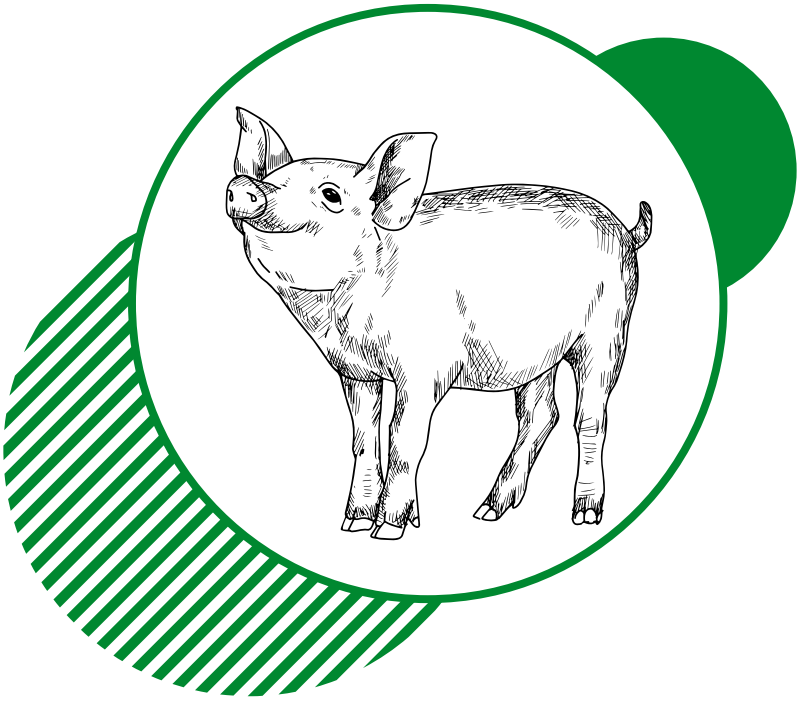
SOCIETÀ ITALIANA DI PATOLOGIA ED ALLEVAMENTO DEI SUINI

50 MEETING ANNUALE

Lazise (VR) - 17/18 Aprile 2025

TH Lazise - Hotel Parchi del Garda



SOCIETÀ ITALIANA DI PATOLOGIA ED ALLEVAMENTO DEI SUINI

ATTI
DELLA SOCIETÀ ITALIANA DI PATOLOGIA ED ALLEVAMENTO DEI SUINI

2025

Atti della SIPAS, Società Italiana di Patologia ed Allevamento dei Suini

Edito da SIPAS. Tutti i diritti riservati.

Pubblicato da SIPAS.

ISBN 978-88-943304-3-4

INDICE

Prefazione ..... p. 19

ATTI DELLA GIORNATA DI STUDIO

GLI INVESTIMENTI INDISPENSABILI:
GESTIONE E COMUNICAZIONE

Parma, 11 Ottobre 2024

COMUNICARE IL RISCHIO IN SANITÀ ANIMALE: STRATEGIE E METODI PER IL COINVOLGIMENTO DEGLI STAKEHOLDER
Crovato S. ..... p. 21

RIDURRE L'USO DEGLI ANTIBIOTICI NEGLI ALLEVAMENTI DI SUINI UTILIZZANDO IL MODELLO DI GESTIONE DEL CAMBIAMENTO ADKAR
Huben M. ..... p. 23

IL CONSUMO E LA STEWARDSHIP DELL'ANTIBIOTICO NEL SUINO ALL'INGRASSO: STATO DELL'ARTE AL 2024
Santucci G. ..... p. 24

CEPPI DI PRRS AD ALTA VIRULENZA: IMPATTO ECONOMICO E PROSPETTIVE DI CONTROLLO
Illas F. ..... p. 27

ERADICAZIONE DELLE MALATTIE - QUAL È IL SUO VALORE?
Koenders K. ..... p. 28

ATTI DEL 50 MEETING ANNUALE

Lazise (VR), 17-18 Aprile 2025

LINEE GUIDA SULL'USO PRUDENTE DEGLI ANTIBIOTICI NEL SETTORE SUINICOLO: CRITERI E ASPETTI NORMATIVI ALLA BASE DELLA REVISIONE
Candela L. ..... p. 32

LINEE GUIDA PER L'USO PRUDENTE DELL'ANTIBIOTICO NEL SUINO: LA DIAGNOSI DI LABORATORIO DELLE MALATTIE INFETTIVE E IL SUO RUOLO CHIAVE PER UN TRATTAMENTO ANTIBIOTICO CONSAPEVOLE
Bassi P. ..... p. 33

AGGIORNAMENTI SULLE LINEE GUIDA SULL'USO PRUDENTE DEGLI ANTIBIOTICI NEGLI ALLEVAMENTI SUINI
Trambajolo G. ..... p. 39

UTILIZZO SOSTENIBILE DEGLI ANTIBIOTICI NELL'ALLEVAMENTO SUINICOLO E APPLICAZIONE DELLE LINEE GUIDA
Rolla U. ..... p. 41

UTILIZZO RAZIONALE DEGLI ANTIBIOTICI IN AMBITO ZOOTECNICO: IL PUNTO DI VISTA DEL LIBERO PROFESSIONISTA. UN APPROCCIO SOSTENIBILE PER LA SALUTE ANIMALE E UMANA: ONE HEALTH.
Zavattini S. ..... p. 42

LA SITUAZIONE DELLA PESTE SUINA AFRICANA (ASF) IN GERMANIA E LA STRATEGIA DI CONTROLLO DELLA BASSA SASSONIA
Zani L. ..... p. 44

