammarie, salvaguardia del benessere della bovina e scelte nutrizionali da adottare dall'inizio alla fine del periodo di asciutta, sono alla base del successo produttivo e riproduttivo nella bovina da latte. A queste indicazioni di carattere generale, nel corso degli ultimi anni è emersa la necessità di rispettare le indicazioni sopra descritte operando altresì in linea con le indicazioni di contrasto dell'antibiotico resistenza, in linea con il concetto di One-Health, secondo cui l'approccio all'uso razionale dell'antibiotico deve tenere conto che la salute umana e quelle animale sono fortemente correlate e dunque da tutelare insieme. Tutto questo comporta soprattutto nella fase della messa in asciutta delle bovine ad una riduzione dell'impiego di antibiotici ed un loro corretto utilizzo. I più autorevoli istituti come: EMA – European Medicines Agency, EFSA – European Food Safety Authority ed ECDC – European Centre for Disease Prevention and Control, collaborano insieme ritenendo cruciale ed urgente la necessità di ridurre l'uso di antibiotici (veterinaria ed umana). Le indicazioni fornite impongono pertanto la necessità dell'uso prudente degli antibiotici, nonché riduzione del 30 % entro il 2020, anno di conclusione dell'Operazione MenoFarmaco che speriamo possa aggiungere un tassello all'obiettivo One-Health.

b) Le aziende di produzione primaria coinvolte

Le azioni del Piano si sono sviluppate principalmente nelle 3 aziende di produzione primaria beneficiarie della filiera (Azienda La Corte, Azienda Oppio e Azienda Castello); nei 2 caseifici (Albalat e Bonlatte-Riolo) dove è conferito il latte di queste aziende. Le fasi della filiera coinvolte sono state prevalentemente la produzione agricola ma anche la trasformazione. Le aziende Oppio e Castello mungono oltre 6500 bovine (Frisona al Castello e Frisona (70%) e crossbreed™ PROcross (30%) all'allevamento Oppio). Producono circa

12,5 milioni di kg di latte all'anno tutto trasformato in Parmigiano Reggiano DOP. Le aziende si impegnano verso un uso efficiente dei reflui zootecnici, migliorando la digeribilità delle razioni e aumentando la quota di autosufficienza. L'uso efficiente dei reflui aziendali (liquame) viene realizzato passando da un approccio di "gestione dei reflui" (cioè smaltimento dei rifiuti) ad un approccio di "gestione delle risorse" (cioè disponibilità di sostanze nutritive per le colture) anche attraverso l'uso di macchinari innovativi. L'azienda da latte si impegna anche a produrre concentrati da utilizzare direttamente nella razione di vacche (sorgo, grano, mais), che insieme ai fieni contribuiscono ad aumentare la quota di autosufficienza foraggera. L'erba medica è la coltura predominante (440 ha), seguono il grano tenero (75 ha) in parte ad uso foraggero e il sorgo (30 ha).

L'azienda La Corte ha in mungitura oltre 900 bovine di razza Frisona italiana e crossbreed TM PROcross; caratterizzata da elevate produzioni e titoli del latte ottimali per la trasformazione in Parmigiano Reggiano DOP. La Corte si impegna per un uso efficiente dei reflui zootecnici, gestiti con un separatore aziendale ed utilizzati, in parte in stalla come lettiera per le cuccette delle bovine ed in parte in campo con lo scopo di ridurre l'impiego di fertilizzanti chimici. L'azienda lavora sul miglioramento della digeribilità dei foraggi e delle razioni somministrate alle bovine. La Corte gestisce terreni di proprietà ed utilizza foraggi prodotti da soci conferenti (puntando all'approccio del pagamento a qualità dei fieni). L'erba medica è la coltura predominante (609 ha), seguono il grano tenero (133 ha) in parte ad uso foraggero, l'orzo (80 ha) e il sorgo (124 ha). Nelle rotazioni sono in piccola parte inseriti anche la soia ed alcune colture da rinnovo come il girasole.

c) Gestione della messa in asciutta: informazioni generali

Secondo alcuni studi statunitensi solo animali asciugati con meno di 13-15 litri riescono a contenere la conta somatica cellulare entro le 200.000, mentre nel 25% dei casi superano tale soglia se asciugati con più di 21 litri. Un altro studio ha evidenziato come per ogni 5 litri in più oltre i 12,5 litri al momento della messa in asciutta c'è un aumento del 77% del rischio di infezione mammaria ambientale al parto. Quindi il rischio di infezione mammaria al parto è correlato alla produzione alla messa in asciutta e in maniera particolare il rischio aumenta quando questa produzione supera i 13-15 litri. Per tale ragione risulta fondamentale una gestione specifica della messa in asciutta a seconda del livello produttivo manifestato dalla vacca. Infatti, quando la bovina sostiene ancora una elevata produzione a fine lattazione bisogna evitare una messa in asciutta drastica con cessazione brusca della mungitura adottando una asciutta graduale con mungitura ridotta a una sola volta al giorno per 7 giorni.

Per facilitare il calo produttivo, a ciò bisogna aggiungere una idonea gestione nutrizionale, caratterizzata da una riduzione del livello energetico e nutrizionale. Infatti, alcuni studi evidenziano come la sola adozione della asciutta graduale con mungitura alternata porta ad una riduzione del 20% della produzione latte, la sola restrizione in termini nutrizionali riesce a dare un calo del 30%, mentre l'impiego contemporaneo di entrambi i metodi riesce a dare una riduzione del 50% del latte.

In termini di benessere, la messa in asciutta drastica porta dolore e frustrazione nell'animale molto produttivo che dedicherà poco tempo al decubito rimanendo in piedi, stazionando in vicinanza dei cancelli che danno accesso alla sala di mungitura e vocalizzando di più.

Il problema dello stress da caldo che si ripercuote su tutte le fasi di allevamento della vacca da latte incide molto anche sulla asciutta dove provoca il calo dell'ingestione, la riduzione del peso del vitello alla nascita, l'aumento dell'incidenza delle patologie, la minore attività del sistema immunitario e, successivamente al parto, la riduzione della produzione latte. Pertanto, l'impiego di sistemi di raffrescamento in asciutta riduce questi effetti e aumenta la produzione di latte nella lattazione successiva.

d) Gestione nutrizionale dell'asciutta

I fabbisogni delle bovine nelle fasi iniziale e centrale dell'asciutta sono relativamente semplici da essere soddisfatti, mentre, con l'avvicinarsi del parto, ed in particolare nelle ultime due, tre settimane di gestazione, le difficoltà aumentano sia per gli accresciuti fabbisogni (sviluppo del feto e della mammella, secrezione del colostro, etc.), sia per la diminuzione della capacità di ingestione che, proprio al parto, diviene drastica. Durante la fase iniziale come già detto bisogna modificare drasticamente la razione delle bovine in modo da incentivare il calo produttivo senza tuttavia limitare gli apporti idrici o di sostanza secca ma semplicemente riducendo gli apporti nutrizionali. Secondo le indicazioni del professor Calamari, la scelta ideale rimane quella di utilizzare fieno di graminacee di buona qualità (NDF < 55-60% e proteina greggia 8-14%) con valori contenuti in nitrati e in potassio (rispettivamente 0,15 e 1,5%). La somministrazione di mangimi si deve limitare a 1-2 kg capo giorno.

Nella fase centrale dell'asciutta i piani alimentari dovrebbero perseguire gli obiettivi di mantenere lo stato di forma e il peso delle bovine se i valori di BCS osservati alla messa in asciutta sono soddisfacenti e far guadagnare peso alle bovine che si siano presentate in asciutta troppo magre (BCS<3.5). Il livello energetico non deve superare le 0.7 UFL/kg di sostanza secca.

Gli obiettivi indicati possono essere raggiunti gestendo due gruppi nel periodo centrale dell'asciutta, destinati rispettivamente alle bovine che debbono mantenere o recuperare peso; in alternativa, le bovine più magre potranno essere spostate anticipatamente nel gruppo in preparazione al parto ove la dieta somministrata sarà caratterizzata da una maggior concentrazione energetica e proteica.

Nella fase di preparazione al parto (close-up) la razione deve essere costituita da foraggi poveri di potassio, sodio e nitrati e sarà sufficiente utilizzare mangimi nella quantità di 3-4 kg al giorno.

La concentrazione proteica della razione somministrata in questo periodo sarà più elevata rispetto a quella utilizzata in asciutta. L'uso di lisina e metionina ruminoprotette tende ad elevare la quantità di alimenti ingeriti. I grassi devono essere utilizzati con l'obiettivo di aumentare la concentrazione energetica delle razioni senza incorrere nei rischi di acidosi ruminale (100 grammi capo giorno). Interessante appare anche l'uso di acidi grassi polinsaturi come omega 3 e omega 6 in rapporto 1:3 al fine di migliorare la risposta immunitaria. Per quanto riguarda macro e microelementi minerali, in primis bisogna favorire un equilibrato apporto di cationi e anioni assicurando un bilanciamento negativo o prossimo alla 0 nelle fasi finali dell'asciutta.

Indicazione	Il Castello	La Corte	L'Oppio
Limitare gli apporti giornalieri di calcio entro i 50-60 grammi e mantenere un rapporto con il fosforo pari a 2:1	☺	☺	☺
Ridurre l'apporto di potassio e sodio (cationi);	☺	☺	☺
Somministrare dosi molto elevate di vitamina D3 (250.000 U.I) negli ultimi 2-3 giorni prima del parto per elevare la capacità di assorbimento intestinale del calcio	☹	☹	☹
Somministrare in prossimità del parto (3-4 giorni) e al parto sali a base di calcio per facilitarne la disponibilità	☹	☹	☹
Assicurare apporti adeguati di magnesio e zolfo per ridurre il rischio di paralisi flaccide al parto	☺	☺	☺
Anche gli oligoelementi svolgono ruoli nutrizionali essenziali; in maniera particolare il selenio interviene nei meccanismi di difesa cellulare ed extracellulare (dosi raccomandate 0,3 mg/kg di sostanza secca)	☺	☺	☺

<p>Gli apporti di vitamina E devono essere aumentati ben oltre i fabbisogni, raggiungendo anche i 1000 mg capo giorno nelle fasi vicine al parto. La corretta preparazione e somministrazione delle razioni è essenziale per ridurre il calo di ingestione fisiologico a ridosso del parto. Si rende fondamentale la preparazione di miscele unifeed specificatamente dedicate ai diversi gruppi di asciutta, pre-parto e immediato post-parto. Ciò consente di evitare errori di razionamento che si verificano usando parte dell'unifeed di lattazione. Se ben realizzate, le miscele di foraggi finemente trinciati (2-4 cm), uniti ai concentrati consentono un'elevata e omogenea ingestione di alimento</p>	☺	☺	☺
<p>E' fondamentale controllare con attenzione la capacità di ingestione delle bovine in asciutta ed in particolare nella fase di close-up per apportare le opportune modifiche alle diete somministrate. L'ingestione di sostanza secca a fine asciutta è direttamente correlata a quella della lattazione successiva, quindi il calo che si verifica nella fase di close-up in genere si ripercuote anche nella lattazione successiva</p>	☺	☺	☺

Tabella 1. Best practice per la messa in asciutta delle bovine, l'applicazione nelle aziende di 'MenoFarmaco'

Le tre stalle oggetto dell'indagine, nella gestione della fase di asciutta si differenziano per una unica significativa differenza: l'azienda La Corte è già stata oggetto di una precedente sperimentazione tesa a verificare la fattibilità della messa in asciutta selettiva delle bovine a fine lattazione (Il Castello ed Oppio hanno sempre effettuato la messa in asciutta con antibiotici).

Trattamento	Fase di lattazione	Gruppo terapeutico	Principio attivo
infusione mammaria	asciutta	antinfettivi	bismuto nitrato basico
Infusione mammaria	asciutta	antibiotici	cefquinome solfato
Infusione mammaria	asciutta	antibiotici	cefalonio

Tabella 2. Uso terapeutico degli antibiotici 'asciutta' nelle aziende di 'MenoFarmaco'

La routine di gestione ed i principi attivi utilizzati sono prevalentemente quelli indicati in tabella 2; Oppio e Castello effettuavano i trattamenti sull'intera mandria. La pregressa esperienza dell'azienda la Corte sull'impiego dell'asciutta selettiva anche con l'ausilio del conteggio delle cellule somatiche differenziali (linfociti, macrofagi e leucociti polimorfonucleati) come descritto da Damm et al., 2017; ha invece portato ad una significativa riduzione dell'utilizzo degli antibiotici nella fase di sperimentazione (26 % rispetto al totale degli animali asciugati); non sono stati elaborati dati in merito alle differenze tra il gruppo di bovine asciugate 'tradizionalmente' e quelle asciugate con la sola applicazione di sigillante mammario.

e) Tecniche diagnostiche delle infezioni mammarie

Le aziende di produzione primaria oggetto dell'indagine rappresentano realtà considerate grandi nel contesto produttivo del Parmigiano Reggiano DOP, management, tecniche nutrizionali, strutture e gestione igienico sanitaria della mandria, rappresentano picchi di eccellenza rispetto al contesto produttivo. Le 3 aziende oggetto dell'indagine collaborano attivamente con un laboratorio di ricerca e sviluppo accreditato ai sensi delle ISO:UNI 17025 e fornito di specifiche competenze e di attrezzature all'avanguardia. Nelle aziende esiste uno specifico piano di autocontrollo della stalla in senso lato, uno specifico monitoraggio del latte viene effettuato per la diagnosi delle infezioni mammarie. I tecnici ed i veterinari aziendali effettuano una corretta e precoce individuazione delle bovine affette da infezione mammaria non solo in forma clinica,

ma anche in maniera subclinica, è un punto fondamentale nella corretta gestione del problema mastite; questo *modus operandi* permette infatti l'utilizzo dinamico dei protocolli terapeutici adeguati nonché di applicare dei piani di controllo e risanamento efficaci prima che l'infezione si diffonda all'interno dell'allevamento.

Le principali difficoltà nella diagnosi di mastite sono imputabili *in primis* alla grande quantità di patogeni responsabili di questo tipo di infezione e ai diversi sintomi che possono o meno manifestarsi. Nelle 3 differenti realtà aziendali il lavoro effettuato nel corso degli anni ha consentito di limitare la presenza di batteri contagiosi. La diagnosi delle mastiti segue tutti gli step necessari ad una corretta diagnosi, dalla clinica, ai test di screening, fino ai test specifici come l'esame batteriologico colturale o le più nuove metodiche biomolecolari.

La diffusione delle mastiti è un problema che non si limita ai soli danni economici provocati all'allevatore e dovuti principalmente alla ridotta quantità e qualità del latte prodotto, al latte scartato, ai costi delle terapie effettuate e alla riforma precoce delle bovine, ma è anche causa di un grave danno al benessere animale. Le infezioni mammarie rappresentano un rischio dal punto di vista sanitario di incremento dell'antibiotico-resistenza e della presenza di residui nel latte, che ne determinano l'eliminazione dal commercio, un aumento del costo del lavoro e delle spese veterinarie nonché un generale danno d'immagine al settore lattiero-caseario. Negli ultimi 25 anni, si è verificato un importante cambiamento nell'approccio alla sanità animale, in particolare per quanto riguarda l'allevamento bovino da latte. Se infatti un tempo la professione veterinaria si concentrava principalmente sull'eradicazione delle malattie infettive più gravi da un punto di vista economico, sanitario e di Sanità Pubblica Veterinaria, come ad esempio tubercolosi e brucellosi, e sul trattamento dei soli animali malati, a partire dalla metà degli anni '60 si è verificata una conversione degli interventi veterinari che da tipo reattivo sono invece diventati di tipo proattivo. Ciò è derivato anche dal riconoscimento dell'importanza dei casi subclinici come fattore limitante la produttività dell'animale (LeBlanc, 2006). Questo diverso approccio alle patologie è risultato sia in un miglioramento delle tecnologie atte a monitorare le funzioni organiche degli animali, sia nell'evoluzione della gestione sanitaria, nel cui ambito tutti i fattori che possono limitare le performance dei singoli capi o dell'intera mandria devono essere presi in considerazione come componenti stesse della malattia. Per questo, si è resa necessaria l'integrazione di diverse discipline veterinarie, quali ad esempio la nutrizione, all'interno dei programmi di medicina preventiva. Tutti questi accorgimenti rientrano all'interno delle cosiddette "buone pratiche di allevamento", le quali prevedono l'applicazione di procedure operative standard (SOP) finalizzate alla prevenzione e di misure correttive atte ad evitare l'insorgenza di problemi sanitari e produttivi (Zecconi, 2009). Lo sviluppo di precisi piani di controllo volti alla riduzione della prevalenza e del rischio di incidenza di casi di mastite è uno dei punti cardine di un buon programma di gestione sanitaria nell'allevamento bovino da latte e numerosi sono gli organismi che, a livello globale, hanno proposto delle strategie dettagliate in questo senso. Ad esempio, il National Mastitis Council (USA) o il National Institute for Research in Dairying (UK) hanno suggerito dei piani composti da voci specifiche riguardanti i diversi aspetti dell'allevamento che necessitano di essere monitorati ed implementati al fine di limitare il più possibile non solo la diffusione di patogeni già presenti in azienda, ma anche l'introduzione di nuovi micorganismi dall'esterno, incrementando le misure di biosicurezza. È evidente come, al fine di ottenere dei risultati soddisfacenti nel lungo periodo, siano necessarie delle condizioni di base: prima di tutto un laboratorio analisi efficiente che fornisca gli esiti degli esami, un veterinario competente, un buon sistema di registrazione dei dati relativi alla salute della mammella, della produzione e della qualità del latte di ogni animale, una macchina mungitrice adeguata e idonee possibilità di ricovero degli animali. Inoltre, è indispensabile una forte motivazione da parte dell'allevatore, colui che per primo si deve assicurare che tutte le misure stabilite al fine di raggiungere gli obiettivi previsti dal programma vengano attuate in maniera corretta e soprattutto costante. Quest'ultimo punto risulta

particolarmente importante in quanto spesso è possibile riscontrare una certa reticenza da parte dell'allevatore nell'adozione di schemi rigidi che comportano investimenti a lungo termine. Nonostante infatti, mediante l'applicazione di queste procedure, sia possibile ottenere buoni guadagni grazie all'incremento della produzione e della qualità del latte, tali benefici si noteranno solo dopo alcuni anni dall'inizio del programma (Radostits e coll., 2007). A questo proposito è doveroso citare l'esempio del piano nazionale di prevenzione delle mastiti adottato dall'Olanda a partire dal 2005; esso non rappresenta un vero e proprio piano di eradicazione, bensì i suoi obiettivi, oltre al miglioramento della qualità del latte attraverso la riduzione dell'incidenza delle mastiti, sono per lo più improntati sulla diffusione delle buone pratiche gestionali e sul cambiamento del modo di operare di allevatori, operatori zootecnici e veterinari mediante precisi interventi di formazione. Tale programma si articola su due livelli: da un lato la ricerca, finalizzata allo sviluppo e alla messa a punto di nuove tecnologie che possano essere utilizzate a vantaggio dell'industria lattiero-casearia, dall'altro l'educazione di tutte quelle figure coinvolte nel management aziendale. In questo senso si sono attivati dei corsi di formazione scientifica che avviene attraverso degli appositi incontri svolti direttamente in azienda previa adesione dell'allevatore. Si è inoltre cercato di raggiungere il maggior numero possibile di figure professionali mediante l'invio di materiale divulgativo con la finalità di stimolare l'introduzione e l'implementazione di alcune buone pratiche come l'utilizzo di guanti durante la mungitura, la sostituzione periodica delle guaine e l'utilizzo di protocolli terapeutici adeguati. Il miglioramento non solo del tasso di incidenza delle mastiti cliniche (sceso dal 33,5% al 28,1%) ma anche dell'atteggiamento mentale più positivo degli allevatori nell'approccio al controllo di queste patologie è una testimonianza importante dell'efficacia di questo programma (Lam e coll., 2013). Nonostante l'attività di formazione degli allevatori rappresenti la scelta più efficace nel miglioramento della gestione sanitaria aziendale, un incentivo all'introduzione di programmi di controllo per le mastiti è costituito dalla scelta di alcuni Paesi, tra cui quelli aderenti all'Unione Europea e il Canada, di pagare il latte in base alla qualità e di prevedere al contempo delle penalità che sanzionino quelle aziende che presentano valori di cellule somatiche persistentemente oltre il limite (LeBlanc, 2006).

f) Principi base dei piani di controllo delle mastiti nelle aziende 'MenoFarmaco'

Come tutte le malattie trasmissibili, la mastite è una patologia che deriva dalla rottura dell'equilibrio tra le resistenze dell'ospite, gli agenti eziologici e l'ambiente. I fattori implicati sono quindi talmente numerosi e le fonti di infezione così diffuse, che risulta praticamente impossibile eradicare l'infezione dall'azienda, con l'unica eccezione della mastite sostenuta da *S. agalactiae*. Il successo di un buon piano di controllo si ottiene quando il tasso di incidenza di nuove infezioni viene diminuito o mantenuto ad un basso livello, mediante anche l'eliminazione degli animali con infezioni persistenti, al fine di ridurre la prevalenza dell'infezione (Radostits e coll., 2007). Considerando quella che è una delle definizioni epidemiologiche della prevalenza (prevalenza = incidenza x durata della malattia), la sua riduzione viene perseguita mediante l'applicazione di metodiche volte a ridurre la durata dell'infezione, grazie ad un'adeguata terapia, e l'incidenza della patologia mediante misure preventive (Ruegg, 2003). Una riduzione importante dell'incidenza e della prevalenza di mastiti in allevamento può essere ottenuta applicando i 10 punti proposti dal National Mastitis Council (NMC), i quali risultano essere semplici, comprensibili e facilmente integrabili nel sistema gestionale, nonché particolarmente adattabili alle esigenze specifiche delle diverse aziende. I 10 punti del programma di controllo delle mastiti secondo il National Mastitis Council

1. Definizione degli obiettivi per la sanità della mammella

È importante fissare degli obiettivi realistici per la mandria in esame sia dal punto di vista della conta delle cellule somatiche (CCS) che per gli indici di prevalenza delle mastiti cliniche. Questi obiettivi, confrontati con lo stato presente dell'allevamento, permetteranno di identificare i problemi che interferiscono col raggiungimento degli stessi e sono atti a favorire un continuo miglioramento della gestione

dell'allevamento, evitando il più possibile delle variazioni quali-quantitative della produzione (Zecconi e Zanirato, 2013). Dal momento che raramente un'anamnesi di allevamento non corretta ed esaustiva permette la pianificazione di interventi realmente efficaci, è evidente come, all'interno di un piano di risanamento delle mastiti, una particolare attenzione vada dedicata alla raccolta di informazioni oggettive sullo stato igienico-sanitario dell'azienda. In particolare risulta fondamentale eseguire una indagine accurata sui diversi aspetti gestionali, quali: informazioni generali, la fase di lattazione, la fase di asciutta, la gestione delle manze, la nutrizione, la routine di mungitura, il parto, le terapie e la movimentazione degli animali.

2. Mantenimento di un ambiente idoneo per gli animali

L'interazione tra ospite, agente eziologico e ambiente rappresenta la triade fondamentale alla base di ogni processo infettivo; per quanto riguarda il problema mastite il fattore ambientale e la componente gestionale costituiscono una parte importante del rischio dell'animale di sviluppare questo tipo di patologia. Un adeguato management ambientale rappresenta un punto fondamentale per la prevenzione dell'insorgenza di nuove infezioni mammarie, nonché per la riduzione delle cariche batteriche soprattutto di patogeni ambientali presenti in allevamento. Assieme a una corretta nutrizione, se implementato, questo aspetto rappresenta l'unico in grado di produrre dei buoni risultati in tempi relativamente brevi (Pyörälä, 2002). Principalmente bisognerà prestare particolare attenzione a:

- ✓ ridurre la possibilità di esposizione all'agente eziologico, curando la stabulazione e l'igiene della lettiera; questo permette di ridurre la carica batterica risultando in una diminuzione dei casi di mastiti causate da patogeni ambientali. Particolare attenzione va rivolta alle caratteristiche della lettiera, che deve essere pulita, asciutta e confortevole, alla sua natura (organica od inorganica) e alla frequenza con la quale essa viene sostituita. Per quanto riguarda la lettiera di tipo inorganico, la sabbia rappresenta sicuramente il sistema di riferimento ottimale. Essa permette infatti un rapido drenaggio dei liquidi e una veloce evaporazione dell'umidità, mantenendo una superficie sempre asciutta, ed è quasi del tutto esente da materiale organico: queste due caratteristiche fanno sì che la sabbia non costituisca un substrato adatto alla crescita di batteri. Essa comporta tuttavia delle difficoltà nella gestione delle deiezioni e rappresenta un costo non indifferente per l'allevatore, soprattutto quando si ricerchi una sabbia di alta qualità e cioè lavata, selezionata e successivamente essiccata e che presenti inoltre una corretta granulometria (1-2 mm). Le lettiere di tipo organico, più utilizzate rispetto alle precedenti sia per una questione di costi che per la loro compatibilità coi sistemi di gestione dei reflui, possono essere costituite da un singolo materiale o da compositi (paglia, segatura o trucioli di legno). Le differenze tra queste sostanze sono minime, tuttavia in passato è stato dimostrato come la paglia presenti mediamente una carica di streptococchi superiore, laddove invece la segatura si distingue per le elevate concentrazioni di coliformi (Hogan e Smith, 2012). Al di là del tipo di lettiera prescelta, ai fini di una buona igiene di stalla e della riduzione della presenza di patogeni in allevamento risulta indispensabile la regolare rimozione del materiale umido e sporco, provvedendo alla pulizia delle cuccette almeno due volte al giorno, in corrispondenza dello spostamento degli animali nella sala mungitura.
- ✓ ridurre al minimo i fattori di stress legati all'ambiente che incidono negativamente sullo stato di salute dell'animale e sulle sue naturali difese immunitarie (Radostits e coll., 2007). È importante in questo valutare le dimensioni e le caratteristiche costruttive della stalla per assicurare un corretto utilizzo delle strutture, adeguare il numero di capi alle capacità delle stesse al fine di evitare il sovraffollamento e controllare il buon funzionamento dei sistemi di ventilazione. Particolare attenzione va posta ai fattori climatici: l'incremento importante di temperatura e umidità che si

verifica durante il periodo estivo è uno degli aspetti principali responsabili dell'aumento dell'incidenza di mastiti cliniche da patogeni ambientali (Hogan e Smith, 2012). In questo giocano un ruolo essenziale una buona progettazione della stalla e la dotazione di sistemi di ventilazione adeguati.

- ✓ assicurare un corretto apporto nutritivo sia dal punto di vista del bilancio energetico che dei microelementi essenziali: particolari deficienze (vitamina E, il selenio, il rame e zinco) possono predisporre allo sviluppo di mastiti soprattutto nel periparto (Pyörälä, 2002).

3. Adozione di una corretta routine di mungitura e igiene della mammella

Una corretta procedura di mungitura è un fattore fondamentale per poter mungere gli animali in maniera rapida, efficiente, garantendone il benessere e al contempo riducendo i rischi sanitari. Questa rappresenta infatti la fase più importante dell'intero ciclo produttivo e può costituire, se non gestita correttamente, il fattore di rischio più rilevante nello sviluppo di mastite (Zecconi e Zanirato, 2013). La qualità della mungitura non è condizionata solamente dal corretto funzionamento dei sistemi automatici, ma anche dall'applicazione di una procedura corretta e ripetuta. Essa va eseguita nel rispetto del meccanismo fisiologico di eiezione del latte, considerando i fattori ormonali e il tempo necessario a una corretta emissione del secreto. Le dimensioni della cisterna del latte di una bovina, infatti, sono in grado di ospitare solamente il 20% di tutto il latte prodotto mentre il rimanente 80% permane a livello di alveoli fino al momento della loro spremitura da parte delle cellule mioepiteliali. In questo meccanismo gioca un ruolo fondamentale il rilascio in circolo dell'ossitocina, un ormone prodotto dall'ipotalamo grazie a un riflesso neuroendocrino dato dallo stimolo tattile alla mammella. Per una corretta attivazione di tale riflesso sono importanti un ambiente confortevole e tranquillo e l'attesa di un tempo minimo (30-60 secondi) tra la stimolazione del capezzolo e l'inizio della mungitura. Questo intervallo (tempo d'attesa) tuttavia non deve prolungarsi eccessivamente: se infatti esso supera i due minuti, la concentrazione di ossitocina nel sangue diminuirà rapidamente compromettendo il processo di eiezione.

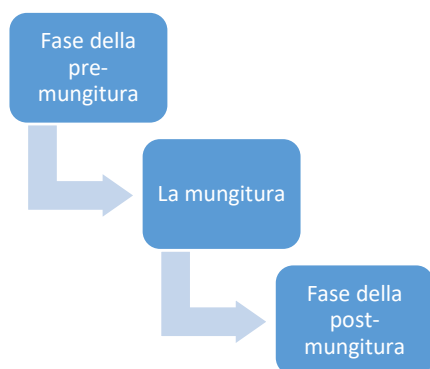


Grafico 1. Schema delle principali fasi della mungitura

4. Installazione, funzionamento e manutenzione dell'impianto di mungitura

Una corretta gestione e manutenzione nel tempo della macchina mungitrice è indispensabile al fine di evitare da un lato la trasmissione di microrganismi contagiosi tra un animale e l'altro durante la mungitura, dall'altro la possibilità di creare direttamente delle lesioni a livello di capezzolo in una fase così delicata del ciclo produttivo. I moderni impianti di mungitura meccanica si basano sul principio della depressione: essi sono infatti dotati di una pompa del vuoto la quale crea una pressione negativa tale da vincere la resistenza dello sfintere del capezzolo e di determinare la conseguente fuoriuscita del latte. A questo si associa un'azione meccanica di massaggio del capezzolo da parte della guaina del gruppo

mungitore. Da qui il latte passa all'interno della cosiddetta "linea del latte" un insieme di tubature che hanno la funzione convogliarlo verso il terminale, dove il latte viene raccolto e stoccato all'interno del tank. Affinché la mungitura avvenga in maniera corretta sia dal punto di vista igienico-sanitario che dal punto di vista del benessere animale, è fondamentale procedere a una periodica manutenzione e a una regolare valutazione del funzionamento dell'impianto attraverso delle prove dinamiche, in conformità alle indicazioni della ditta costruttrice. L'impianto dovrà avere delle dimensioni adeguate a gestire il flusso di latte e di aria nonché dovrà essere lavato e sanificato a fondo prima e dopo ogni mungitura. È importante inoltre provvedere a una regolare sostituzione dei tubi e delle altre parti in gomma e plastica, rivolgendo un'attenzione particolare alle guaine dei gruppi mungitori, dal momento che queste sono le componenti dell'impianto che esercitano il maggior impatto sull'integrità della barriera fisica del capezzolo. Inoltre, deve essere cura dell'allevatore sincerarsi che queste abbiano un diametro che si adatti alla maggior parte delle bovine presenti in azienda: le guaine non devono infatti essere né troppo grandi, altrimenti favorirebbero l'ingresso di aria, né troppo ristrette, poiché questo impedirebbe un adeguato massaggio alla punta del capezzolo, incrementando notevolmente il rischio di provocare delle lesioni. Dal momento che queste componenti sono realizzate con materiali facilmente degradabili, che con il tempo tendono ad indurirsi e a seccarsi, esse devono essere sostituite con cadenza biennale (in generale si sconsiglia di utilizzarle per un numero di ore superiore a 700-800). Un altro elemento importante da considerare è quello del vuoto esercitato dalla pompa; esso non dovrebbe infatti superare una pressione massima di 38-46 kPa. Per quanto riguarda la prevenzione delle lesioni mammarie è necessario evitare il più possibile delle fluttuazioni del vuoto, con controlli periodici di tutti quei dispositivi implicati in una sua corretta gestione: dal gruppo mungitore, al pulsatore, dal sistema di stacco automatico, alla valvola di regolazione del vuoto. Altrettanto interesse deve essere attribuito al rapporto di pulsazione, ossia alla proporzione tra la durata della fase di mungitura e quella di massaggio. Tale rapporto è garantito e mantenuto costante da un corretto funzionamento del pulsatore. Generalmente è consigliato un rapporto di pulsazione pari al 60% (60% mungitura e 40% massaggio). Tuttavia, al fine di ridurre i tempi di mungitura, non è infrequente la scelta di adottare dei rapporti di pulsazione più spinti (65:35 - 70:30). Occorre tenere presente però che ad un aumento della durata della fase di mungitura oltre il 60% corrisponde una maggiore esposizione del capezzolo al vuoto con possibili conseguenze negative sui tessuti (congestione, edema, estroffessione) (Gnemmi e coll., 2003; Pisoni, 2007).

5. Mantenimento di una buona registrazione dei dati

Per poter monitorare l'incidenza e la prevalenza delle mastiti non solo cliniche, ma anche subcliniche, è fondamentale provvedere a una periodica registrazione e conservazione dei dati relativi alla conta delle cellule somatiche delle singole bovine e del latte di massa. Ciò permette di analizzare in maniera più precisa la situazione aziendale, in modo da poter individuare quelli che sono i punti critici e le misure di correzione appropriate (Radostits e coll., 2007). Per quanto riguarda le infezioni mammarie clinicamente manifeste è buona norma compilare un apposito registro che indichi: il numero di identificazione della bovina, la data di diagnosi della mastite, i giorni di lattazione, il quarto o i quarti infetti, il numero e il tipo di trattamenti eventualmente effettuati. Questa strategia risulta particolarmente utile soprattutto per quegli allevamenti in cui i livelli di CCS sono bassi, ma persiste un'elevata incidenza di infezioni da patogeni ambientali e di casi di forme cliniche. Poter mettere in relazione tutti questi fattori, ed in particolare il numero di mastiti cliniche, la frequenza con cui esse si manifestano, lo stadio di lattazione e il periodo dell'anno in cui si presenta la maggior parte dei casi, permette di individuare non solo se il problema è a carico di pochi soggetti o se si tratta di un problema più esteso, ma anche i fattori di rischio e le eventuali misure correttive (Radostits e coll., 2007).

6. Gestione appropriata delle mastiti cliniche in lattazione

Un'identificazione precoce dei casi di mastite clinica ed un adeguato trattamento rappresentano una parte importante dei piani di controllo delle mastiti; negli ultimi anni si è cercato tuttavia di concentrarsi maggiormente sugli aspetti di prevenzione che sul trattamento vero e proprio delle infezioni. Ciò in dipendenza principalmente del fatto che sono in aumento gli episodi di antibiotico resistenza, che spesso quindi le terapie risultano inefficaci e che vi è una crescente consapevolezza dei rischi per il consumatore derivati dai residui di antibiotici nel latte (Pyörälä, 2002). Al fine di poter ottenere dei buoni tassi di guarigione, la terapia in lattazione per i soggetti con mastite subclinica deve essere limitata ai primi 30 giorni di lattazione e viene riservata ad animali relativamente giovani, con un numero massimo di lattazioni alle spalle pari a 3 (Zecconi e Zanirato, 2013). Prima del trattamento è necessario raccogliere sempre in maniera asettica un campione di latte per l'esecuzione dell'esame batteriologico e dell'antibiogramma, adottando successivamente un antibiotico e un regime terapeutico appropriato. Prima della somministrazione del farmaco, è inoltre importante provvedere ad un'attenta pulizia e disinfezione del capezzolo, infondendo il prodotto mediante cannula parzialmente introdotta attraverso l'ostio papillare. Non meno importante risulta essere una chiara identificazione di tutte quelle bovine che vengono sottoposte a terapia, il cui latte dovrà essere munto separatamente ed eliminato fino al termine del periodo di sospensione indicato.