PSA: COME TI INFETTO IL CINGHIALE (E TI ROVINO IL SUINO)
Guberti V. ..... p. 46

PESTE SUINA AFRICANA IN LOMBARDIA COMPRENDERNE LE ORIGINI PER COMBATTERNE LA DIFFUSIONE
Bellini S. ..... p. 49

IN ATTESA DEL VACCINO, LA PREVENZIONE PRIMARIA È L'UNICA ARMA DISPONIBILE PER CONTRASTARE LA PESTE SUINA AFRICANA
Feliziani F., Beato M. S., Montagnin C., Iscaro C. ..... p. 51

COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE

MICOPLASMOSI DEL SUINO: STUDIO LONGITUDINALE PER LA RILEVAZIONE *IN VIVO DI MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE E MYCOPLASMA HYORHINIS* ATTRAVERSO UN SISTEMA DI CAMPIONAMENTO NON INVASIVO (*EASY COLLECTION SAMPLING)*
Rinaldi E., Gastaldelli M., Morales A., Prataviera D., Targhetta C., Zanon C., Ustulin M., Vio D., Merenda M. ..... p. 53

PROFILI DI DI SENSIBILITÀ AGLI ANTIMICROBICI IN CEPPI DI *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE E PASTEURELLA MULTICIDA* ISOLATI DA SUINI AFFETTI DA PRDC NEL PERIODO 2021-2024 IN IZSVE
Ustulin M., Tagliente D., Ghiriti A., Cordioli B., Merenda M. , Alessandri G., Cocchi M., Deotto S., Vio D. ..... p. 63

DIFFUSIONE DI ENTEROCOCCHI RESISTENTI AGLI OXAZOLIDINONI IN UN MATTATOIO SUINO ITALIANO SPREAD OF OXAZOLIDINONE-RESISTANT ENTEROCOCCI IN AN ITALIAN PIG SLAUGHTERHOUSE
Massacci F.R., Albini E., Russo E., Nigro M.E., Cucco L., Binucci G., Coccitto S.N., Cinthi M., Giovannetti E., Brenciani A., Magistrali C.F. ..... p. 71

RISULTATI PRELIMINARI SULLO STUDIO DI SIEROPREVALENZA DI SALMONELLA NEL SUINO PESANTE ALL'ETÀ DI MACELLAZIONE PRELIMINARY
Torreggiani C., Pupillo G., D'annunzio G., De LOrenzi G., GuaZZETTI S., Benatti D., Massacci F. R., Paniccià M., Vio D., Luppi A., Ostanello F. ..... p. 84

MONITORAGGIO DELLA DIFFUSIONE DI *BRUCELLA* SPP. NELLE POPOLAZIONI SUINE DOMESTICHE DELLA SARDEGNA MONITORING THE SPREAD OF BRUCELLA SPP. IN DOMESTIC PIG POPULATIONS IN SARDINIA
Coccollone A., Mandas D., Loi F., Sedda P., Brundu D., Piseddu T., Pinna L. ..... p. 92

DETERMINAZIONE DEI LIVELLI PLASMATICI DI PROGESTERONE NELLE SCROFE CHE NON RITORNANO IN ESTRO DOPO LO SVEZZAMENTO E L'EFFETTO DEL TRATTAMENTO CON PGF_2ALFA
Mazzoni C., Tummaruk P., De Rensis F. ..... p. 97

PUNTEGGIATURA AUTOMATICA DELLA POLMONITE DEL SUINO: DALLA TEORIA ALLA PRATICA AUTOMATED SCORING OF PORCINE PNEUMONIA: FROM THEORY TO PRACTICE
Romano A., Marruchella G., Schiroli L., Momeny M., Tiburzi A., D'agostino D., D'alterio R., Capobianco Dondona A.,Del Negro E. ..... p. 107

ABOLIZIONE DELLA GABBIA PARTO E SALUTE DEI SUINETTI: L'AIUTO ARRIVA DALLA PLF?
Puggioni A. ..... p. 116

PESTE SUINA AFRICANA: ANALISI DELLA SITUAZIONE EPIDEMIOLOGICA IN ITALIA
Iscaro C., Di Sabatino D., Cresci M., Cappai S., Sala M., Ruocco L., Sordilli M., Plasmati F., Pacelli F., Feliziani F. ..... p. 129

PESTE SUINA AFRICANA (PSA) NEL NORD ITALIA: MAPPATURA DEGLI HABITAT IDEALI PER IL CINGHIALE E DEI CORRIDOI DI DIFFUSIONE PER PREVEDERE LA DIFFUSIONE DELLA PSA
Faustini G., Soret M., Defossez A., Bosch J., Conte A., Tran A. ..... p. 135

PESTE SUINA AFRICANA E PRODOTTI DI SALUMERIA ITALIANI: VALUTAZIONE DELLA LORO SICUREZZA PER L'EXPORT - RISULTATI PRELIMINARI
Beato M.S., Costantino G., Fulmini A., Pavone S., Montagnin C., Falcitelli G., Merialdi G., Cereser A., Danzetta M.L., Brutti A., Ortenzi R., Valiani A., Casciari C., Catarci P.F., Feliziani F. ..... p. 147

PULIZIA E DISINFEZIONE DEI MEZZI DI TRASPORTO DI SUINI VIVI: ALLA RICERCA DEL PROTOCOLLO OTTIMALE
Perrucci A., Cardana V., Magri A., Zoppi S., Cossettini C., Alessia Rusinà A., Bellato A., Tomassone L., Scollo A. ..... p. 158