7. Gestione appropriata dell'asciutta

Il periodo dell'asciutta costituisce un'opzione economicamente vantaggiosa per il trattamento delle mastiti, con dei tassi di guarigione generalmente superiori alla terapia in lattazione, in particolare per quanto riguarda *S. aureus*. Inoltre, la maggior parte delle nuove infezioni mammarie da coliformi si instaura generalmente durante l'asciutta. All'interno di questo periodo di tempo, la suscettibilità allo sviluppo di mastite aumenta notevolmente tra le 2 settimane dopo l'inizio dell'asciutta e le 2 settimane prima dell'inizio della lattazione. È evidente quindi come un'attenzione particolare vada riservata ad una corretta gestione dell'asciutta e del primo periodo della lattazione, cercando di ridurre il più possibile l'esposizione ai patogeni ambientali. Ad oggi la strategia raccomandata è quella di praticare la cosiddetta blanket dry cow therapy, ossia una vera e propria terapia a tappeto di tutti gli animali posti in asciutta. È stato infatti recentemente dimostrato come le bovine che non vengono sottoposte a questo tipo di trattamento presentino dei tassi di rischio di sviluppo di mastiti nella successiva lattazione decisamente superiori rispetto agli animali trattati (Keefe, 2012). Gli scopi principali della terapia in asciutta sono quindi (Radostits e coll., 2007): a) eliminare le infezioni intramammarie presenti al termine della lattazione; b) ridurre l'incidenza di mastiti contratte durante questo periodo, considerando che l'incidenza delle infezioni è decisamente maggiore durante l'asciutta che durante la lattazione. La particolare sensibilità della mammella in questa fase deriva essenzialmente dai profondi cambiamenti che essa subisce; infatti, oltre a verificarsi l'involuzione del tessuto secernente, avvengono anche importanti modificazioni a carico dei meccanismi di difesa. Durante i primissimi giorni dell'asciutta, l'elevata concentrazione di immunoglobuline e di polimorfonucleati presenti all'interno del secreto non sono infatti in grado di proteggere efficacemente la mammella dai microrganismi. Ciò deriva probabilmente dal fatto che i neutrofili sono impegnati nella rimozione dei detriti cellulari, dei globuli di grasso, micelle di caseina e perdono in questo modo la capacità di riconoscere, legare e fagocitare i patogeni che si trovano in mammella. Inoltre, i loro recettori Fc si presentano in numero scarso o risultano essere non disponibili al riconoscimento dei microrganismi perché già legati alle numerose IgG presenti nel latte. Nei giorni immediatamente precedenti al parto invece, il rischio è determinato da una riduzione della concentrazione di neutrofili in mammella ed in particolare nel colostro. Un metodo alternativo al trattamento antibiotico durante la fase di asciutta è rappresentato dall'utilizzo di specifici sigillanti del capezzolo a base di bismuto nitrato basico; queste paste vengono applicate all'interno del canale del capezzolo e vanno a formare un

vero e proprio tappo che impedisce la risalita dei batteri in mammella (Pyörälä, 2002). Tuttavia, dal momento che tali sostanze risultano essere inefficaci nei confronti dei patogeni già presenti all'interno della ghiandola, è consigliabile utilizzare in associazione anche un antibiotico. È bene ricordare anche come la cura dell'ambiente debba essere sempre elevata, garantendo agli animali un ricovero pulito ed asciutto, nonché un razionamento bilanciato che apporti le giuste quantità non solo in termini energetici ma anche di microelementi essenziali a prevenire le infezioni intramammarie (Radostits e coll., 2007).

8. Biosicurezza per i patogeni contagiosi ed eliminazione degli animali cronicamente infetti

Uno dei fattori di rischio maggiormente implicati nella diffusione non solo delle mastiti ma di tutte le malattie trasmissibili è l'introduzione di nuovi animali in azienda; ciò è dovuto principalmente al fatto che raramente chi acquista degli animali è a conoscenza del reale stato sanitario dei capi. Idealmente, prima dell'acquisto, sarebbe auspicabile poter ricevere una documentazione ufficiale che comprenda i dati sul CCS individuale e di massa. In alternativa o in associazione a queste informazioni si può richiedere la possibilità di effettuare il California mastitis test o di raccogliere dei campioni di latte da sottoporre ad analisi batteriologica. È inoltre buona norma prevedere delle aree di quarantena per gli animali di nuova introduzione; infatti, le bovine di recente acquisto dovrebbero essere isolate e munte separatamente sino a quando non si sia accertata l'assenza di infezioni mammarie sia mediante esame clinico della mammella sia mediante esame colturale del latte. Tutti questi comportamenti fanno parte di un buon programma di biosicurezza che permette di limitare l'ingresso di nuovi microrganismi patogeni in azienda. Per quanto riguarda gli animali che presentano delle conte cellulari persistentemente elevate (CCS > 300.000 cellule/ml o linear score ≥ 5 per diversi mesi) è importante che essi vengano separati dal resto della mandria, monitorando attentamente la risposta al trattamento. La decisione di riformare le bovine cronicamente infette è una soluzione radicale, ma spesso necessaria al fine di eliminare un'importante reservoir dell'infezione. La scelta dell'abbattimento ha significato soprattutto in quelle aziende che presentino elevati livelli di prevalenza di infezioni da *S. aureus*, o per quei casi di mastite in cui sono coinvolti microrganismi che rispondono poco o per nulla al trattamento antibiotico, come ad esempio *M. bovis* e *P. aeruginosa* (Radostits e coll., 2007), nonché *Nocardia* spp. e *Arcanobacterium pyogenes*. Questo tipo di strategia dovrebbe inoltre essere impiegata in caso di presenza di gravi lesioni ai capezzoli o di noduli palpabili a livello di quarti mammari, spesso indici di infezioni da *S. aureus*, in caso di infezioni che persistono prima e dopo l'asciutta o di mastiti cliniche che tendono a ripresentarsi ciclicamente.

9. Monitorare regolarmente lo stato sanitario della mammella

Al fine di tenere sotto controllo lo stato sanitario delle mammelle delle bovine in allevamento risulta utile inserire ogni animale in un programma di monitoraggio della conta individuale delle cellule somatiche o della conducibilità elettrica del latte. Questo renderà possibile il calcolo su base periodica della prevalenza e della distribuzione delle mastiti all'interno della mandria. In particolare, è importante mantenere monitorate le bovine che presentano sintomi clinici e quelle con valori di CCS elevati e sottoporle ad esame batteriologico colturale, associando a questo il California mastitis test come ulteriore supporto per una valutazione completa dello stato d'infezione della mammella. I dati riguardanti i valori di CCS e le mastiti cliniche sono inoltre molto utili al fine di valutare dei protocolli di intervento e per prendere delle decisioni in merito al trattamento o alla riforma degli animali.

10. Revisione periodica dei programmi di controllo delle mastiti

Un periodico aggiornamento dei programmi di prevenzione nei confronti delle mastiti si rende necessario dal momento che lo stato sanitario delle mammelle, le condizioni ambientali e la tecnologia disponibile in azienda sono in continuo cambiamento. È perciò importante monitorare costantemente la situazione

aziendale e anche gli effetti che su di essa eserciterà il programma stesso, apportando nel tempo tutte quelle modifiche considerate importanti per raggiungerne gli obiettivi iniziali (Radostits e coll., 2007). In questo risulta utile seguire un approccio di revisione di tipo graduale passo dopo passo, utilizzando un modello standard di valutazione. Nuove strategie nella prevenzione delle mastiti Nonostante le numerose ricerche che per decenni hanno cercato di trovare una soluzione decisiva al problema mastite non si è purtroppo ancora riusciti a debellare le infezioni mammarie dall'allevamento bovino da latte e nemmeno ad ottenerne una riduzione importante in termini di prevalenza. È perciò evidente come l'utilizzo delle nuove tecnologie, ad esempio la biologia molecolare, potrebbe essere utile per migliorare le conoscenze riguardo l'epidemiologia e la virulenza dei microrganismi agenti di mastite e di conseguenza potrebbe permettere di sviluppare dei piani di controllo sempre più efficaci. Inoltre, i nuovi criteri di selezione genetica delle lattifere dovrebbero essere finalizzati ad ottenere degli animali con degli ottimi meccanismi di difesa e con una ridotta suscettibilità alle mastiti (Pyörälä, 2002). La selezione per la riproduzione di animali e di linee genetiche che si sono dimostrate resistenti allo sviluppo di mastiti cliniche trova tuttavia ancora delle forti resistenze nella maggior parte dei Paesi; ciò è imputabile al fatto che esiste una correlazione genetica negativa tra l'elevata produzione di latte e la resistenza a questo tipo di patologie. Tuttavia, in Norvegia, con il programma per il controllo delle mastiti, che si inserisce all'interno del servizio sanitario nazionale degli animali da reddito, si è voluti andare in controtendenza, decidendo per la selezione di questo carattere. Dal momento che esso ha una scarsa ereditabilità (3-5%) si è dovuto lavorare con dei gruppi molto numerosi di bovine figlie al fine di poter valutare correttamente i tori. Le ricerche hanno ottenuto dei risultati molto promettenti, con un incremento di resistenza del 10% in sole cinque generazioni (Østerås e Sølverød, 2009).

Indicazione	Il Castello	La Corte	L'Oppio
Definizione degli obiettivi per la sanità della mammella	☺	☺	☺
Mantenimento di un ambiente idoneo per gli animali	☺	☺	☺
Corretta routine di mungitura e igiene della mammella	☺	☺	☺
Installazione, funzionamento e manutenzione impianto di mungitura	☺	☺	☺
Mantenimento di una buona registrazione dei dati	☺	☺	☺
Gestione appropriata delle mastiti cliniche in lattazione	☺	☺	☺
Gestione appropriata dell'asciutta	☹	☺	☹
Biosicurezza ed eliminazione degli animali cronicamente infetti	☺	☺	☺
Monitorare regolarmente lo stato sanitario della mammella	☺	☺	☺
Revisione periodica dei programmi di controllo delle mastiti	☺	☺	☺

Tabella 3. Best practice gestione e piani di controllo delle mastiti, l'applicazione nelle aziende di 'MenoFarmaco'

Uno studio condotto da Mitchell e coll. (1998) ha confermato come l'impiego più comune dei farmaci antibiotici nell'allevamento bovino da latte sia quello indirizzato al trattamento delle mastiti, le aziende oggetto dell'indagine 'MenoFarmaco' non fanno eccezione. Le spese associate a questo tipo di patologia sono molteplici e comprendono sia le perdite economiche dovute al calo della produzione e della qualità del latte sia i costi per i farmaci e per lo smaltimento del latte mastitico. Le aziende Oppio, Castello e La Corte seppur con le dovute differenze si accomunano per la corretta gestione dal punto di vista igienico-sanitario; l'intervento terapeutico rimane comunque uno dei punti cardine del programma di controllo delle mastiti bovine. Le stalle hanno effettuato rigorosi programmi di risanamento dai batteri contagione ed oggi *S. uberis* rappresenta il principale patogeno (18 % sul totale degli isolamenti) presente in stalla soprattutto nelle realtà legate alla tecnica di pulizia delle corsie con il flushing. *S. uberis* è normalmente associato a percentuali di resistenza maggiori rispetto a *S. dysgalactiae* e *S. agalactiae*, sia verso uno o più

agenti antimicrobici (43%), sia in termini di multiresistenza (13%) (Minst e coll., 2012; Guérin-Faubleé e coll., 2002). L'analisi sulla storicità dei dati evidenzia come *S. aureus* rappresenti la seconda causa dell'insorgenza delle mastiti (13%), il 10% è invece rappresentato dai coliformi.

Trattamento	Fase di lattazione	Gruppo terapeutico	Principio attivo
parenterale	lattazione	antinfiammatori	maloxicam
parenterale	lattazione	antibiotici	cefalexina monoidrata
parenterale	lattazione	antibiotici	depocillina
parenterale	lattazione	antibiotici	cefquinome Solfato
parenterale	lattazione	antibiotici	marbofloxacina
parenterale	lattazione	antibiotici	sulfametazina + trimetoprim
parenterale	lattazione	antibiotici	ampicillina

Tabella 4. Principali molecole utilizzate in lattazione

Azioni 3.2. e 3.3 Campionamento delle cellule somatiche e gestione della mandria (pre-parto, post-parto e picco)

Unità aziendale responsabile - Centro Ricerche Produzioni Animali – CRPA S.p.A.

Le azioni 3.2 e 3.3 anche sulla base dei risultati ottenuti dall’Azione 3.1 ‘Indagine storica sull’incidenza della mastite e sull’uso terapeutico degli antibiotici’ si sono poste l’obiettivo, mediante un dettagliato piano di monitoraggio, di evidenziare l’incidenza delle cellule somatiche durante la fase della messa in asciutta delle bovine e in due successive fasi del post-parto:

- A. 8 giorni dal parto (± 5 giorni);
- B. Picco di lattazione 60 giorni dal parto (± 9 giorni).

Nelle tre fasi oggetto dell’indagine è stato condotto un accurato studio sulle cellule somatiche (metodica: ISO13366-2:2006 IDF 148-2:2006 Milk Enumeration of somatic cells – Guidance on the operation of fluoro-opto-electronic counters) dei singoli quarti (oltre 2.200 bovine nella fase di pre-parto ed immediato post-parto, 2.200 bovine al picco di lattazione). A differenza delle metodiche tradizionalmente utilizzate, oltre al numero complessivo di cellule, le analisi, finalizzate alla conta cellulare del latte, sono state effettuate mediante l’utilizzo dello strumento Fossomatic™ 7 (conta le cellule somatiche utilizzando la citometria a flusso per riconoscere il DNA delle cellule) ed hanno restituito i valori della conta differenziale (linfociti, macrofagi e leucociti polimorfonucleati).

Le bovine con valore analitico superiore a 200.000 cellule somatiche su millilitro e cellule somatiche differenziali > 70 % (numero di neutrofili polimorfonucleati, linfociti e macrofagi e descrive la percentuale di PMN e linfociti tra questi) sono state trattate secondo due diverse procedure:

1. Animali con numero di matricola dispari (ed almeno un quarto della mammella positivo), sono stati trattati tutti e 4 i quarti;
2. Animali con numero di matricola pari sono stati trattati solo i capezzoli positivi.

Questa procedura ha generato un terzo gruppo di animali negativi (con tutti i singoli quarti con numero di cellule inferiore a 200.000 su millilitro) che non sono stati trattati ed a cui è comunque stato applicato un sigillante agli sfinteri dei capezzoli.

I primi grafici rappresentativi dei risultati dell’azione, ci mostrano, come a dispetto di quanto emerso dall’azione 3.1 circa le simili condizioni delle 3 stalle, in realtà il quadro che emerge è di importanti differenze tra i diversi siti zootecnici indagati. Nei grafici 2, 3 e 4 è rappresentata la distribuzione percentuale delle bovine in relazione ai capezzoli infetti (da nessuno a tutti e 4); si passa dal dato migliore del 35 % del totale della stalla La Corte al 13 % del totale della stalla Oppio (i grafici si riferiscono alla fase della messa in asciutta). Per estremizzare la rappresentazione dei numeri contenuti negli stessi grafici, anche il numero delle osservazioni con tutti e quattro i quarti infetti conferma il trend (significativo) sopra descritto. La stalla La Corte infatti con il 18 % delle osservazioni con tutti e 4 i quarti positivi si conferma la realtà aziendale con le migliori condizioni, la stalla Oppio con il 31 % la peggiore; anche in questo caso la stalla Il Castello si colloca in una posizione intermedia. Considerando il trattamento terapeutico sopra descritto nel disegno sperimentale, se confrontiamo il numero di tubetti di antibiotico per asciutta nel caso di asciutta selettiva abbiamo ridotto il quantitativo di antibiotici del 50%. Su 100 vacche quindi 400 capezzoli e 400 tubi nella gestione classica, al castello troviamo 193 quarti "sani", quindi utilizziamo 207 tubi contro i 400 riduzione del 49% per la corte sono 155 contro i 400, con riduzione del 62% per Oppio 233 contro i 400, con riduzione del 42% quindi dal punto di vista della diminuzione di antibiotico si assiste ad una riduzione significativa.

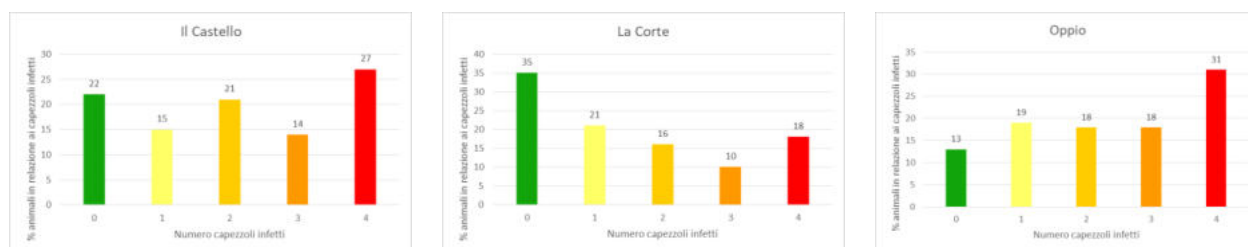


Grafico 2, 3, 4: distribuzione (%) delle bovine delle 3 stalle 'MenoFarmaco' in relazione ai capezzoli infetti

Il grafico 5 mostra la distribuzione delle vacche complessivamente negative nei tre controlli (negative per i criteri assegnati – SCC < 200.000 e DSCC > 70 %). Il numero degli animali con tutti i quarti negativi nell'immediato post-parto è più alto nella stalla 'Il Castello' con il 63 % delle osservazioni, segue 'Oppio' con il 56 % e 'La Corte' con il 52 % delle osservazioni. La situazione cambia radicalmente nella fase di controllo del 'picco di lattazione' dove il miglior dato osservato è fornito da 'La Corte' con il 70 % sul totale delle osservazioni, 'Il Castello' con il 63 % ed 'Oppio' con solo il 49 % delle osservazioni.