POSTER

ENERGIZZARE PER IL SUCCESSO: IL RUOLO VITALE DELL'ACIDO BUTIRRICO COME FONTE DI ENERGIA PER L'ENTEROCITA NELLE PRESTAZIONI POST-SVEZZAMENTO
N'guetta E., Casiro S., Mattuzzi S., Van Hamme V., Costa M.C. ..... p. 169

MIGLIORARE LA GESTIONE DEL MICROBIOTA CON BACILLUS VELEZENSIS PB6 SUPPORTA LE PRESTAZIONI DEI SUINETTI E I RISULTATI ECONOMICI DELLE AZIENDE AGRICOLE
N'guetta E., Casiro S., Mattuzzi S., Van Hamme V. ..... p. 175

FARMACOSENSIBILITÀ DI CEPPI DI *BRACHYSPIRA HYODYSENTERIAE* ISOLATI DA SUINI COMMERCIALI NEI PERIODI 2013-2017 E 2020-2024
Cordioli B., Girotto E. , Guolo A., Merenda M., Ustulin M., Vio D., Cucco L., Magistrali C., Bano L. ..... p. 180

ENFISEMA INTESTINALE DEL SUINO: INDAGINI MORFOLOGICHE INTESTINAL EMPHYSEMA IN PIGS: MORPHOLOGICAL INVESTIGATIONS
Baghini S., Guarnieri C., Sciota D., Romano A., Mara' M., Rosamilia A., Marruchella G. ..... p. 187

VALUTAZIONE DELL'ERUZIONE DELLA DENTIZIONE DECIDUA COME PARAMETRO ANIMAL BASED MEASURE PER LO SVEZZAMENTO NEI SUINETTI
Raineri S., Gazzola A., Tonni M., Arioli E., Santucci V.U., Castelluccio D., Santucci G., Scali F., Lorenzi V., Ossola M., Ventura S., Dilio G., Alborali G.L., Magistrali C.F., Vezzoli F., Maisano A.M. ..... p. 191

CASO CLINICO: EPISODIO DI MORTALITÀ ACUTA PER AVVELENAMENTO IN UNO SVEZZAMENTO
Piersanti F., Lepri E., Manuali E., Ciuti F., Briscolini S., Cucco L., Simoni E., Paniccia' M., Gugliotta A. ..... p. 199

PUNTEGGIATURA DELLE LESIONI CAUDALI DEL SUINO: CONCORDANZA FRA OSSERVATORI AL MACELLO E SU IMMAGINI DIGITALI
Golunova E., Romano A., Luise D., Graziosi M.V., Bernabò N., Pettinella S.D., Capobianco Dondona A., Mara' M., Marruchella G., Trevisi P. ..... p. 203

STUDIO LONGITUDINALE DELLA CIRCOLAZIONE DEI VIRUS DELL'INFLUENZA SUINA IN DUE ALLEVAMENTI SUINI IN ITALIA
Chiapponi C., Prosperi A., Moreno A., Mescoli A., Soliani L., De Mattia A., Torreggiani C., Zanni I., Guadagnini G., Ponzoni D., Pileri E., Luppi A. ..... p. 207

VALUTAZIONE NELLA SCROFA DEI PARAMETRI FISICI DELLA MAMMELLA E DELLE IMMUNOGLOBULINE COLOSTRALI IN UN'AZIENDA AD ELEVATO STATO SANITARIO
Catellani G., Galli MC., Bresciani C., Scollo A., Mazzoni C. ..... p. 217

SOSTENIBILITÀ DI *HERMETIA ILLUCENS* NELLA PRODUZIONE SUINICOLA: LE LARVE POSSONO MIGLIORARE IL BENESSERE DEI SUINETTI DOPO LO SVEZZAMENTO?
Belperio S., Nannoni E., Martelli G., Meneguz M., Sardi L. ..... p. 230

VALUTAZIONE DELL'INTEGRAZIONE DI *ASCOPHYLLUM NODOSUM E LITHOTHAMNIUM CALCAREUM* COME ALGHE FUNZIONALI IN DIETE DI SUINETTI INFETTATI SPERIMENTALMETNE CON *ESCHERICHIA COLI* F4+
Dell'anno M., Frazzini S., Reggi S., Ferri I., Scaglia E., Schiasselloni L., Inglesi A., Riva F., Verdile N., Pasquariello R., Rossi L. ..... p. 238

EPIDEMIOLOGIA E DISTRIBUZIONE DEI PARASSITI GASTROINTESTINALI NEGLI ALLEVAMENTI DA INGRASSO IN NORD ITALIA
Allievi C., Valleri M., Zanzani S.A., Zanon A., Mortarino M., Manfredi M.T. ..... p. 248

PREMIO PIERFILIPPO GUADAGNINI 2025
VINCITORE

I MEZZI DI TRASPORTO ANIMALE QUALE FATTORE DI RISCHIO NELLA DIFFUSIONE DI PATOGENI DELL'ALLEVAMENTO SUINO
Masserdotti M. ..... p. 258

PREMIO CASIMIRO TAROCCO 2025
VINCITORE

VALUTAZIONE DEI CONSUMI, DEI COSTI ALIMENTARI E DELL'USO PONDERATO DELL'ANTIBIOTICO NELLO SVEZZAMENTO IN RELAZIONE AL PESO INIZIALE DEL SUINO
Favaro D., Contiero B., Gottardo F., Tonon F. ..... p. 275

PREMIO FORMAZIONE PROFESSIONALE ITALIA 2024

ULCERE SCAPOLARI: NUOVE STRATEGIE
Arosio V. ..... p. 284

IMPATTO DELLE STRUTTURE PARTO SWAP (SOW WELFARE AND PIGLET PROTECTION PEN) SUI SUINI SVEZZATI: ACCRESCIMENTO E MORSICATURA DELLE CODE
Moscon, E., Favaro, D., Contiero B., Gottardo, F., Tonon, F. ..... p. 295

PREMIO FORMAZIONE PROFESSIONALE ESTERO 2024

RICONOSCIMENTO MORFOLOGICO E CARATTERIZZAZIONE MEDIANTE METODICHE MOLECOLARI DEL PROTOZOO *BALANTIOIDES COLI* IN SUINI DA INGRASSO ALLEVATI IN NORD ITALIA
Allievi C., Ponce-Gordo F., Villa L., Zanon A., Valleri M., Zanzani S.a., Mortarino M. Manfredi M.T. ..... p. 303

Materiale riservato al Medico Veterinario e all'Allevatore Professionista. Se sei un allevatore professionista chiedi informazioni al Medico Veterinario.

Boehringer Ingelheim

Il suo benessere è nelle tue mani

INGELVAC CIRCOFLEX®

INGELVAC MYCOFLEX®

INGELVAC PRRSFLEX® EU

REPROCYC® PRRS EU

REPROCYC® PARVOFLEX

ENTERICOLIX®

ENTERISOL® ILEITIS

Boehringer Ingelheim Animal Health Italia S.p.A. www.boehringer-ingelheim.it - Tel: 0253551

bio98

Biosuis Rokoclos

Biosuis Salm

Biosuis Mhyo

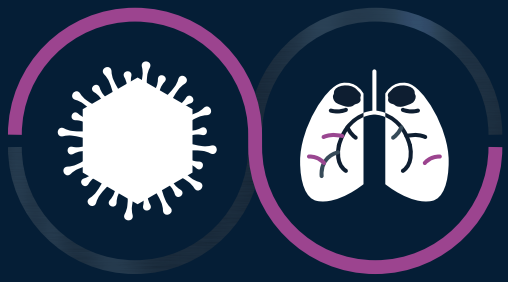
Parvoerysin

Allevare è un capolavoro
difendiamolo insieme

Bio98 srl
Viale E.Forlanini 15 20134 Milano
Tel 02 6428299 Mail info@bio98.it

Immagine elaborata con AI per bio98

Prevenzione di PCV2 & M Hyo



Quando qualcosa non esiste, la inventi!

Formulazione RTU

Unica

CIRBLOC® M Hyo

- Protezione rapida e di lunga durata, ideale verso PCV2 *e M.hyopmeumoniae*: 23 settimane post-vaccinazione
- Protezione nei confronti dei principali genotipi di PCV2
- Formulazione basata su Hyogen®

Messaggio riservato a Medici Veterinari, Farmacisti e Allevatori professionisti. Per gli Allevatori professionisti: chiedi consiglio al tuo Medico Veterinario.

Ceva Salute Animale S.p.A.
Via dei Valtorta 48 - 20127 Milano | e-mail: marketing.italy@ceva.com | **www.ceva-italia.it**

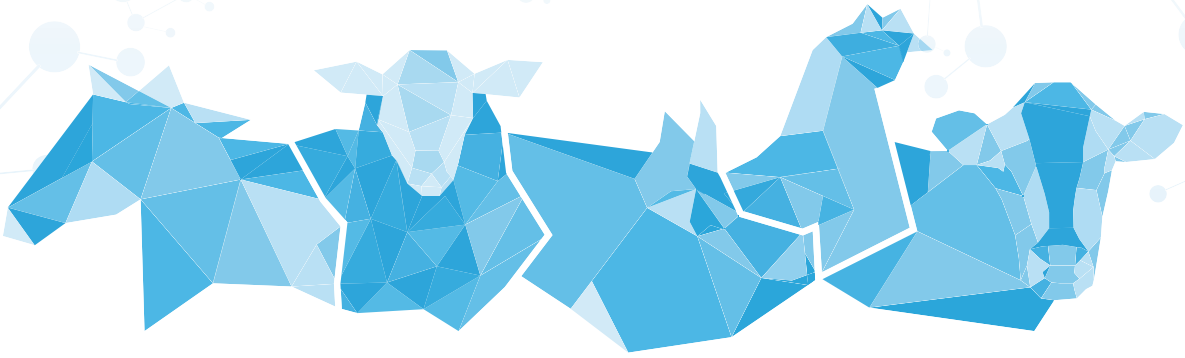
chemifarma®

LI HAI MAI VISTI COSÌ CALMI?

Per maggiori informazioni sui MEDICINALI VETERINARI contattaci:
tel. **0543 796464** - e-mail: info@chemifarma.it

info@matrixdigital.it

Dopharma
Italia



The smart choice for healthy livestock

IL NOSTRO IMPEGNO

Ci prefiggiamo di creare soluzioni innovative e prodotti efficaci e di alta qualità. Siamo parte di Animal Health Europe e crediamo che salute degli animali, dell'uomo e dell'ambiente siano intimamente connesse. Sosteniamo appieno i principi di One Health, promuovendo un uso responsabile degli antibiotici anche attraverso terapie di supporto, vaccini e l'uso razionale degli antimicrobici stessi per massimizzarne e preservarne l'efficacia.

info@dopharma.it • www.dopharma.it

Dopharma Italia srl - Firenze - tel, 348 9372724 - servizioclienti@dopharma.it

Libera il potenziale **dei tuoi suini**

Ottimizzare l'aumento muscolare, l'immunità e la salute delle ossa è ancora più difficile oggi per i suini da ingrasso, quando la redditività, il benessere e la sostenibilità sono le principali preoccupazioni. Libera il potenziale dei tuoi maiali con la nutrizione precisa. Il nostro concetto di nutrizione adattiva di soluzioni e servizi garantisce che i tuoi animali da ingrasso massimizzino l'aumento di carne magra senza compromettere la competenza immunitaria o la salute delle ossa. Presso dsm-firmenich, siamo il tuo partner nel progresso, fornendo informazioni specifiche e pertinenti che permettono decisioni più informate per il miglior risultato economico per te e il tuo allevamento.