Nei grafici 6 e 7 sono rappresentate le percentuali degli animali guariti 'negativizzati', i grafici mostrano il dato espresso come 'vacche trattate per singolo capezzolo' e 'vacche trattate per intera mammella'; anche in questo caso, le barre degli istogrammi rappresentano le tre stalle oggetto dell'indagine (bordeaux – Il Castello, verde – La Corte e viola – Oppio). La stalla 'La Corte' evidenzia differenze significative rispetto a 'Il Castello' e 'Oppio' con percentuali del 64 % nel post-parto e 68 % al picco di lattazione (vacche precedentemente positive trattate per singolo capezzolo infetto) ed inoltre 59 % (vacche precedentemente positive trattate per intera mammella infetta). Gli altri dati non evidenzia differenze.

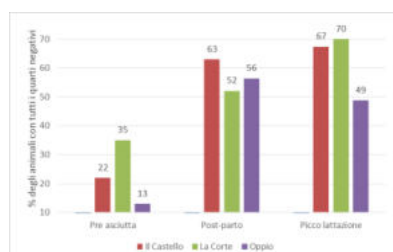


Grafico 5: distribuzione vacche negative nei 3 controlli

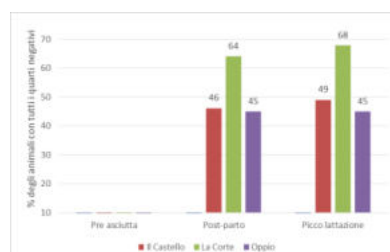


Grafico 6: negativizzazione delle vacche positive trattate per singolo capezzolo infetto nei 2 controlli

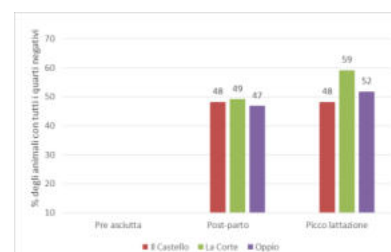


Grafico 7: negativizzazione delle vacche positive trattate per intera mammella infetta nei 2 controlli

Il data-set dei campioni analizzati nell'ambito dell'Operazione 'MenoFarmaco' è stato normalizzato, con la finalità di eliminare la ridondanza informativa e del rischio di incoerenza dal database; sono stati eliminati tutti gli animali che non hanno concluso un ciclo completo di campionamenti; le cellule somatiche ('classiche' che quelle 'differenziali'), parametri esposti a crescita esponenziale, sono stati trasformati ed espressi in logaritmo (cut-off 200.000 cellule -5,30 Log₁₀). I dati sono stati elaborato con ANOVA di SPSS. Nelle tabelle sotto si riportano i dati relativi alla 'evoluzione delle cellule somatiche (log₁₀) in funzione del trattamento nei singoli controlli' dove in relazione al trattamento (nessun trattamento, intera mammella trattata o singolo capezzolo/i) si evidenziano i contenuti cellulari medi nei tre controlli oggetto della prova (pre-asciutta, post-parto e picco di lattazione). In grassetto sono riportati i dati che superano il cut-off (5,30 Log₁₀) discriminante per l'individuazione degli animali positivi.

I dati dell'azienda 'Il Castello' riportati in Tabella 5 evidenziano come tra i gruppi positivi in relazione al Cut-off individuato e trattati esista una differenza statistica (5,716 mammella vs 5,257 capezzolo/i) nella fase del pre-asciutta, questa differenza si annulla nelle fasi successive dove non esiste differenza tra i gruppi. Le bovine trattate per singolo capezzolo nella fase di pre-asciutta (Tabella 6) ad un controllo di latte riferito al singolo animale (non ai singoli quarti come nel caso della nostra sperimentazione) sarebbero risultate negative.

Il Castello

Trattamento	Campioni n.	Controllo					
		Pre-asciutta		Post parto		Picco lattazione	
Nessuno	180	4,644	a	4,572	-	4,439	a
Mammella	378	5,716	c	4,677	-	4,630	b
Capezzolo/i	225	5,257	b	4,644	-	4,642	b
<i>Significatività</i>		***		<i>n.s.</i>		*	

Tabella 5: evoluzione delle cellule somatiche (log) in funzione del trattamento nei singoli controlli - elaborazione per singolo capezzolo

Controllo	Trattamento					
	Nessuno		Mammella		Capezzolo/i	
Pre-asciutta	4,644	b	5,716	b	5,257	b
Post parto	4,572	b	4,677	a	4,644	a
Picco lattazione	4,439	a	4,630	a	4,642	a
<i>Significatività</i>	**		***		***	

Tabella 6: evoluzione delle cellule somatiche (log) all'interno dei singoli trattamenti - elaborazione per capezzolo

I dati dell'azienda 'La Corte' riportati in Tabella 7 evidenziano come tra i gruppi positivi in relazione al Cut-off individuato e trattati esista una differenza statistica (5,532 mammella vs 5,253 capezzolo/i) nella fase del pre-asciutta, questa differenza si annulla nelle fasi successive dove non esiste differenza tra i gruppi. Le bovine trattate per singolo capezzolo nella fase di pre-asciutta (Tabella 8) ad un controllo di latte riferito al singolo animale (non ai singoli quarti come nel caso della nostra sperimentazione) sarebbero risultate negative.

La Corte

Trattamento	Campioni n.	Controllo					
		Pre-asciutta		Post parto		Picco lattazione	
Nessuno	794	4,473	a	4,901	-	4,218	-
Mammella	893	5,532	c	4,876	-	4,252	-
Capezzolo/i	586	5,253	b	4,955	-	4,249	-
<i>Significatività</i>		*		<i>n.s.</i>		<i>n.s.</i>	

Tabella 7: evoluzione delle cellule somatiche (log) in funzione del trattamento nei singoli controlli - elaborazione per singolo capezzolo.

Controllo	Trattamento					
	Nessuno		Mammella		Capezzolo/i	
Pre-asciutta	4,473	b	5,532	c	5,253	c
Post parto	4,901	c	4,876	b	4,955	b
Picco lattazione	4,218	a	4,252	a	4,249	a
<i>Significatività</i>	***		***		***	

Tabella 8: evoluzione delle cellule somatiche (log) all'interno dei singoli trattamenti - elaborazione per capezzolo

I dati dell'azienda 'L'Oppio' riportati in Tabella 9 evidenziano come tra i gruppi positivi in relazione al Cut-off individuato e trattati esista una differenza statistica (5,622 mammella vs 5,355 capezzolo/i) nella fase del pre-asciutta, questa differenza si annulla nelle fasi successive dove non esiste differenza tra i gruppi. Differentemente dalle altre realtà aziendali oggetto della sperimentazione di 'MenoFarmaco', le bovine trattate per singolo capezzolo nella fase di pre-asciutta (Tabella10) ad un controllo di latte riferito al singolo animale (non ai singoli quarti come nel caso della nostra sperimentazione) sarebbero comunque risultate positive e da trattare.

L'Oppio

Trattamento	Campioni n.	Controllo					
		Pre-asciutta		Post parto		Picco lattazione	
Nessuno	156	4,765	a	4,828	a	4,720	a
Mammella	662	5,622	c	4,964	b	4,903	b
Capezzolo/i	303	5,355	b	5,050	b	4,982	b
<i>Significatività</i>		***		**		**	

Tabella 9: evoluzione delle cellule somatiche (log) in funzione del trattamento nei singoli controlli - elaborazione per singolo capezzolo

Controllo	Trattamento					
	Nessuno		Mammella		Capezzolo/i	
Pre-asciutta	4,765	-	5,622	b	5,355	b
Post parto	4,828	-	4,964	b	5,050	b
Picco lattazione	4,720	-	4,903	a	4,982	a
<i>Significatività</i>	n.s.		***		***	

Tabella 10: evoluzione delle cellule somatiche (log) all'interno dei singoli trattamenti - elaborazione per capezzolo

Nelle tabelle sotto si riportano i dati relativi alla 'evoluzione delle cellule somatiche differenziali – DSCC (numero di neutrofili polimorfonucleati (PMN)); anche questo parametro, come descritto sopra è stato considerato (dopo Cut-off del numero di cellule complessive > 200.000) vincolante per decidere su trattare (o meno) le bovine secondo lo schema sperimentale. I risultati per il Parametro DSCC > 70 % sono limitati tant'è che solo il 4 % dei campioni complessivamente processati è stato condizionato da questo parametro per attribuire la positività al campione processato. I valori più alti sono stati registrati nella stalla Oppio nel gruppo trattato per singolo/i capezzolo al controllo del picco di lattazione, in questo caso la media rilevata su oltre 300 campioni è stata pari a 79,1 % (Tabelle 15 e 16).

Il Castello

Trattamento	Campioni n.	Controllo					
		Pre-asciutta		Post parto		Picco lattazione	
Nessuno	180	52,5	a	50,1	-	48,7	-
Mammella	378	65,7	b	52,6	-	52,5	-
Capezzolo/i	225	56,1	ab	52,2	-	51,7	-
<i>Significatività</i>		*		<i>n.s.</i>		<i>n.s.</i>	

Tabella 11: evoluzione delle cellule somatiche (log) in funzione del trattamento nei singoli controlli - elaborazione per capezzolo

Controllo	Trattamento					
	Nessuno		Mammella		Capezzolo/i	
Pre-asciutta	52,5	-	65,7	b	56,1	b
Post parto	50,1	-	52,6	a	52,2	a
Picco lattazione	48,7	-	52,5	a	51,7	a
<i>Significatività</i>	<i>n.s.</i>		***		*	

Tabella 12: evoluzione delle cellule somatiche all'interno dei singoli trattamenti - elaborazione per capezzolo

La Corte

Trattamento	Campioni n.	Controllo					
		Pre-asciutta		Post parto		Picco lattazione	
Nessuno	787	48,8	a	49,6	-	46,1	-
Mammella	893	54,9	b	48,1	-	44,4	-
Capezzolo/i	584	55,1	b	49,8	-	46,5	-
<i>Significatività</i>		***		<i>n.s.</i>		<i>n.s.</i>	

Tabella 13: evoluzione delle cellule somatiche (log) in funzione del trattamento nei singoli controlli - elaborazione per capezzolo

Controllo	Trattamento					
	Nessuno		Mammella		Capezzolo/i	
Pre-asciutta	48,8	b	54,9	c	55,1	c
Post parto	49,6	b	48,1	b	49,8	b
Picco lattazione	46,1	a	44,4	a	46,5	a
<i>Significatività</i>	***		***		***	

Tabella 14: evoluzione delle cellule somatiche all'interno dei singoli trattamenti - elaborazione per capezzolo

Oppio

Trattamento	Campioni n.	Controllo					
		Pre-asciutta		Post parto		Picco lattazione	
Nessuno	156	43,0	a	48,0	-	45,2	-
Mammella	662	55,6	b	52,3	-	48,9	-
Capezzolo/i	303	62,7	c	52,3	-	79,1	-
<i>Significatività</i>		***		n.s.		n.s.	

Tabella 15: evoluzione delle cellule somatiche (log) in funzione del trattamento nei singoli controlli - elaborazione per capezzolo

Controllo	Trattamento					
	Nessuno		Mammella		Capezzolo/i	
Pre-asciutta	43,0	a	55,6	c	62,7	-
Post parto	48,0	b	52,3	b	52,3	-
Picco lattazione	45,2	ab	48,9	a	79,1	-
<i>Significatività</i>	*		***		n.s.	

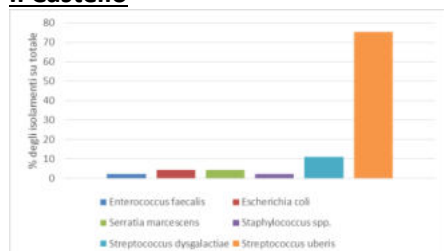
Tabella 16: evoluzione delle cellule somatiche all'interno dei singoli trattamenti - elaborazione per capezzolo

L'esecuzione delle prove microbiologiche e l'antibiogramma secondo il piano di campionamento previsto da MenoFarmaco', hanno fornito i dati sulla prevalenza e sull'incidenza delle mastiti nella fase di messa in asciutta, cruciale della carriera produttiva della bovina oltre alle 2 successive fasi di lattazione oggetto dell'indagine (post-parto e picco della lattazione). Il principale battere isolato nell'indagine è *Streptococcus uberis* che rappresenta il oltre il 70 % degli isolamenti della stalla 'Il Castello', oltre il 45 % di 'Oppio' e quasi il 20 % totale degli isolamenti di 'La Corte'. Batterio Gram-positivo, non classificabile sierologicamente nello schema di Lancefield, si caratterizza per essere catalasi-negativo, fermenta inulina e raffinosa, idrolizza l'arginina. I ceppi possono essere non emolitici o α -emolitici. Nonostante questo alcuni stipiti possono risultare positivi al CAMP-test (Farina e Scatozza, 1998). *Str. Uberis* è stato isolato su agar sangue a 30-37°C con l'aggiunta al terreno di esculina 0,1% la cui idrolisi dà luogo ad una zona più scura attorno alla colonia (Farina e Scatozza, 1998).

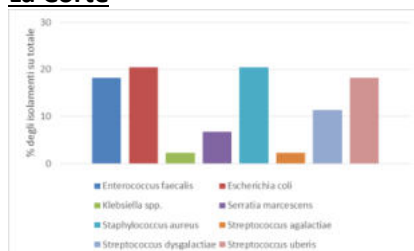
Nella stalla 'Oppio' si osserva anche una significativa presenza di mastiti imputabili a *Serratia marcescens* (18 % degli isolamenti), *Klebsiella spp.* (18 %) seguiti da *Streptococcus dysgalatiae* (11 %). Sembrano confermarsi i riferimenti bibliografici che descrivono le mastiti causate da *Serratia spp* e *Klebsiella spp.* come infezioni di lunga durata. Risulta invece solo parzialmente confermata l'esperienza di altri autori che hanno osservato come

le infezioni da *Klebsiella spp.* si manifestano più frequentemente in aziende con delle conte cellulari basse, infatti la stalla 'Oppio' pur con delle conte cellulari significativamente più basse da quanto prescritto dai regolamenti comunitari, risulta essere la stalla con le cellule più alte di 'MenoFarmaco'. Gli isolamenti su piastra della stalla 'La Corte' non evidenziano la prevalenza di isolamenti di *Str. Uberis* (che comunque incide sul 19 % degli isolamenti) che rappresenta insieme a *E. coli* (21 %), *St. aureus* (21 %) ed *Enterococcus faecalis* (19 %) gli agenti che causano mastiti con maggiore prevalenza in stalla.

Il Castello



La Corte



Oppio

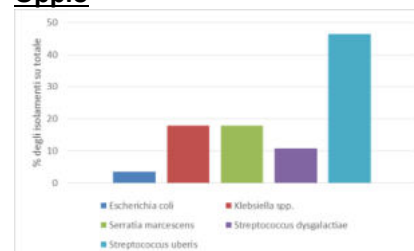


Gráfico 8: prevalenza agenti mastidogeni nel latte (% su totale isolamenti su piastra)

1540 campioni di latte individuale sono stati analizzati con PathoProof Mastitis Complete-16' che identifica 15 tipi di microrganismi e il gene β -lactamase responsabile della resistenza alla penicillina (inclusi lo *Staphylococcus aureus* e i principali staphylococchi coagulasi-negativi). I microrganismi e il gene β -lactamase sono rilevati in quattro separate reazioni di PCR. I microrganismi identificati sono: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp. (compreso *E. faecalis* and *E. faecium*), *Corynebacterium bovis*, *Staphylococcal β -lactamase* gene (responsabile della resistenza alla penicillina negli staphylococchi), *Escherichia coli*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Staphylococcus* spp. (compreso *Staphylococcus aureus* e tutti i più importanti staphylococchi coagulasi negativi), *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Klebsiella oxytoca* e/o *K. Pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Arcanobacterium pyogenes* e/o *Peptoniphilus indolicus*, *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma* spp., lieviti, *Prototheca* spp.

I risultati risultano per le tre stalle risultano in linea con i dati analizzati con microbiologia su piastra, anche in questo caso infatti *Streptococcus uberis* è il battere maggiormente presente nella stalla 'Il Castello' e 'La Corte', significativa la presenza di *Serratia marcescens* ad 'Oppio'.