EFFICIENZA DEI SUINI

COMPETENZA IMMUNITARIA

SALUTE SCHELETRICA

Scopri di più su
dsm-firmenich.com/anh

dsm-firmenich

LA DIARREA POST SVEZZAMENTO PUÒ ESSERE UN ROMPICAPO.

METTIAMO INSIEME TUTTI I PEZZI!

COLIPROTEC™ F4 F18
PER UN FUTURO PIÙ SOSTENIBILE

OTTIMIZZA L'APPROCCIO MULTIFATTORIALE ALLA DIARREA POST SVEZZAMENTO DA *E. COLI* ETEC E MASSIMIZZA I RISULTATI PER IL TUO ALLEVAMENTO.

PROTEGGI I TUOI SUINETTI IN MODO SOSTENIBILE CON COLIPROTEC® F4/F18,
L'UNICO VACCINO VIVO ORALE CONTRO LA DIARREA POST-SVEZZAMENTO DA *E. COLI* ETEC.

DISPONIBILE NELLA CONFEZIONE DA 4X50 DOSI

E NELLA NUOVA CONFEZIONE DA 200 DOSI

COLIPROTEC™ F4 F18
PER UN FUTURO PIÙ SOSTENIBILE

Coliprotec® F4/F18: *E. coli* O8:K87 (F4ac) vivo non patogeno non attenuato, *E. coli* O141: K94 (F18ac) vivo non patogeno non attenuato, è un vaccino per l'immunizzazione attiva dei suini nei confronti di *E. coli F4- e F18-ETEC.* Per le informazioni complete sul prodotto consultare il foglio illustrativo presso: https://www.prontuarioveterinario.it

Materiale riservato ai Medici Veterinari e agli Allevatori Professionisti.

Consultare il proprio Medico Veterinario per le indicazioni sulla prescrizione e l'uso corretto del prodotto.

Elanco

Coliprotec®, Elanco e la barra diagonale sono marchi registrati di Elanco o sue affiliate.
©2024 Elanco. PM-IT-24-0203

Elanco Italia S.p.A.
Via dei Colatori 12,
50019 Sesto Fiorentino (FI)

Non farti ingannare dalle apparenze

Spesso le sintomatologie della **POLMONITE ENZOOTICA** e della **PLEUROPOLMONITE** non sono molto evidenti, nascondendo la gravità delle lesioni e dei danni economici che le due malattie provocano.

Le vaccinazioni con **MYCO-SUIVAX®** e **PLEURO-SUIVAX®** migliorano lo stato di salute degli animali e il risultato economico dell'allevamento.

MYCO-SUIVAX®

Vaccino inattivato contro la **POLMONITE ENZOOTICA** dei suini

Elevata tollerabilità locale e generale

Duplice dosaggio a seconda del programma vaccinale prescelto (one-shot o two-shot)

PLEURO-SUIVAX®

Vaccino inattivato contro la **PLEUROPOLMONITE** dei suini

Facilità di somministrazione

Assenza di stress vaccinale

Efficacia contro i sierotipi maggiormente presenti in Italia

PER L'USO CONSULTARE IL MEDICO VETERINARIO

ONE HEALTH
ECO HEALTH

FATRO - Industria Farmaceutica Veterinaria - 40064 Ozzano dell'Emilia (BO)
Tel. 051 6512711 - www.fatro.it - info@fatro.it

LA SALUTE ANIMALE PER LA SALUTE DELL'UOMO
FATRO

PREFAZIONE

Cari colleghi,

è con vivo piacere che vi do il benvenuto, a nome di tutto il Consiglio Direttivo, al 50° Meeting Annuale della SIPAS, un appuntamento che rappresenta ormai un momento fondamentale per chi opera nel settore della suinicoltura, offrendo un'importante occasione di confronto e di aggiornamento sulle più recenti acquisizioni in ambito di patologia e gestione dell'allevamento suino. Anche quest'anno la pubblicazione del volume degli atti segna un traguardo per la nostra Società e costituisce la testimonianza, con i testi delle relazioni tenute dagli speakers invitati e delle comunicazioni scientifiche dei Soci, dell'attività scientifica e formativa svolta dalla SIPAS. Il volume degli atti, che contiene anche i contributi inviati dai colleghi partecipanti ai premi intitolati al Dr. Guadagnini e al Dr. Tarocco, diventa inoltre la manifestazione della promozione della ricerca scientifica, che attraverso le iniziative poc'anzi richiamate, viene incentivata dalla Società. Ricerca, formazione degli operatori, crescita professionale di giovani colleghi sono tutte attività che la SIPAS, come Società Scientifica ha sostenuto da molti anni a questa parte, sviluppando tutti gli sforzi necessari per mantenere alto il livello delle attività formative rivolte ai soci.