Il Castello

	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
	-	+	++	+++
<i>Staphylococcus aureus</i>	367	2	0	0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	630	10	2	0
<i>Streptococcus uberis</i>	175	97	96	1
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	330	24	13	2
<i>Enterococcus</i> spp. *	357	12	0	0
<i>Escherichia coli</i>	342	17	9	1
<i>Klebsiella</i> spp. **	367	2	0	0
<i>Serratia marcescens</i>	361	1	7	0
<i>Mycoplasma bovis</i>	342	19	5	3
<i>Mycoplasma</i> spp	303	54	6	6
<i>Prototheca</i> spp.	368	1	0	0
<i>Staphylococcus</i> spp. ***	48	202	118	1
Lieviti	249	17	3	0
<i>Corynebacterium bovis</i>	346	22	1	0
<i>Trueperella pyogenes</i>	292	74	3	0
Resistenza alla penicillina	118	222	28	1

Tabella 17: risultati PCR - Thermo Scientific™ PathoProof™ Complete-16 kit

*(compreso *E. faecalis* e *E. faecium*), ** (compresa *K. oxytoca* e *K. pneumoniae*), *** (compresi tutti i principali staphylococchi coagulasi negativi)

Il Castello

Molecola/ batterio	Enter. faecalis	E. coli	Serratia marcescens	Staph. Spp.	Strept. dysgalactiae	Strept. uberis
Amoxicillina	-	66,6 %	20 %	-	-	-
Ampicillina	-	55,5 %	-	-	-	-
Cefalonio	-	-	-	-	-	NT
Cefapirina	57,1 %	-	100 %	-	-	-
Cefquinome	-	-	-	-	-	-
Enrofloxacin	-	-	-	-	33 %	25 %
Marbofloxacin	-	-	-	-	33 %	25 %
Penicillina	-	-	50 %	-	-	7,7 %
Rifaximina	-	100 %	20 %	-	-	25 %
Tiamfenicolo	-	55,5 %	80 %	-	-	-
Tilosina	62,5 %	100 %	100 %	-	-	-
Cefalexina	NT	NT	NT	NT	NT	-
Nafcillina	NT	NT	NT	NT	NT	-

Tabella 18: Risultati degli antibiogrammi dei campioni positivi

La Corte

	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
	-	+	++	+++
<i>Staphylococcus aureus</i>	630	10	2	0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	632	10	0	0
<i>Streptococcus uberis</i>	519	110	13	0
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	603	24	15	0
<i>Enterococcus spp.*</i>	602	31	9	0
<i>Escherichia coli</i>	592	32	17	1
<i>Klebsiella spp.**</i>	638	3	1	0
<i>Serratia marcescens</i>	630	9	2	1
<i>Mycoplasma bovis</i>	638	4	0	0
<i>Mycoplasma spp</i>	613	29	0	0
<i>Prototheca spp.</i>	640	1	1	0
<i>Staphylococcus spp.***</i>	187	307	147	1
Lieviti	470	173	9	0
<i>Corynebacterium bovis</i>	628	14	0	0
<i>Trueperella pyogenes</i>	573	64	5	0
Resistenza alla penicillina	363	270	9	0

Tabella 19: risultati PCR - Thermo Scientific™ PathoProof™ Complete-16 kit

* (compreso E. faecalis e E. faecium), ** (compresa K. oxytoca e K. pneumoniae), *** (compresi tutti i principali staphylococchi coagulasi negativi)

Il numero complessivo di antibiogrammi eseguiti nei 18 mesi di svolgimento del progetto risulta essere superiore a quanto previsto nel Piano, le analisi di sensibilità sono state distinte in funzione dell'antibiotico testato e del tipo di mastite osservata dai veterinari aziendali. Complessivamente, i dati fanno riferimento

ad oltre 4.550 (350 per circa 13 molecole testate) antibiogrammi (il numero totale di antibiogrammi eseguiti per singolo antibiotico varia in considerazione della diversa batteria di farmaci impiegati nelle diverse specie batteriche) eseguiti su altrettanti isolati batterici da campioni di latte mastitico. L'intenso lavoro di risanamento effettuato nelle 3 stalle oggetto dell'indagine conferma una netta predominanza di batteri Gram-positivi come responsabili di forme di mastite del bovino con una progressiva riduzione dell'incidenza di contagiosi a favore di batteri ambientali o opportunisti, questo dato è significativamente influenzato dagli isolamenti a carico di *Str. Uberis*, battere prevalente in 2 delle 3 stalle e con un importante numero di isolamenti anche nella terza. Nelle Tabelle 20, 21 e 22 sono rappresentati le percentuali di resistenza del battere rispetto alla molecola testata (e le molecole NT – non testate sullo specifico patogeno); per quanto riguarda le percentuali di ceppi resistenti o intermedi, non vengono evidenziate sostanziali differenze in base alla classificazione di Gram, mentre i ceppi ambientali sono quelli che presentano le percentuali più elevate rispetto agli agenti contagiosi ed opportunisti.

Ovviamente, più articolato è il risultato riferito alle specie o agli aggregati di specie con percentuali di resistenza media variabili da circa l'11% per *Staphylococcus aureus* + *Stafilococchi coagulasi-positivi* fino ad un massimo di circa il 40% per *Serratia spp.*

La Corte

Molecola/ batterio	Enter. faecalis	E. coli	Klebsiella spp.	Serratia Marc.	Staph. aureus	Strept. dysg.	Strept. uberis
Amoxicillina	-	66,6 %	100 %	66,6 %	-	-	-
Ampicillina	-	55,5 %	100 %	33,3 %	-	-	-
Cefalonio	NT	NT	NT	NT	-	-	NT
Cefapirina	57,1 %	71,4 %	NT	100 %	-	-	-
Cefquinome	66,7 %	-	NT	-	-	25 %	-
Enrofloxacin	62,5 %	-	-	-	-	-	28,6 %
Marbofloxacin	62,5 %	-	-	-	-	-	37,5 %
Penicillina	62,5 %	-	-	NT	25 %	25 %	12,5 %
Rifaximina	37,5 %	44,4 %	100 %	100 %	-	-	-
Tiamfenicolo	25,0 %	55,5 %	-	100 %	-	-	-
Tilosina	62,5 %	100 %	100 %	100 %	-	-	75,0 %
Cefalexina	NT	NT	NT	NT	NT	NT	-
Nafcillina	NT	NT	NT	NT	NT	NT	-

Tabella 20: Risultati degli antibiogrammi dei campioni positivi

Oppio

	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo
	-	+	++	+++
<i>Staphylococcus aureus</i>	432	3	0	0
<i>Streptococcus agalactiae</i>	423	11	1	0
<i>Streptococcus uberis</i>	369	52	14	0
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	409	22	4	0
<i>Enterococcus spp.*</i>	420	15	0	0
<i>Escherichia coli</i>	396	30	9	0
<i>Klebsiella spp.**</i>	433	1	1	0
<i>Serratia marcescens</i>	408	12	14	1
<i>Mycoplasma bovis</i>	426	5	4	0
<i>Mycoplasma spp</i>	407	25	3	0
<i>Prototheca spp.</i>	434	1	0	0
<i>Staphylococcus spp.***</i>	129	235	71	0
Lieviti	354	80	1	0
<i>Corynebacterium bovis</i>	408	27	0	0
<i>Trueperella pyogenes</i>	306	125	4	0
Resistenza alla penicillina	204	218	13	0

Tabella 21: risultati PCR - Thermo Scientific™ PathoProof™ Complete-16 kit

*(compreso E. faecalis e E. faecium), **(compresa K. oxytoca e K. pneumoniae), *** (compresi tutti i principali staphylococchi coagulasi negativi)

Oppio

Molecola/ batterio	E. coli	Klebsiella spp.	Serratia marcescens	Strept. dysgalactiae	Strept. uberis
Amoxicillina	55,5 %	50 %	20 %	-	-
Ampicillina	55,5 %	50 %	-	-	-
Cefalonio	NT	NT	-	-	-
Cefapirina	75,0 %	NT	100 %	-	-
Cefquinome	-	NT	-	-	-
Enrofloxacin	-	-	-	-	-
Marbofloxacin	-	-	-	25 %	23,3 %
Penicillina	-	-	-	-	-
Rifaximina	55,5 %	100 %	100 %	-	-
Tiamfenicolo	55,5 %	55,5 %	-	-	2,9 %
Tilosina	100 %	100 %	100 %	10 %	20,6 %
Cefalexina	NT	NT	NT	NT	NT
Nafcillina	NT	NT	NT	NT	-

Tabella 22: Risultati degli antibiogrammi dei campioni positivi

I risultati delle rese casearie ottenute nei due caseifici di riferimento

La resa casearia è la quantità di formaggio (in kg) che si ottiene da 100 kg di latte. Molteplici sono i fattori che la influenzano; tra questi, la tecnologia di trasformazione riveste il ruolo principale, ma non di meno risulta essere importante la qualità del latte. Le cellule somatiche, oggetto di 'MenoFarmaco' rappresentano una perdita di resa casearia. Infatti, all'aumentare del contenuto di cellule somatiche si "rompe" la caseina, diminuisce il suo contenuto la coagulazione del latte peggiora e in conseguenza a ciò la resa casearia crolla. Ad esempio, passando da circa 200mila a circa 500mila cellule la resa a 24 mesi cala da 7,39 a 6,74 kg di Parmigiano-Reggiano per 100kg di latte lavorato (Summer et al., 2013). I caseifici oggetto dell'indagine, seppur all'interno della disciplinata tecnologia di produzione del Formaggio Parmigiano Reggiano, sono andati nel corso di questo anni a sostanziali modifiche imputabili all'ammodernamento delle strutture, all'aumento delle tipologie di lattini lavorati (Bio, Non OGM), alla genetica delle vacche in stalla dove la Frisone italiana è stata per 2/3 sostituita con crossbreed [™] PROcross. Le prove di resa casearia sono state sempre condotte presso il laboratorio di CRPA Lab che dispone di 4 coagulatori di 10 litri di capacità nominali, dotati di sistemi per la gestione della temperatura e dell'agitazione, e la fase di coagulazione è stata monitorata grazie allo strumento Optigraph che consente di valutare in tempo reale l'evoluzione della consistenza della cagliata e la determinazione del punto ottimale per procedere con il taglio.

Caseificio Riolo

Sono stati confrontati 2 differenti lotti di latte derivanti dalle 2 delle 3 stalle oggetto della sperimentazione (Oppio e Castello). Su ogni campione e durante 2 giornate (09/12/2019 e 10/12/2019)

Risultati: resa casearia

La resa dei due lotti sottoposti ad analisi è superiore al 10%. Il rapporto grasso caseina, in tutti i casi risulta entro i limiti stabiliti dal CFPR. La resa casearia della stalla Il Castello risulta leggermente inferiore a quella del latte della stalla Oppio. Questo risultato è correlato con il minor contenuto di caseina. Il tempo ottimale di taglio è il tempo necessario per la coagulazione del latte e per raggiungere una certa consistenza della cagliata. Il latte della stalla Castello ha coagulato in tempi inferiori rispetto a quelli della stalla Oppio, ma la differenza è trascurabile dal punto di vista tecnologico.

Stalla	Lotto	09 dicembre 2019	10 dicembre 2019	Media della resa
Il Castello	B3	9,90	10,31	10,10
L'Oppio	B5	12,11	10,94	11,53

Tabella 23: rese casearie (%)

Stalla	Classe LDG*	Grasso (%)*	Caseina (%)*	G/C	Tempo Ottimale Taglio (min)
Castello	A	3,21	2,83	1,13	13,13
Oppio	A	3,07	2,93	1,05	13,67
Media		3,14	2,88	1,09	13,25

Tabella 24: analisi del latte e parametri di coagulazione

Caseificio Albalat

Sono stati confrontati 3 differenti lotti di latte provenienti dalla stalla del progetto (La Corte) e due altre stalle conferenti, i campioni prelevati e processati in data 25/11/2019 e 27/11/2019 sono stati identificati come segue: latte biologico, latte Non OGM e latte tradizionale (T)

Lotto	25 novembre 2019	27 novembre 2019	Media della resa
T	10,22	10,10	10,16
Biologico	10,80	10,69	10,74
Non OGM	10,60	10,25	10,43
Media	10,54	10,35	10,44

Tabella 25: rese casearie (%)

Lotto	R*	A30*	Grasso*	Caseina*	G/C	Tempo Ottimale Taglio (min)
Biologico	23	27	3,51	2,87	1,22	11,93
Non OGM	20	31	3,22	2,89	1,11	14,79
T	23	27	3,26	2,77	1,18	15,95
Media	22	28	3,33	2,84	1,17	14,23

Tabella 26: analisi del latte e parametri di coagulazione

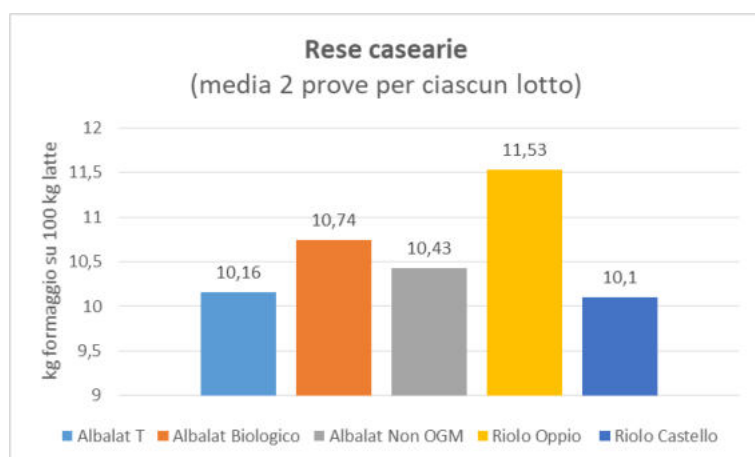


Grafico 9: rese casearie, totale dei lotti divisi per caseifici

Risultati resa casearia

La resa dei diversi lotti di latte risulta superiore al 10%. Il rapporto grasso caseina, in tutti i tre casi risulta entro i limiti stabiliti dal CFPR. Il latte bio è quello che ha una resa superiore in formaggio anche se il contenuto di caseina è inferiore al Non OGM. La differenza nella resa potrebbe essere dovuta al minor rapporto grasso/caseina di quest'ultimo. La resa inferiore corrisponde al latte del lotto T, che però è quello con il minor contenuto di caseina.

Il tempo ottimale di taglio può considerarsi come il tempo necessario per raggiungere una certa consistenza. In questo caso, il latte che presenta un'evoluzione più veloce è il latte biologico (circa 12 minuti), il latte non OGM necessita di circa 15 minuti, mentre il latte del lotto T, necessita di 16 minuti circa.

Conclusioni

Le rese di tutti i lotti individuati nei caseifici Albalat e Riolo e sottoposti ad analisi è sempre superiore al 10%. Il rapporto grasso caseina, in tutti i casi risulta entro i limiti stabiliti dal CFPR, i risultati risultano complessivamente molto buoni; il delta tra il migliore ed il peggior risultato è pari a 1,43 kg di formaggio per quintale di latte lavorato, questo valore ci indica ulteriori auspicabili e possibili margini di miglioramento condizionati da tutti i parametri che incidono nel processo di caseificazione (grasso, caseina e sue varianti genetiche, acidità titolabile, minerali e d'ovviamente le cellule somatiche oggetto di questa indagine).

Il costo di produzione del latte

Si è così proceduto ad una valutazione dei costi medi di produzione del latte e della redditività nelle 3 aziende partecipanti (in relazione alla gestione della rimonta, ad alcuni aspetti legati all'unio canale degli acquisti, le stalle Oppio e Il Castello sono state inserite nella stessa elaborazione come unica entità economica). Lo strumento utilizzato è stato il software Milk Money, un servizio internet sviluppato da CRPA che offre la possibilità di confrontare gli indici del proprio allevamento all'interno di un network di aziende che, in modo anonimo, condividono i parametri fondamentali del loro costo di produzione calcolati con la stessa metodologia.

Con un questionario sono così stati rilevati i dati delle aziende riguardo le modalità di utilizzo dei terreni agricoli, la consistenza della mandria, le compravendite delle produzioni animali, le razioni alimentari, l'efficienza tecnica dell'allevamento, le tipologie e superfici di fabbricati utilizzati per l'attività agricola, quali macchine sono utilizzate, la forza lavoro aziendale e i flussi di cassa.

La metodologia

La metodologia di calcolo del costo del latte si è basata sulla rilevazione di dati tecnici ed economici tra i più facilmente accessibili a tecnici ed allevatori stessi. L'analisi successiva ha permesso di calcolare i costi di produzione diretti che, sommati ai costi dei fattori di produzione, hanno permesso di calcolare quanti costa ad ogni azienda produrre 100 kg di latte in un dato anno. I costi sono stati poi messi in relazione con i ricavi (prezzo del latte, contributi pubblici, altro) per valutare la redditività delle singole aziende.

L'elaborazione delle informazioni raccolte ha permesso di produrre dei report economici le due aziende (La Corte ed Oppio/Il Castello) aziende, con le quali sono stati discussi per individuare eventuali correttivi atti a migliorare le proprie performance economiche. I più significativi di questi risultati sono riportati nelle prossime righe, dove per questioni di omogeneità sono riportati i dati medi delle 2 aziende che, per caratteristiche dimensionali, risultano simili tra di loro. I dati raccolti sono stati quelli del 2019 (tabellati) ed una media dell'ultimo quinquennio con la prevalente finalità di valutare i costi attribuibili alle spese veterinarie con particolare interesse a quelle destinate all'acquisto degli antibiotici utilizzati in stalla.

Le caratteristiche tecniche di queste 2 aziende hanno evidenziato una media di vacche allevate pari a 943 per La Corte e di 1399 per Bonlatte (Oppio e Il Castello), con una produzione media annua per vacca di 10.524 kg e 9.036 kg. Come si può osservare nella tabella, il costo di produzione totale medio è stato, nel 2019, di 50,91 €/100 kg di latte per La Corte e mediamente 56,55 €/100 kg di latte per Bonlatte (Oppio e Il Castello). Per quello che riguarda i valori imputabili alla voce di costo veterinario + medicinali + inseminazioni per l'azienda La Corte Albalat si sono raggiunti i 3,19 € / 100 kg di latte, dato che fa registrare una riduzione di circa il 30 % rispetto alla media del quinquennio precedente, tuttavia l'azienda ha assunto un veterinario che ha spostato il computo sulle spese del personale dipendente.

Per quello che riguarda i valori imputabili alla voce di costo veterinario + medicinali + inseminazioni per l'azienda Bonlatte si sono raggiunti i 3,39 € / 100 kg di latte, dato che fa registrare una riduzione di circa il 10 % rispetto alla media del quinquennio precedente, questo valore in larga parte può essere considerato frutto della riduzione dell'uso degli antibiotici nella fase di asciutta.

Dal lato dei ricavi, per l'azienda La Corte, il 2019 può essere considerato un anno con una buona remunerazione per il latte destinato a Parmigiano Reggiano: 59,99 €/100 kg, quindi significativamente superiore (circa 9 €/100 kg) al costo di produzione. Questo valore, sommato ai ricavi medi per la vendita di vacche e vitelli di scarto e ai contributi pubblici riconducibili al settore, ha portato ad un ricavo totale medio di 68,38 €/100 kg.

La differenza tra i ricavi e i costi ha dunque permesso di realizzare un profitto medio di 17,47 €/100 kg di latte, che può essere considerato un buon risultato a conferma della buona gestione tecnica ed economica di Albalat La Corte. Il punto medio di pareggio per l'azienda si è attestato a 47,86 €/100 kg di latte; vale a dire, nei costi di produzione sarebbero stati sostenuti fino a tale livello di prezzo.

Dal lato dei ricavi, anche per l'azienda Bonlatte, il 2019 può essere considerato un anno con una buona remunerazione per il latte destinato a Parmigiano Reggiano: 77,24 €/100 kg, quindi significativamente superiore (circa 20,79 €/100 kg) al costo di produzione. Questo valore, sommato ai ricavi medi per la vendita di vacche e vitelli di scarto e ai contributi pubblici riconducibili al settore, ha portato ad un ricavo totale medio di 86,23 €/100 kg.

La differenza tra i ricavi e i costi ha dunque permesso di realizzare un profitto medio di 39,78 €/100 kg di latte, che può essere considerato un buon risultato a conferma della buona gestione tecnica ed economica di Bonlatte. Il punto medio di pareggio per l'azienda si è attestato a 53,62 €/100 kg di latte; vale a dire, nei costi di produzione sarebbero stati sostenuti fino a tale livello di prezzo.

Ragione sociale	ALBALAT Società Cooperativa Agricola			
Anno				
Indirizzo				
Comune	Modena			
Provincia	Modena			
Zona altimetrica	Pianura			
Tipo di produzione	Convenzionale			
Destinazione del latte	Parmigiano Reggiano			
INDICATORE	Euro/100kg	Euro/capo	Euro	%
RICAVI				
Valore latte prodotto	59,99	6.313	5.953.158	87,7
Ricavi carne	2,64	278	261.763	3,9
Contributi (riconducibili all'allevamento da latte)	2,92	307	289.322	4,3
Altri ricavi latte	2,84	299	281.765	4,2
TOTALE RICAVI	68,38	7.196	6.786.008	100,0
ALTRI RICAVI				
Altri contributi e premi	0,00	-	-	
Altri ricavi	0,02	2	2.097	
TOTALE ALTRI RICAVI	0,02	2	2.097	100,0
COSTI DIRETTI				
Mangimi acquistati	21,16	2.227	2.099.807	41,6

Foraggi acquistati	5,62	592	557.841	11,0
Materie prime produzione foraggi (sementi, fertilizzanti ecc)	1,15	121	114.306	2,3
Acquisto animali	0,00	-	-	0,0
Veterinario + Medicinali + inseminazioni	3,19	336	316.509	6,3
Energia (carburanti + elettricità)	1,18	124	116.875	2,3
Acqua (stalla + irrigazione foraggi)	0,39	41	38.639	0,8
Assicurazioni	0,56	59	55.651	1,1
Contoterzi	1,23	130	122.439	2,4
Manutenzione fabbricati	0,51	54	51.000	1,0
Manutenzione macchine	1,83	192	181.467	3,6
Imposte e tasse	0,19	20	18.700	0,4
Costo spandimento liquame	0,89	94	88.557	1,8
Costi specifici settore latte	1,73	182	171.405	3,4
Costi generali	2,09	220	207.429	4,1
TOTALE COSTI DIRETTI	41,72	4.391	4.140.625	82,0
COSTO FATTORI DI PRODUZIONE				
Ammortamento macchine	0,46	49	45.833	0,9
Ammortamento fabbricati	1,27	134	126.195	2,5
Costo terra in proprietà	0,87	92	86.348	1,7
Costo terra non in proprietà	0,35	37	34.987	0,7
Costo lavoro familiare + contributi e SCAU	0,00	-	-	0,0
Costo lavoro dipendente	5,40	568	535.664	10,6
Interessi capitale agrario	0,44	47	43.890	0,9
Interessi capitale anticipazione	0,39	41	38.508	0,8
TOTALE COSTO FATTORI DI PRODUZIONE	9,18	967	911.426	18,0
COSTO DI PRODUZIONE TOTALE	50,91	5.357	5.052.051	100,0
COSTO NETTO DI PRODUZIONE	42,51	4474	4219201	
PROFITTO	17,47	1.839	1.733.957	
REDDITO FAMILIARE	18,78	1.977	1.864.196	
REMUNERAZIONE ORARIA (Euro/h)	0,00			
PUNTO DI PAREGGIO	47,86	5.037	4.749.784	
INDICE	VALORE			
INDICI TECNICI				
Vacche numero	943			
Razza	Frisona			
Produzione latte per vacca (kg/capo)	10.524			
Produzione totale latte in kg	9.924.300			
Superficie totale (ha)	510			
Superficie settore latte (ha)	446			
Contenuto in grasso %	3,63			
Contenuto in proteine %	2,80			
Vacche per ettaro foraggiere (capi/ha)	2,1			
Superficie in affitto (ha)	256,94			
Produttività del lavoro (kg latte/h)	-			
Produttività della terra (kg latte/ha)	22.256			
Età primo parto (mesi)	22			
Interparto (giorni)	376			
Numero medio di parti	2,00			

Tabella 28: costo di produzione del latte azienda La Corte

Ragione sociale		BONLATTE Sca (Oppio e IL Castello)			
Anno					
Indirizzo					
Comune		Castelfranco Emilia			
Provincia		Modena			
Zona altimetrica		Pianura			
Tipo di produzione		Convenzionale			
Destinazione del latte		Parmigiano Reggiano			
<hr/>					
INDICATORE	Euro/100kg	Euro/capo	Euro	%	
RICAVI					
Valore latte prodotto	77,24	6.979	9.763.639	89,6	
Ricavi carne	2,64	238	333.135	3,1	
Contributi (riconducibili all'allevamento da latte)	3,10	280	391.446	3,6	
Altri ricavi latte	3,26	295	412.441	3,8	
TOTALE RICAVI	86,23	7.792	10.900.661	100,0	
ALTRI RICAVI					
Altri contributi e premi	0,00	-	-		
Altri ricavi	0,02	2	2.983		
TOTALE ALTRI RICAVI	0,02	2	2.983	100,0	
COSTI DIRETTI					
Mangimi acquistati	25,16	2.273	3.180.395	44,6	
Foraggi acquistati	5,73	518	724.159	10,1	
Materie prime produzione foraggi (sementi, fertilizzanti ecc)	1,29	116	162.602	2,3	
Acquisto animali	0,00	-	-	0,0	
Veterinario + Medicinali + inseminazioni	3,39	306	428.549	6,0	
Energia (carburanti + elettricità)	2,61	235	329.400	4,6	
Acqua (stalla + irrigazione foraggi)	0,43	39	54.964	0,8	
Assicurazioni	0,63	57	79.164	1,1	
Contoterzi	1,38	124	174.171	2,4	
Manutenzione fabbricati	0,57	52	72.548	1,0	
Manutenzione macchine	2,04	185	258.139	3,6	
Imposte e tasse	0,21	19	26.601	0,4	
Costo spandimento liquame	1,00	90	125.973	1,8	
Costi specifici settore latte	1,78	161	224.570	3,1	
Costi generali	0,24	22	30.631	0,4	
TOTALE COSTI DIRETTI	46,45	4.197	5.871.866	82,3	
COSTO FATTORI DI PRODUZIONE					
Ammortamento macchine	0,32	29	40.427	0,6	
Ammortamento fabbricati	1,60	144	202.140	2,8	
Costo terra in proprietà	0,43	39	54.400	0,8	
Costo terra non in proprietà	0,39	36	49.769	0,7	
Costo lavoro familiare + contributi e SCAU	0,00	-	-	0,0	
Costo lavoro dipendente	6,34	573	801.989	11,2	
Interessi capitale agrario	0,48	43	60.626	0,8	
Interessi capitale anticipazione	0,43	39	54.608	0,8	
TOTALE COSTO FATTORI DI PRODUZIONE	10,00	903	1.263.959	17,7	

COSTO DI PRODUZIONE TOTALE	56,45	5.101	7.135.825	100,0
COSTO NETTO DI PRODUZIONE	47,45	4288	5998803	
PROFITTO	29,78	2.691	3.764.836	
REDDITO FAMILIARE	30,69	2.773	3.879.862	
REMUNERAZIONE ORARIA (Euro/h)	0,00			
PUNTO DI PAREGGIO	53,62	4.845	6.778.232	

INDICE	VALORE
INDICI TECNICI	
Vacche numero	1399
Razza	Frisona
Produzione latte per vacca (kg/capo)	9.036
Produzione totale latte in kg	12.641.300
Superficie totale (ha)	260
Superficie settore latte (ha)	260
Contenuto in grasso %	3,40
Contenuto in proteine %	3,50
Vacche per ettaro foraggiere (capi/ha)	5,4
Superficie in affitto (ha)	124,00
Produttività del lavoro (kg latte/h)	-
Produttività della terra (kg latte/ha)	48.620
Età primo parto (mesi)	24
Interparto (giorni)	397
Numero medio di parti	2,60

Tabella 29: costo di produzione del latte aziende Bonlatte Oppio ed il Castello

Azione 3.4 Elaborazione dei dati e validazione del modello

Unità aziendale responsabile - Centro Ricerche Produzioni Animali – CRPA S.p.A.

L'Operazione 16.2.01 Riduzione dell'uso di antibiotici nell'allevamento della vacca da latte mediante trattamenti mirati – 'MenoFarmaco' si sviluppa nell'ambito della filiera produttiva del formaggio Parmigiano Reggiano DOP ed ha coinvolto investimenti che vanno ad interessare le aziende agricole, la produzione e la commercializzazione del Progetto di Filiera che ha visto il Consorzio Granterre S.C.A. come soggetto capofila. Tra le seguenti priorità indicate nel bando per il settore lattiero caseario la filiera ha colto e sviluppato, in ordine di importanza gli aspetti legati alla qualità ed all'ambiente. Riguardo ai suddetti obiettivi la filiera ha puntato a potenziare, nelle aziende aderenti in qualità di beneficiari, la capacità di produrre un Parmigiano Reggiano che abbia come elemento caratterizzante il limitato nonché razionale uso degli antibiotici nella fase di produzione primaria, anche come contributo a contenere il fenomeno dell'antibiotico resistenza.

Lo stimolo al progetto è nato dagli inviti (nel frattempo molti sono diventati normati e cogenti) dell'Organizzazione Mondiale della Sanità definisce il fenomeno dell'antibiotico resistenza come 'una delle più grandi sfide in termini di salute del ventunesimo secolo che comporterà un cambiamento totale nel comportamento degli individui e della società'. Le 'Linee Guida all'uso prudente degli antimicrobici in medicina veterinaria (2015/C 299/04) al fine di proteggere e migliorare l'ambiente naturale, le condizioni sociali ed economiche degli operatori della filiera (aziende agricole, caseifici, magazzini e porzionatori-confezionatori) e dei loro dipendenti sono state egregiamente recepite con un importante lavoro della Regione Emilia-Romagna che nel 2018 in collaborazione con Università, ASL e IZZSS ha pubblicato le "Linee Guida Uso dell'antibiotico nell'allevamento bovino da latte". La strada da imboccare per la realizzazione del progetto, è stata tracciata anche dall'articolo pubblicato dal Journal Dairy Science nel 2017 "Differential somatic cell count—A novel method for routine mastitis screening in the frame of Dairy Herd Improvement testing programs"; si è pertanto deciso di lavorare in ottica di riduzione delle cellule somatiche (anche con l'ausilio delle cellule somatiche differenziali); l'articolo dettagliava con enfasi e rigore scientifico la potenzialità delle cellule somatiche differenziali nella diagnosi delle mastiti, a distanza di 3 anni nel 2020 nella stessa rivista e con una parte degli stessi autori con il lavoro "Differential somatic cell count as an additional indicator for intramammary infections in dairy cows" si evidenziano le potenzialità nell'impiego della metodica (indicatore addizionale) ma si dettagliano altresì dei limiti dettati a talune condizioni epidemiologiche.

Nella tabella 11 è rappresentato il flusso delle informazioni per l'applicazione del modello terapeutico, il progetto si è basato su una tempestiva e corretta diagnosi delle mastiti (anche con l'ausilio di tecnologie innovative) soprattutto considerando prioritarie le fasi di pre-asciutta, dove, risultano largamente somministrati antibiotici. Il modello che è stato applicato consisteva in un primo prelievo *ex-ante* la messa in asciutta delle bovine e solo alla ricezione dei referti dal laboratorio l'attribuzione al gruppo dei positivi (trattati per singoli capezzoli infetti e/o per l'intera mammella) o dei negativi; il cut-off utilizzato è stato:

Cellule Somatiche Totali > 200.000 (cellule/MI) e Cellule Somatiche Differenziali > 70 % (numero di neutrofili polimorfonucleati, linfociti e macrofagi e descrive la percentuale di PMN e linfociti tra questi).



Grafico 11: Il flusso delle informazioni per l'applicazione del modello terapeutico

Dai risultati e dall'analisi statistica riportata nelle Azioni 3.1 e 3.2 emerge un'assenza di effetti protettivi del trattamento con antibiotico più sigillante rispetto al solo sigillante; le bovine asciugate con il solo sigillante non sono più a rischio di contrarre mastite rispetto a quelle asciugate anche con antibiotico, questo risultato è stato verificato nell'immediato post-part e al picco di lattazione. Ferma restando la necessità di effettuare analisi di tipo batteriologico e gli antibiogrammi, necessari per isolare gli agenti eziologici responsabili di mastite e definire quali molecole utilizzare nella terapia (anche gerarchicamente in funzione delle specifiche attitudini a conferire resistenza) un'approccio selettivo che consideri come minima unità rintracciabile la mammella e quindi la bovina può essere un approccio perseguibile per la gestione dell'asciutta selettiva. La specifica indagine sul latte di quarto (capezzolo) ha portato a risultati di indubbio interesse ma di contro la gestione routinaria dei campioni porta ad un significativo incremento del lavoro senza comunque risultati aggiuntivi che ne suggeriscano l'applicazione.

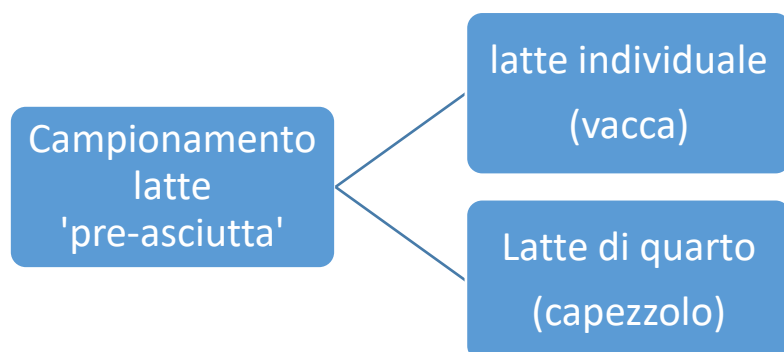


Grafico 12: la strategia di campionamento per l'asciutta selettiva

Il modello gestionale di asciutta selettiva applicato nelle 3 realtà zootecniche si è basato sull'attribuzione di un cut-off 'prudenziale' basato su un'ampia bibliografia presente in termini di cellule somatiche totali ma su una scarsa disponibilità di dati sulle cellule somatiche differenziali che nel nostro caso hanno condizionato il destino terapeutico delle bovine solo in maniera non significativa (5 % dei casi negativi per SCC sono stati trattati per la presenza di DSCC > 70 %). Ulteriori studi ed indagini sono auspicabili per affinare il modello.

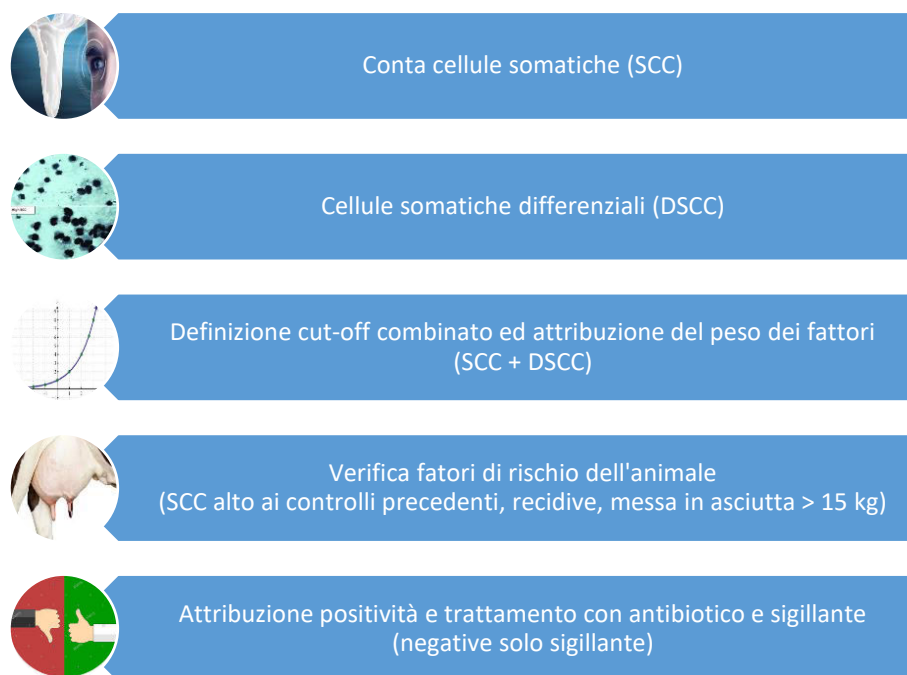


Grafico 13: il flusso del modello di gestione delle mastiti in stalla

Il presente studio suggerisce come un protocollo di asciutta selettiva, basato su criteri rigorosi di analisi e di trattamento, sia oggi possibile in Italia senza ripercussioni negative in termini di aumento di mastiti cliniche o subcliniche e con evidenti ricadute positive in termini di riduzione dell'utilizzo del farmaco e, di conseguenza, del rischio di insorgenza di antibiotico-resistenza. Il passaggio ormai cogente tra trattamento di massa nella fase del pre-asciutta e trattamento selettivo della mandria non può tuttavia non rappresentare una fase del processo di management generale che tenga in debito conto degli aspetti legati all'igiene della mungitura, al miglioramento degli ambienti di stabulazione e di gestione sanitaria in senso lato.

Azione 4. Divulgazione

Unità aziendale responsabile - Consorzio Granterre SCA

L'azione è stata realizzata da Consorzio Granterre S.C.A. con il supporto tecnico-scientifico di CRPA S.p.A. nella predisposizione di contenuti tecnici, materiali e report.

Con approccio condiviso è stato infatti pianificato un programma di eventi tecnico divulgativi funzionali al trasferimento delle attività svolte all'intera filiera coinvolta (dalle aziende di produzione primaria fino alla trasformazione del latte). Sono stati realizzati i template degli inviti e spediti a cura del Capofila (in parte anche da CRPA) e i ricercatori di CRPA hanno collaborato alla divulgazione durante gli interventi tecnici programmati.