Ritornando al volume degli atti SIPAS, si auspica che questo possa mantenersi come strumento di consultazione per operatori e ricercatori del settore. Per questo motivo il volume degli atti è rimasto anche quest'anno in un formato che possa permettere al lettore di acquisire, in modo completo, tutte le informazioni relative ai contenuti presentati. Il numero dei contributi ricevuti in occasione del Meeting Annuale 2025 è più che soddisfacente e questo dato, indiscutibilmente positivo, impone un vivo ringraziamento a tutti coloro che hanno profuso il loro impegno. I lavori presentati riguardano temi di sanità, alimentazione, genetica, tecniche di allevamento, biosicurezza e questo se da una parte evidenzia le numerose competenze che caratterizzano i Soci, dall'altra descrivono la necessità di specializzazione per chi opera in questo settore.

Curiosando tra le prefazioni degli atti delle edizioni precedenti mi ha colpito rileggere quanto riportava nel 2008 l'allora Presidente della Società, Prof. Paolo Martelli, relativamente all'importanza dei giovani, al loro entusiasmo e alle difficoltà nell'affrontare la quotidianità, auspicando ad un'assunzione di responsabilità verso questa generazione da parte della SIPAS. Credo che i concetti poc'anzi riportati siano ancora estremamente attuali e che in questi anni molte delle iniziative della Società siano andate in questa direzione, dedicando ai giovani interesse e strumenti atti a favorire la loro formazione per un inserimento professionale qualificato. Tutto questo nella convinzione che, solo attraverso la formazione e la crescita di nuovi professionisti il settore suinicolo potrà affrontare le sfide che si presenteranno nel prossimo futuro.

Desidero, a nome del Consiglio, ringraziare le Aziende sponsor della SIPAS per il 2025, il cui sostegno protratto nel tempo è allo stesso tempo garanzia di continuità per la Società e testimonianza di reciproca soddisfazione per le attività svolte.

Ai Relatori di questo e dei prossimi eventi programmati per il 2025 va la riconoscenza ed il ringraziamento della Società tutta, per la disponibilità mostrata e per la qualità delle informazioni che certamente saranno in grado di proporre.

Ai colleghi ed amici del Consiglio Direttivo, che in questi ultimi sei anni hanno contribuito alla guida della Società e alla Segreteria Delegata, MV Congressi, un caloroso ringraziamento da parte mia per il prezioso lavoro svolto.

A tutti Voi, cari Soci, l'augurio di un magnifico Meeting 2025 e di una proficua lettura di questo volume.

Reggio Emilia, 17 marzo 2025

Il Presidente
Andrea Luppi

ATTI DELLA GIORNATA DI STUDIO

GLI INVESTIMENTI INDISPENSABILI: GESTIONE E COMUNICAZIONE

Parma, 11 Ottobre 2024

COMUNICARE IL RISCHIO IN SANITÀ ANIMALE: STRATEGIE E METODI PER IL COINVOLGIMENTO DEGLI STAKEHOLDER

CROVATO S.

Osservatorio, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD)

Con il termine "comunicazione del rischio" si intende lo scambio in tempo reale di informazioni, consigli e opinioni tra esperti e le persone a rischio. In tempo di pace, e ancora di più durante le emergenze sanitarie, lo scambio di informazioni può avvenire tra persone esperte, caratterizzate da expertise specifiche, (*stakeholder*) e persone non esperte (*lay people*) che si distinguono per livelli di conoscenza e per l'utilizzo di linguaggi spesso molto differenti tra loro. Oggi la definizione di esperto non dipende solo dal possesso di una conoscenza particolare ma anche dalla capacità di utilizzare tale conoscenza per divulgare utili informazioni e comunicazioni ai non esperti. Gli esperti entrano così a pieno titolo nel processo di costruzione della comunicazione del rischio e in particolare sono coinvolti nell'identificazione di argomenti prioritari verso cui rivolgere la comunicazione (*cosa comunicare*), di target sensibili (*a chi comunicare*) e di strategie di comunicazione che tengano in considerazione il punto di vista degli attori coinvolti (*come comunicare*). Le scienze sociali contribuiscono attivamente a fornire strumenti e metodi per identificare le strategie comunicative maggiormente idonee sottolineando l'importanza di tre elementi chiave: la percezione del rischio dei target coinvolti; l'esistenza di tipologie di comunicazione del rischio differenti da utilizzare a seconda del contesto e dell'obiettivo (*care, consensus e crisis communication*); l'utilizzo di strategie specifiche per il coinvolgimento di stakeholder nella costruzione della comunicazione. In sanità animale sono molte le figure esperte coinvolte nel processo di gestione delle malattie e dei rischi ad esse connesse. Un caso studio rilevante è legato l'arrivo della Peste Suina Africana in alcune regioni d'Italia che ha evidenziato l'esigenza di comunicare il rischio a vari livelli in maniera rapida ed efficace, nell'ottica di prevenire il diffondersi della malattia. Il progetto di ricerca "PSA-PRINCE", realizzato dell'IZSVe, è un esempio che mette in luce l'importanza di un coinvolgimento attivo di diversi stakeholder (allevatori, cacciatori, servizi di vigilanza, veterinari e amministratori pubblici ecc.) per fornire una risposta mirata e coordinata sulla prevenzione e gestione della malattia nei territori ancora indenni. A partire da uno studio sociale su percezioni, comportamenti e gap conoscitivi degli stakeholder, il progetto ha permesso di creare e mettere a disposizione un documento operativo contenente azioni condivise di prevenzione e comunicazione, a tutela della salute animale e della filiera suinicola, in linea con quanto previsto dalla normativa e alle criticità e richieste degli stakeholder. Il documento "Strategie di prevenzione, controllo e comunicazione della Peste Suina Africana in Veneto e Friuli Venezia Giulia" (disponibile online sul sito IZSVe: https://www.izsvenezie.it/convegno-strategie-psa-veneto-friuli/) è stato quindi realizzato e diffuso sul territorio grazie alla collaborazione e interazione con le diverse figure coinvolte.