Per il dettaglio si rimanda a quanto indicato dal Capofiliera Consorzio Granterre S.C.A. nella Relazione Tecnica del Piano.

Bibliografia consultata e/o citata

1. Alais C. (2000): "Scienza del latte". Ed. Tecniche Nuove, III Edizione.
2. Araújo de Melo D., da Silva Coelho I., Couto da Motta C., Coelho Marín Rojas, A.C., Dubenczuk F.C., de Mattos de Oliveira Coelho S., Soares de Souza M.M. (2014): "Impairments of mecA gene detection in bovine Staphylococcus spp.". Braz. J. of Microb., 45 (3), 1075-1082.
3. Arrigoni N., Gabarino C., Franco A., Battisti A. (2014): "Strumenti diagnostici e test di sensibilità agli antibiotici nell'approccio alla terapia della mastite bovina". Seminario Nazionale Convegno SIVAR, Cremona, 23 Ottobre.
4. Ballarini G. (1994): "Malattie della bovina da latte ad alta produzione BLAP". Edagricole, Bologna.
5. Barkema H.W., Deluyker H.A., Schukken Y.H., Lam T.J.G.M. (1999): "Quarter-milk somatic cell count at calving and at the first six milkings after calving". Prev. Vet. Med., 38, 1-9.
6. Barkema H.W., Schukken Y.H., Zadoks R.N. (2006): "Invited review: The role of cow, pathogen and treatment regimen in therapeutic success of bovine Staphylococcus aureus mastitis". J. Dairy Sci., 89 (6), 1877-1895.
7. Berry E.A., Hillerton J.E., (2002): "The effect of selective dry cow treatment on new intramammary infections". J. Dairy Sci., 85 (1), 112-121.
8. Bertocchi L., Vismara F., Hathaway T., Fusi F., Scalvenzi A., Bolzoni G., Zanardi G., Varisco G. (2012): "Evoluzione dell'eziologia della mastite bovina nel Nord Italia dal 2005 al 2011". Large Animal Review, 18.
9. Bishop H., Erkelens J., Van Winden S. (2010): "Predictors for successful bacteriological culture from milk samples". Veterinary Record, 166 (11), 322-
10. Blowley R.W., Edmondson P. (2010): "Mastitis control in Dairy Herds". CAB International, 11nd Edition.
11. Boni P. (1994): "Mastite e variazioni dei caratteri qualitativi del latte in relazione ai requisiti di legge". Summa, 3, 27-31.
12. Botaro B.G., Cortinhas C.S., Março L.V., Moreno J.F., Silva L.F., Benites N.R., Santos M.V. (2013): "Detection and enumeration of Staphylococcus aureus from bovine milk samples by real-time polymerase chain reaction". J. Dairy Sci., 96 (11), 6955-6964.

13. Botrel M.A., Haenni M., Morignat E., Sulpice P., Madec J.Y., Calavas D. (2010): "Distribution and antimicrobial resistance of clinical and subclinical mastitis pathogens in dairy cows in Rhône-Alpes, France". *Foodborne Pathog. Dis.*, 7 (5), 479-487.
14. Bradley A.J., Green M. (1998): "A prospective investigation of intramammary infections due to Enterobacteriaceae during the dry period: a presentation of preliminary findings". *J. Dairy Sci.*, 84 (7), 1632-1639.
15. Bramley A., Kerr D., Plaut K., Wall R. (2001): "Enhancing mastitis resistance by transgenic expression of antimicrobial proteins". Second International Symposium on Mastitis and Milk Quality, Vancouver, Canada, 58-61.
16. Brandt M., Haeussermann A., Hartung E. (2010): "Invited review: Technical solutions for analysis of milk constituents and abnormal milk". *J. Dairy Sci.*, 93 (2), 427-436.
17. Broadbent J.R., Chou Y.C., Gilles K., Kondo J.K. (1989): "Nisin inhibits several gram-positive, mastitis-causing pathogens". *J. Dairy Sci.*, 72, 3342-3345.
18. Burvenich C., Van Merris V., Mehrzad J., Diez-Fraile A., Duchateau L. (2003): "Severity of E.Coli mastitis is mainly determined by cow factors". *Vet. Res.*, 34, 521-564.
19. Carattoli A. (2011): "Plasmids in Gram-negatives: molecular typing of resistance plasmids". *Int. J. Med. Microbiol.*, 301:654.
20. Carli S., Ormas P., Re G., Soldani G. (2009): "Farmacologia Veterinaria". Idelson-Gnocchi, 681-778.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Analysis and presentation of cumulative antimicrobial susceptibility test data, 4th Ed. Approved guideline M39-A4. Wayne, PA: CLSI, 2014.
22. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria isolated From Animals, 4th Ed. Approved Standards VET01-A4. Wayne, PA: CLSI, 2013.
23. Constable P.D., Morin D.E. (2003): "Treatment of subclinical mastitis using antimicrobial susceptibility profiles for treatment decision". *Vet. Clin. Food Anim.*, 19 (1), 139-155.
24. Constable P., Pyörälä S., Smith. G. (2008): "Guidelines for antimicrobial use in cattle". *Guide to Antimicrobial Use in Animals*, 143-160.
25. Contreras G.A., Rodríguez J.M. (2011): "Mastitis: Comparative Etiology and Epidemiology". *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 16, 339-356.
26. Coughlin R., Tikofsky L., Schulte H., Bennet G., Rejman J., Fisher D., Crabb J., Schukken Y. (2004): "Lactation therapy with the nisin-based product MastOut: Results of a 125-cow study". *Natl. Mast. Counc.*, 43, 296-297.
27. Crestani C. PhD thesis, relatore Prof. Ostanello F. (2015): "Valutazioni di antibiotico-resistenza in agenti di mastite bovina nel triveneto". Università degli Studi di Bologna, Anno Accademico 2014/2015 Sessione II.
28. Malin Damm, Claus Holm, Mette Blaabjerg, Morten Novak Bro, Daniel Schwarz. (2017): "Differential somatic cell count—A novel method for routine mastitis screening in the frame of Dairy Herd Improvement testing programs". *Journal of Dairy Science*, Vol. 100, Issue 6, p4926–4940.
29. Davies J., Davies D. (2010): "Origins and evolution of antibiotic resistance". *Microbiol. Mol. Biol.*, 74:417.
30. De Carvalho N.L., Gonçalves J.L., Botaro B.G., Silva L.F., Dos Dantos M.V. (2015): "Detection and Enumeration of Streptococcus agalactiae from Bovine Milk Samples by Real-Time Polymerase Chain Reaction". *Curr. Microbiol.*, 71 (3), 363-372.
31. Deluyker H.A., Van Oye S.N., Boucher J.F. (2005): "Factors affecting cure and somatic cell count after pirlimycin treatment of subclinical mastitis in lactating cows". *J. Dairy Sci.*, 88 (2), 604-614.
32. Dufour S., Dohoo I.R., Barkema H.W., DesCôteaux L., DeVries T.J., Reyher K.K., Roy J.P., Scholl D.T. (2012): "Manageable risk factors associated with the lactational incidence, elimination, and

- prevalence of *Staphylococcus aureus* intramammary infections in dairy cows". *J. Dairy Sci.*, 95, 1283-1300.
33. Diarra M.S., Petitclerc D., Lacasse P. (2002). "Effects of lactoferrin in combination with penicillin on the morphology and the physiology of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis". *J. Dairy Sci.*, 85, 1141-1149.
 34. Direttiva n.98/58/CE del 8 Agosto 1998 - Suppl. ord. G.U. L. 221 del 8 Agosto 1998.
 35. Divers T.J., Peek S.F. (2008): "Rebhun's diseases of dairy cattle". Saunders Elsevier, 358-391.
 36. Dosogne H., Meyer E., Sturk A., van Loon J., Massart-Leën A., Burvenich C. (2002): "Effect of enrofloxacin treatment on plasma endotoxin during bovine *Escherichia coli* mastitis". *Inflamm. Res.*, 51, 201-205.
 37. ECDC/EMA 2009. The Bacterial challenge: time to react. http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0909_TER_The_Bacterial_Challenge_Time_to_React.pdf.
 38. Edmondson P. (2010): "Blitz therapy e *Streptococcus agalactiae*". *Veterinary Record*, 166 (11), 342.
 39. El-Din A.N.M.N., Shkreta L., Talbot B.G., Diarra M.S., Lacasse P. (2006): "DNA immunization of dairy cows with the clumping factor A of *Staphylococcus aureus*". *Vaccine*, 24.
 40. Erskine R.J. (2000): "Mastitis control in dairy herds". *Herd Health – Food Animal Production Medicine*. WB Saunders Company, PA, 397-433.
 41. Erskine R.J., Bartlett P.C., VanLente J.L., Phipps C.R. (2002): "Efficacy of systemic ceftiofur as a therapy for severe clinical mastitis in dairy cattle". *J. Dairy Sci.*, 85 (10), 2571-2575.
 42. Erskine R.J., Wagner S., DeGraves F.J. (2003): "Mastitis therapy and pharmacology". *Vet. Clin. Food Anim.*, 19 (1), 109-138.
 43. Erskine R.J. (2004): "Bovine mastitis pathogens and trends in resistance to antibacterial drugs". *Proc. 43rd Ann. Meet Nat. Mastitis Coun.*, Charlotte, NC.
 44. EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) -www.eucast.org.
 45. Ezzat Alnakip M., Quintela-Baluja M., Böhme K., Fernández-No I., Caamaño-Antelo S., Calo-Mata P., Barros-Velázquez J. (2014): "The Immunology of Mammary Gland of Dairy Ruminants between Healthy and Inflammatory Conditions". *J. Vet. Med.*, Vol. 2014, Art. 659801, 31 pages.
 46. Farina R., Scatozza F. (1998): "Malattie infettive degli animali". UTET Torino.
 47. Filippesen L.F. (1999): "Bovine S protein (vitronectin) increase phagocytosis of *Streptococcus dysgalactiae*". *Rev. de Microbiol.*, 30, 15-18.
 48. Fosgate G.T., Petzer I.M., Karzis J. (2013): "Sensitivity and specificity of a hand-held milk electrical conductivity meter compared to the California mastitis test for mastitis in dairy cattle". *Vet. J.*, 196 (1), 98-102.
 49. Fox L.K. (2009): "Prevalence, incidence and risk factors of heifer mastitis". *Vet. Microbiol.*, 134, 82-88.
 50. Gáspárdy A., Ismach G., Bajcsy A.C., Veress G., Márkus S., Komlósi I. (2012): "Evaluation of the on-line electrical conductivity of milk in mastitic dairy cows". *Acta Vet. Hung.*, 60 (1), 145-155.
 51. Gnemmi G., Pisoni G., Cattaneo M., Ruffo G., Moroni P. (2003): "Il ruolo del veterinario nell'approccio al problema delle mastiti cliniche e subcliniche". *Summa*, Suppl. al num.4, 3-32.
 52. Giguère S., Prescott J.F., Dowling P.M. (2013): "Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine". John Wiley & Sons Inc., Vth Edition.
 53. Gillespie B.E., Moorehead H., Downlen H.H., Johnson D.L., Lamar K.C., Lewis M.J., Ivey S.J., Oliver S.P. (2002): "Efficacy of extended pirlimycin hydrochloride therapy for treatment of environmental *Streptococcus* spp. and *Staphylococcus aureus* intramammary infections in lactating dairy cows". *Vet. Ther.*, 3 (4), 373-380.

54. Gong R., Hu C., Xu H., Guo A., Chen H., Zhang G., Shi L. (2010): "Evaluation of Clumping Factor A Binding Region A in a Subunit Vaccine against Staphylococcus aureus-Induced Mastitis in Mice". *Clinical and Vaccine Immunology*, 1746-1752.
55. González R.N., Jasper D.E., Kronlund N.C., Farver T.B., Cullor J.S., Bushnell R.B., Dellinger J.D. (1990): "Clinical mastitis in two California dairy herds participating in contagious mastitis control programs". *J. Dairy Sci.*, 73 (3), 648-660.
56. González R.N., Wilson D.J. (2003): "Mycoplasma mastitis in dairy herds". *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 19 (1), 199-221.
57. Guérin-Faublée V., Tardy F., Bouveron C., Carret G. (2002): "Antimicrobial susceptibility of Streptococcus species isolated from clinical mastitis in dairy cows". *Int. J. Antimicrob. Agents*, 19 (3), 219-226.
58. Guidry A., Fattom A., Pattel A., O'Brien C., Shepherd S., Lohuis J. (1998): "Serotyping scheme for Staphylococcus aureus isolated from cows with mastitis". *Am. Vet. Med. Assoc.*, 190, 1284-1287.
59. Hamann J., Krömker V. (1997): "Potential of specific milk composition variables for cow health management". *Livest. Prod. Sci.*, 48, 201-208.
60. Hegstad K. (2010): "Does the wide use of quaternary ammonium compounds enhance the selection and spread of antimicrobial resistance and thus threaten our health?". *Microb. Drug Resist.* 16:91.
61. Héry-Arnaud G., Bruant G., Lanotte P., Brun S., Picard B., Rosenau A., van der Mee-Marquet N., Rainard P., Quentin R., Mereghetti L. (2007): "Mobile Genetic Elements Provide Evidence for a Bovine Origin of Clonal Complex 17 of Streptococcus agalactiae". *Appl. And Environ. Microbiol.*, 4668-4672.
62. Hogan J., Smith K.L. (2012): "Managing Environmental Mastitis". *Vet. Clin. Food Anim.*, 28, 217-224.
63. Hogan J.S., Weiss W.P., Todhunter D.A., Smith K.L., Schoenberger P.S. (1992): "Efficacy of an Escherichia coli J5 mastitis vaccine in an experimental challenge trial". *J. Dairy Sci.*, 75 (2), 415-422.
64. International Dairy Federation (FIL - IDF) - www.fil-idf.org.
65. IZSLT (Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana), Centro Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza (2015) - <http://195.45.99.69/crab/wpcontent/uploads/2015/03/Molecole-prototipo-e-loro-equivalenti-in-vitro-rev-3-2015.pdf>.
66. Jackson P.G.G., Cockcroft P.D. (2002): "Clinical examination of farm animals". Blackwell Science.
67. Jamali H., Radmehr B., Ismaili S. (2014): "Short communication: prevalence and antibiotic resistance of Staphylococcus aureus isolated from bovine clinical mastitis". *J. Dairy Sci.*, 97 (4), 2226-2230.
68. Kaipainen T., Shpigel N., Pohjanvirta T., Pelkonen S., Pyörälä S. (2002): "Virulence factors of Escherichia coli strains in Israel". *Vet. Microbiol.*, 85, 37-46.
69. Kamphuis C., Sherlock R., Jago J., Mein G., Hogeveen H. (2008): "Automatic detection of clinical mastitis is improved by in-line monitoring of somatic cell count". *J. Dairy Sci.*, 91 (12), 4560-4570.
70. Kasravi R., Bolourchi M., Farzaneh N., Seifi H.A., Barin A., Hovareshti P., Gharagozlou F. (2011): "Efficacy of conventional and extended intra-mammary treatment of persistent sub-clinical mastitis with cefquinome in lactating dairy cows". *Trop. Anim. Health Prod.*, 43, 1203-1210.
71. Katholm J., Andersen P. (1998): "Severe coliform mastitis in practice: Efficacy of the therapy regimen not including antibiotics". *Proc. XX World Buiatrics Congress, Sydney*, 261-264.

72. Keefe G.P. (2012): "Update on Control of Staphylococcus aureus and Streptococcus agalactiae for Management of Mastitis". Vet. Clin. Food Anim., 28, 203-216.
73. Keefe G.P. (1997): "Streptococcus agalactiae mastitis: a review". Can. Vet. J., 38 (7), 429-436.
74. C. Kirkeby, N. Toft, D. Schwarz, M. Farre, S.S. Nielsen, L. Zervens, S. Hechinger, T. Halasa (2020): "Differential somatic cell count as an additional indicator for intramammary infections in dairy cows". Journal of Dairy Science, Vol. 103, Issue 2, p1759-1775.
75. Köck R., Schaumburg F., Mellmann A., Köksal M., Jurke A., Becker K., Friedrich A.W. (2013): "Livestock-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and Causes of Human Infection and Colonization in Germany". Plos One, Vol. 8, Issue 2, 1-6.
76. Koop G., van Werven T., Roffel S., Hogeveen H., Nazmi K., Bikker F.J. (2015): "Short communication: Protease activity measurements in milk as diagnostic test for clinical mastitis in dairy cows". J. Dairy Sci., 98 (7), 4613-4618.
77. Lam T.J.G.M. van Wuijckhuise L.A., Franken P., Morselt M.L., Hartman E.G., Schukken Y.H. (1996): "Use of composite milk samples for diagnosis of S. aureus mastitis in dairy cattle". J. Am. Vet. Med. Assoc., 208 (10), 1705-1708.
78. LeBlanc S.J., Lissemore K.D., Kelton D.F., Duffield T.F., Leslie K.E. (2006): "Major Advances in Disease Prevention in Dairy Cattle". J. Dairy Sci., 89, 1267-1279.
79. Leitner G., Pinchasov Y., Morag E., Spanier Y., Jacoby S., Eliau D., Pitcovski J. (2013): "Immunotherapy of mastitis". Veterinary Immunology and Immunopathology, 153, 209-216.
80. Lohuis J.A.C.M., Hensen S.M., Beers H. (1995): "MIC's and combined activity of penicillin and neomycin against Staphylococcus aureus strains from bovine mastitis as determined by microdilution and checkerboard assay". Int. Mastitis Seminar, Tel Aviv, Israel, Session 5, 114-115.
81. Marcato P.S. (2008): "Patologia Sistemática veterinária". Edagricole, 1045-1066.
82. Mansfeld R., Mansfeld S., Santl B., Hoedemaker M. (2001): "New aspects regarding the use of milk electrical conductivity as a parameter for routine diagnostic in dairy production medicine programs". 2nd Int. Symposium on Bovine Mastitis and Milk Quality, Vancouver, Canada, 488-489.
83. McDougall S., Hussein H., Petrovski K. (2014): "Antimicrobial resistance in Staphylococcus aureus, Streptococcus uberis and Streptococcus dysgalactiae from dairy cows with mastitis". New Zealand Vet. J., 62 (2), 68-76.
84. Mdegela R.H., Ryoba R., Karimuribo E.D., Phiri E.J., Løken T., Reksen O., Mtengeti E., Urio N.A. (2009): "Prevalence of clinical and subclinical mastitis and quality of milk on smallholder dairy farms in Tanzania". J. S. Afr. Vet. Assoc., 80 (3), 163-168.
85. Minst K., Märtlbauer E., Miller T., Meyer C. (2012): "Short communication: Streptococcus species isolated from mastitis milk samples in Germany and their resistance to antimicrobial agents". J. Dairy Sci., 95 (7), 6957-6962.
86. Mitchell J.M., Griffiths M.W., McEwen S.A., McNab W.B., Yee A.J. (1998): "Antimicrobial drug residues in milk and meat: causes, concerns, prevalence, regulations, tests and test performance". J. Food Protect, 61 (6), 742-756.
87. MSD Animal Health: Il programma di controllo delle mastiti in 10 punti - http://www.msds-animal-health.it/binaries/Il_programma_di_controllo_delle_Mastiti_tcm88-64586.pdf.
88. MSD Animal Health: Guida alla prevenzione delle mastiti - http://www.msds-animal-health.it/binaries/Guida_alla_prevenzione_delle_Mastiti_tcm88-64585.pdf.
89. Mulei C.M. (1999): "Teat lesions and their relationship to intramammary infections on small-scale dairy farms in Kiambu district in Kenya". J. S. Afr. Vet. Assoc., 70 (4), 156-157.
90. Newton H.T., Green M.J., Benchaoui H., Cracknell V., Rowan T., Bradley A.J. (2008): "Comparison of the efficacy of cloxacillin alone and cloxacillin combined with an internal teat sealant for dry-cow therapy". Vet. Rec., 162 (21), 678-84.