La comunicazione del rischio non è da considerare un'attività che si limitata solo a interventi strutturati ad ampio raggio che coinvolgono esperti di istituzioni sanitarie o pubbliche amministrazioni (livello macro), può essere richiesta e attuata anche durante interazioni mirate e interpersonali (livello micro) che un esperto di un determinato settore può avere durante il proprio lavoro quotidiano. Medici veterinari si trovano spesso ad interagire durante i sopralluoghi con allevatori, produttori, e a loro volta allevatori e produttori sono chiamati a comunicare il rischio, ad esempio, agli operatori che lavorano negli allevamenti,

ai trasportatori ma anche ai consumatori. Anche in questi casi è possibile metter in campo strategie comunicative in grado di raggiungere il target con cui si sta interagendo e favorire una comunicazione del rischio mirata come, ad esempio, valutare le informazioni di cui l'audience è già in possesso e le specifiche necessità informative; selezionare i concetti chiave da comunicare e puntare a una semplicità espositiva (il messaggio deve risultare comprensibile); fornire input che permettano di orientare concretamente i comportamenti del target (indicazioni pratiche e operative); dare prima informazioni fondamentali e in seguito eventuali dettagli; essere onesti circa eventuali limiti e criticità legati al fenomeno oggetto della comunicazione, senza utilizzare toni allarmistici. Infine è bene ricordare che per favorire una comunicazione efficace è importante instaurare una relazione di fiducia con il proprio interlocutore tenendo sempre in considerazione l'importanza dell'ascolto attivo, dell'empatia e di una comunicazione rispettosa soprattutto di fronte a questioni problematiche e di difficile gestione.

RIDURRE L'USO DEGLI ANTIBIOTICI NEGLI ALLEVAMENTI DI SUINI UTILIZZANDO IL MODELLO DI GESTIONE DEL CAMBIAMENTO ADKAR

HUBEN M.

Best Star Meat Pork - Paesi Bassi

La gestione responsabile degli antimicrobici nella pratica veterinaria e nella produzione animale è fondamentale dal punto di vista della One Health. Il modello di gestione del cambiamento ADKAR® è una strategia ben nota per implementare cambiamenti comportamentali nelle persone e nelle piccole imprese. Questo modello è semplice da comprendere e può essere facilmente applicato nella gestione della salute dei suini dal veterinario, aiutando l'allevatore a ridurre l'uso di antibiotici nella sua azienda.

Numerosi studi hanno ampiamente dimostrato che la riduzione degli antibiotici è possibile, e che gli interventi dovrebbero concentrarsi su diversi aspetti, tra cui: il miglioramento della biosicurezza, l'implementazione di vaccinazioni, la qualità dell'acqua, una migliore cura dei suini, un ambiente climatico adeguato, la riduzione dello stress e la qualità dell'alimentazione.

Perché allora i veterinari suini non sempre riescono a ridurre l'uso degli antibiotici? O meglio, perché gli allevatori non applicano sempre le raccomandazioni e le indicazioni fornite dai veterinari? La risposta è che gli allevatori non sono sempre disposti ad accettare i consigli ricevuti, e quindi anche il miglior suggerimento non verrà messo in pratica. Come può quindi il modello di gestione del cambiamento ADKAR aiutare il veterinario ad avere più successo?

Il modello ADKAR è un acronimo che sta per: Awareness (Consapevolezza), Desire (Desiderio), Knowledge (Conoscenza), Ability (Capacità), Reinforcement (Rinforzo). Per ottenere un cambiamento comportamentale, tutti e cinque gli elementi del modello ADKAR devono essere affrontati adeguatamente e nella giusta sequenza (Hiatt, 2006). La scala di valutazione di Hiatt è stata adottata per analizzare l'atteggiamento degli allevatori nei confronti dell'uso responsabile degli antibiotici negli allevamenti di suini. In questa scala, 1 rappresenta il punteggio più basso e 5 quello più alto. Il profilo ADKAR di un allevatore è determinato dal punteggio ottenuto in ciascun elemento. Secondo Hiatt (2006), qualsiasi elemento con un punteggio di 3 o inferiore rappresenta un ostacolo al cambiamento (Houben et al., 2020).

Di conseguenza, solo gli allevatori che sono consapevoli della necessità di cambiare e disposti a farlo saranno aperti alle indicazioni dei loro veterinari. Dunque, se non si riesce a implementare un cambiamento in un allevamento, non bisogna dubitare della qualità della consulenza veterinaria, ma piuttosto concentrarsi sulla sociologia del cambiamento. È possibile modificare la consapevolezza (A di Awareness) o il desiderio di cambiare (D di Desire)?

Per questi punti, si consiglia di utilizzare il modello RESET (Lam et al., 2017), che identifica i diversi motivi per cui un allevatore potrebbe essere spinto a cambiare. RESET sta per: Rules (Regole), Education (Educazione), Social pressure (Pressione sociale), Economics (Fattori economici), Tools (Strumenti). Diversi allevatori saranno sensibili alle diverse strategie d'intervento descritte nel modello RESET.

Solo con l'esperienza pratica i veterinari potranno applicare perfettamente entrambi i modelli per favorire la riduzione degli antibiotici negli allevamenti di suini.

IL CONSUMO E LA STEWARDSHIP DELL'ANTIBIOTICO NEL SUINO ALL'INGRASSO: STATO DELL'ARTE AL 2024

SANTUCCI G.