91. OIE/IABS (World Organisation for Animal Health/ International Alliance for Biological Standardization) - International Symposium Alternatives to Antibiotics. Paris, 25-28 September 2012
<http://www.ars.usda.gov/alternativestoantibiotics/Symposium2012/index.html>.
92. Olde Riekerink R.G.M., Barkema H.W., Kelton D.F., Scholl D.T. (2008): "Incidence Rate of Clinical Mastitis on Canadian Dairy Farms". J. Dairy Sci., 91, 1366-1377.
93. Oliveira L., Langoni H., Hulland C., Ruegg P.L. (2012): "Minimum inhibitory concentrations of Staphylococcus aureus recovered from clinical and subclinical cases of bovine mastitis". JH. Dairy Sci., 95, 1913-1920.
94. Oliver S.P., Gillespie B.E., Headrick S.J., Moorehead H., Lunn P., Downlen H.H., Johnson D.L., Lamar K.C., Chester S.T., Moseley W.M. (2004): "Efficacy of extended ceftiofur intramammary therapy for treatment of subclinical mastitis in lactating dairy cows". J. Dairy Sci., 87 (8), 2393-2400.
95. Oliver S.P., Murinda S.E. (2012): "Antimicrobial resistance of mastitis pathogens". Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract., 28 (2), 165-185.
96. Østerås O., Sølverød L. (2009): "Norwegian mastitis control program". Irish Vet. J., 62, 26-33.
97. Owens W.E., Nickerson S.C., Boddie R.L., Tomita G.M., Ray C.H. (2001): "Prevalence of mastitis in dairy heifers and effectiveness of antibiotic therapy". J. Dairy Sci., 84, 814-817.
98. Owens W.E., Ray C.H. (1996): "Therapeutic and prophylactic effect of prepartum antibiotic infusion in heifers". Zentralbl. Veterinarmed., 43, 455-459.
99. Pantoja, J.C.F., Hulland, C., Ruegg, P.L. (2009): "Dynamics of somatic cell counts and intramammary infections across the dry period". Preventative Veterinary Medicine, 90, 43-54.
100. Partridge S.R. (2009): "Gene cassettes and cassette arrays in mobile resistance integrons". FEMS Microbiol. Rev., 33:757.
101. Perla R.J., Carifio J. (2005): "Use of Chi-square Test to determine significance of cumulative antibiograms data". American Journal of Infectious Diseases, 1 (4), 162-167.
102. Persson Y., Nyman A.K., Grönlund-Andersson U. (2011): "Etiology and antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of subclinical mastitis in dairy cows in Sweden". Acta Vet. Scand., 53:36.
103. Petzer I.M., Karzis J., Meyer I.A., van der Schans T.J. (2013): "A cost-benefit model comparing the California Milk Cell Test and Milk Electrical Resistance Test". Onderstepoort J. Vet. Res., 80 (1), 538.
104. Piccinini R. (2003): "La presenza di batteri contagiosi riduce la produzione di latte". L'Informatore Agrario, 59 (37), 55-57.
105. Pinzon-Sanchez C., Ruegg P.L. (2011): "Risk factors associated with short-term post-treatment outcomes of clinical mastitis". J. Dairy Sci., 94 (3), 3397-3410.
106. Pisoni G. (2007): "La mastite nell'allevamento della bovina da latte". Point Veterinarie Italie.
107. Pol M., Ruegg P.L. (2007): "relationship between antimicrobial drug usage and antimicrobial susceptibility of gram-positive mastitis pathogens". J. Dairy Sci., 90 (1), 262-273.
108. Poli G., Cocilovo A., Dall'Ara P., Martino P.A., Ponti W. (2011): "Microbiologia e immunologia veterinaria". UTET Torino, III Edizione.
109. Poutrel B., Rainard P. (1981): "California mastitis test guide of selective dry cow therapy". J. Dairy Sci., 64, 241-248.
110. Prescott J.F. (2008): "Antimicrobial use in food and companion animals". Animal Health Res. Rev. 9:127.
111. Pyörälä S. (2002): "New strategies to prevent mastitis". Reprod. Dom. Anim., 37, 211-216.
112. Pyörälä S. (2003): "Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis". Vet. Res., 34 (5), 565-578.

113. Pyörälä S. (2009): "Treatment of mastitis during lactation". Irish Veterinary Journal, Vol. 62, 40-44.
114. Pyörälä S., Taponen S. (2009): "Coagulase-negative staphylococci – Emerging mastitis pathogens". Vet. Microbiol., 134, 3-8.
115. Poppe C. (2005): "Acquisition of resistance to extended-spectrum cephalosporins by Salmonella enterica subsp. Enterica serovar Newport and Escherichia coli in the turkey poult intestinal tract". Appl. Environ. Microbiol, 71:1184.
116. Radostits O.M., Gay C.C., Hinchcliff K.W., Constable P.D. (2007): Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats". Saunders Elsevier, 10th Edition, 673-749.
117. Rahman M.M., Mazzilli M., Pennarossa G., Brevini T.A.L., Zecconi A., Gandolfi F. (2011): "Chronic mastitis is associated with altered ovarian follicle development in dairy cattle". J. Dairy Sci., 95, 1885-1893.
118. Rainard P., Riollot C. (2006): "Innate immunity of the bovine mammary gland". Vet. Res., 37 (3), 369-400.
119. Rajala-Schultz P.J., Smith K.L., Hogan J.S., Love B.C. (2004): "Antimicrobial susceptibility of mastitis pathogens from first lactation and older cows". Vet. Microbiol., 102 (1-2), 33-42.
120. Regione Emilia-Romagna (2018): "Linee Guida Uso dell'antibiotico nell'allevamento bovino da latte". <https://www.alimenti-salute.it/content/linee-guida-uso-dellantibiotico-nellallevamento-bovino-latte>.
121. Regolamento (CE) n.853/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 29 aprile 2004, che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale. Allegato III - Sezione IX - Capitolo I - Punto III.
122. Regolamento (CE) n.2073/2005 della Commissione, del 15 novembre 2005, sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari. Allegato I - Capitolo II - Punto II.
123. Reyher K.K., Haine D., Dohoo I.R., Revie C.W. (2012): "Examining the effect of intramammary infections with minor mastitis pathogens on the acquisition of new intramammary infections with major mastitis pathogens: a systematic review and meta-analysis". J. Dairy Sci., 95 (11), 6483-6502.
124. Robertson J.R. (2012): "Treatment of Clinical Mastitis". Vet. Clin. Food Anim., 28 (3), 271-288.
125. Robertson J.R. (2003): "Establishing treatment protocols for clinical mastitis". Vet. Clin. Food Anim., 19 (1), 223-234.
126. Roussel P., Serieys F., Le Guenic M., Baudet H., Heuchel V., Bareille N., Seegers H. (2007): "Scelta chiara di una strategia di trattamento alla messa in asciutta". Summa, 9, 17-23.
127. Roy J.P., DesCôteaux L., DuTremblay D., Beaudry F., Elsener J. (2009): "Efficacy of a 5-day extended therapy program during lactation with cephapirin sodium in dairy cows chronically infected with Staphylococcus aureus". Can. Vet. J., 50 (12), 1257-1262.
128. Ruegg P.L. (2003): "Investigation of mastitis problems on farms". Vet. Clin. Food Anim., 19 (1), 47-73.
129. Ruegg P.L., Pantoja J.C.F. (2013): "Understanding and using somatic cell counts to improve milk quality". Irish J. Of Agric. And Food Res., 52, 101-117.
126. Rysanel D., Zouharova M., Babak V. (2008): "monitoring major mastitis pathogens at the population level based on examination of bulk tank milk samples". J. Dairy Res., 76 (1), 117-123.
130. Salyers A.A., Amiable-Cuevas C.F. (1997): "Why are antibiotic resistance genes so resistant to elimination?". Antimicrob. Agents Chemother., 41:2321.
131. Santos-Sanches I., Chambel L., Tenreiro R. (2015): "Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE): application in popular structure studies of bovine mastitis-causing streptococci". Methods Mol. Biol., 323-334.
132. Scali F., Camussone C., Calvinho L.F., Cipolla M., Zecconi A. (2015): "Which are important targets in development of S. aureus mastitis vaccine?". Research in Vet. Sci., 100, 88-99.

133. Schubert H., Krueger C., Zerbe H., Bleckmann E., Leibold W. (2001): "Characterization of leukocytotoxic and superantigen-like factors produced by *Staphylococcus aureus* isolates from milk of cows with mastitis". *Vet. Microb.*, 82, 187-199.
134. Schukken Y.H., Bennett G.J., Zurakowski M.J., Sharkey H.L., Rauch B.J., Thomas M.J., Ceglowski B., Saltman R.L., Belomestnykh N., Zadoks R.N. (2011): "Randomized clinical trial to evaluate the efficacy of a 5-day ceftiofur hydrochloride intramammary treatment on nonsevere gram-negative clinical mastitis". *J. Dairy Sci.*, 94 (12), 6203-6215.
135. Schukken Y.H., Chuff M., Moroni P., Gurjar A., Santisteban C., Welcome F., Zadoks R. (2012): "The "Other" Gram-Negative Bacteria in Mastitis - *Klebsiella*, *Serratia* and More". *Vet. Clin. Food Anim.*, 28, 239-256.
136. Schukken Y.H., Wilson D.J., Welcome F., Garrison-Tikofsky L., González R.N. (2003): "Monitoring udder health and milk quality using somatic cell count". *Vet. Res.*, 34 (5), 579-596.
137. Sears P.M., Smith B.S., English P.B., Herer P.S., González R.N. (1990): "Shedding pattern of *Staphylococcus aureus* from bovine intramammary infections". *J. Dairy Sci.*, 73 (10), 2785-2790.
138. Sears P.M., McCarthy K.K. (2003): "Diagnosis of mastitis for therapy decisions". *Vet. Clin. Food Anim.*, 19 (1), 93-108.
139. Sears P.M., McCarthy K.K. (2003): "Management and treatment of staphylococcal mastitis". *Vet. Clin. Food Anim.*, 19 (1), 171-185.
140. Shlaes D.M., e coll. (1997): "Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial Resistance: Guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals". *Clin. Infect. Dis.* 25:584.
141. Shpigel N.Y., Levin D., Winkler M., Saran A., Ziv G., Böttner A. (1997): "Efficacy of cefquinome for treatment of cows with mastitis experimentally induced using *Escherichia coli*". *J. Dairy Sci.*, 80, 318-323.
142. Silley P. (2012): "Susceptibility testing methods, resistance and breakpoints: what do these terms really mean?". *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 31 (1), 33-41.
143. Smolenski G.A., Wieliczko R.J., Pryor S.M., Broadhurst M.K., Wheeler T.T., Haigh B.J. (2011): "The abundance of milk cathelicidin proteins during bovine mastitis". *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 143 (1-2), 125-130.
144. Society for Healthcare Epidemiology of America, Infectious Diseases Society of America, Pediatric Infectious Diseases Society (2012): "Policy statement on antimicrobial stewardship by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA), the Infectious Diseases Society of America (IDSA), and the Pediatric Infectious Diseases Society (PIDS)". *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 33:322.
145. Sobukawa H., Ibaraki M., Kano R., Ito T., Suzuki K., Kamata H., Hasegawa A. (2013): "Rapid molecular typing of *Prototheca zopfii* by high resolution melting real-time PCR (PCR-HRM)". *Med. Mycol. J.*, 54 (4), 341-344.
146. Sørensen, L.P., Guldbrandtsen B., Thomasen J.R., Lund M.S. (2008): "Pathogen-Specific Effects of Quantitative Trait Loci Affecting Clinical Mastitis and Somatic Cell Count in Danish Holstein Cattle". *J. Dairy Sci.*, 91, 2493-2500.
148. Sørum M., Holstad G., Lillehaug A., Kruse H. (2004): "Prevalence of vancomycin resistant enterococci on poultry farms established after the ban of avoparcin". *Avian Dis.*, 48 (4), 823-828.
149. Suojala L., Simojoki H., Mustonen K., Kaartinen L., Pyörälä S. (2010): "Efficacy of enrofloxacin in the treatment of naturally occurring acute clinical *Escherichia coli* mastitis". *J. Dairy Sci.*, 93, 1960-1969.
150. Swinklers J.M., Cox P., Schukken Y.H., Lam T.J.G.M. (2013): "Efficacy of extended cefquinome treatment of clinical *Staphylococcus aureus* mastitis". *J. Dairy Sci.*, 96, 4983-4992.

151. Taponen S., Jantunen A., Pyörälä E., Pyörälä S. (2003b): "Efficacy of targeted 5-day combined parenteral and intramammary treatment of clinical mastitis caused by penicillin- susceptible or penicillin- resistant *Staphylococcus aureus*". *Acta Vet. Scand.*, 44 (6), 53-62.
152. Tenhagen B.A., Köster G., Wallmann J., Heuwieser W. (2006): "Prevalence of Mastitis Pathogens and their Resistance against Antimicrobial Agents in Dairy Cows in Brandenburg, Germany". *J. Dairy Sci.*, 89 (2), 2542-2551.
153. Thomas C.M., Nielsen K.M. (2005): "Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria". *Nat. Rev. Microbiol.*, 3 (9), 711-721.
154. Thomas F.C., Waterston M., Hastie P., Parkin T., Haining H., Eckersall P.D. (2015): "The major acute phase proteins of bovine milk in a commercial dairy herd." *BMC Vet. Res.*, 11 (1), 207.
155. Thompson-Crispi K., Atalla H., Miglior F., Mallard B.A. (2014): "Bovine mastitis: frontiers in immunogenetics". *Frontiers in Immunology*, vol. 5, art. 493.
156. Tikofsky L.L., Barlow J.W., Santisteban C., Schukken Y.H. (2003): "A comparison of antimicrobial susceptibility patterns for *Staphylococcus aureus* in organic and conventional dairy herds". *Microb. Drug Resist.*, 9, Suppl.1, 39- 45.
157. Trevisi E., Zecconi A., Cogrossi S., Razzuoli E., Grossi P., Amadori M. (2014): "Strategies for reduced antibiotic usage in dairy cattle farms". *Rec. in Vet. Sci.*, 96, 229-233.
158. Trucchetti G., Bouchard É., DesCôteaux L., Scholl D., Roy J.P. (2014): "Efficacy of extended intramammary ceftiofur therapy against mild to moderate clinical mastitis in Holstein dairy cows: A randomized clinical trial". *The Can. Journal of Vet. Res.*, 78, 31-37.
159. Varisco G., Bolzoni G., Cornoldi M. (2004): "La determinazione della caseina nel latte per la qualità delle trasformazioni casearie". IZSLER.
160. Wilson D.J., González R.N. (2003): "Vaccination strategies for reducing clinical severity of coliform mastitis". *Vet. Clin. Food Anim.*, 19 (1), 187-197.
161. World Health Organization - www.who.int.
162. Wright G.D. (2010): "Antimicrobial resistance in the environment: a link to the clinic?". *Curr. Opin. Microbiol.*, 13:589.
163. Zecconi A., Ruffo G. (1993): "La mastite bovina. 1° parte: definizione, clinica, eziologia". *Summa*, 9, 25-30.
164. Zecconi A., Ruffo G. (1994): "La mastite bovina. 2° parte: immunità, diagnosi". *Summa*, 1, 25-30.
165. Zecconi A., Ruffo G. (1994): "La mastite bovina. 3° parte: cenni di terapia". *Summa*, 2, 27-31.
166. Zecconi A., Piccinini R., Zepponi A., Ruffo G. (1997): "Recovery of *S. aureus* from centrifuged milk samples". *J. Dairy Sci.*, 80 (11), 3058-3063.
167. Zecconi A., Zanirato G. (2013): "Il controllo delle mastiti per un allevamento sostenibile".
168. Zecconi A. (2009): "La mastite, una sfida che continua". *La Settimana Veterinaria*, Suppl. al num. 670.
169. Zonca A., Gallo M., Locatelli C., Carli S., Moroni P., Villa R., Cagnardi P. (2011): "Cefquinome sulfate behavior after intramammary administration in healthy and infected cows". *J. Dairy Sci.*, 94, 3455-3461.