Attraverso l'utilizzo del sistema ClassyFarm e l'interpretazione dei dati forniti è possibile monitore ed avere informazioni utili sulla gestione del rischio legato all'uso di antimicrobici. In questo documento vengono principalmente trattati lo stato dell'arte relativo al consumo di antibiotici e alla stewardship (gestione responsabile) nel settore suinicolo italiano, nello specifico nell'ingrasso

Calcolo e Indicatori del Consumo
La formula generale misura del rischio di esposizione agli antimicrobici dei capi allevati in una data azienda (o area geografica).

$$\sum_{i=1}^{n} \frac{\text{quantità di } PA_i \text{ (mg) consumato nel periodo}}{DDDAit_i \text{ (mg/kg/giorno)} \times \text{ animali (n)} \times \text{peso standard (kg)}}$$

L'indicatore DDDAit suddivisa per le **categorie** presenti in allevamento può essere utilizzato le stewardship (riduzione mirata) del consumo di antibiotici. Mentre nel caso delle DDDAit espresse come **biomassa** il consumo viene calcolato rapportando tutte le DDD somministrate nell'allevamento con l'intero peso vivo presente nello stesso (appunto la biomassa). Questo indicatore, pensato principalmente per indirizzare i controlli di farmacosorveglianza e per l'erogazione dei contributi PAC, è in grado di fornire una stima dei consumi a livello di allevamento.

ClassyFarm come Strumento di Monitoraggio e Gestione
La piattaforma ClassyFarm elabora i dati che riceve attraverso meccanismi di interoperabilità con altri sistemi informatici come, ad esempio, l'Anagrafe Zootecnica (BDN), la Ricetta Veterinaria Elettronica ed i laboratori di diagnostica degli IIZZSS. Le informazioni raccolte attraverso valutazioni sul campo possono provenire dai controlli ufficiali svolti dalle Autorità Competenti, dagli audit dei certificatori oppure da veterinari liberi professionisti, come il veterinario aziendale, opportunamente formati per svolgere le attività di autocontrollo.
Tutti i dati presenti in ClassyFarm sono visualizzabili attraverso dei Cruscotti interattivi e report scaricabili.
ClassyFarm offre diverse funzionalità, tra cui la possibilità di confrontare le DDDAit degli allevamenti con mediana e media pesata dei consumi. La mediana è il valore che divide il 50% degli allevamenti in base ai consumi e permette di stabilire il ranking degli allevamenti con quartili e percentili, tuttavia, utilizzando questo tipo di statistica gli allevamenti assumo lo stesso "peso" a prescindere dalle dimensioni.

Dati presenti
Attualmente sono presenti in ClassyFarm i dati relativi a 7212 allevamenti suini registrati come ingrasso per un totale di 5.309.989 animali. Un dato significativo è che il 37,4% degli allevamenti (con più di 300 capi) rappresenta il 98% del numero totale di capi (5.179.742).

Consumo stratificato
All'interno del sistema sono visualizzabili grafici che rappresentano un'analisi stratificata del consumo di diverse classi di antibiotici come Amminopenicilline, Tetracicline, Lincosamidi, Pleuromutiline, Macrolidi.

- Il 50% dei consumi di Amminopenicilline è imputabile a 208 allevamenti ossia il 2,9% degli allevamenti totali, pertanto, il 50% dei consumi è imputabile a 21,4% degli animali.
- Il 50% dei consumi di Lincosamidi è imputabile a 120 allevamenti ossia l'1,7% degli allevamenti totali, pertanto, il 50% dei consumi è imputabile a 11,8% degli animali.
- Il 50% dei consumi di Pleuromutiline è imputabile a 99 allevamenti ossia l'1,4% degli allevamenti totali, pertanto, il 50% dei consumi è imputabile a 7,3% degli animali.
- Il 50% dei consumi di Macrolidi è imputabile a 43 allevamenti ossia l'0,6% degli allevamenti totali, pertanto, il 50% dei consumi è imputabile a 4,3% degli animali.

Simili percentuali sono riportate per le altre classi di antibiotici, indicando che una piccola percentuale di allevamenti contribuisce maggiormente al consumo totale di antimicrobici.

Obiettivi della Misurazione e Riduzione dei Consumi
Obbligo di adempimento del Reg. CE 2019/6 relativo ai medicinali veterinari
Il regolamento CE 2019/6 obbliga gli Stati membri a raccogliere dati sul volume delle vendite e sull'impiego dei medicinali antimicrobici negli animali a livello di allevamento. Inoltre, prevede dal 28 gennaio 2022 vengano raccolti dati almeno per le specie e categorie incluse nella decisione di esecuzione 2013/652/UE della commissione:

- Entro due anni dovranno essere inclusi: bovini, bovini di età inferiore ad un anno, suini, polli/galline (Gallus gallus) e tacchini;
- Entro cinque anni dovranno essere inclusi: anatre, oche, pecore, capre, pesci, cavalli (compresi i non DPA), conigli (solo DAP) e altre specie DPA;
- Entro otto anni dovranno essere inclusi: cani, gatti, visoni, volpi e altri.

Ridurre spese legate a utilizzo farmaci
La situazione in Italia nel settore suino ingrasso evidenzia un consumo modesto di antimicrobici critici, utilizzo di colistina quasi abbandonato. Tuttavia, il consumo totale è elevato e spesso vengono effettuati trattamenti di massa.

Utilizzo consumi DDD per categorizzazione del rischio al fine di ottimizzare i controlli ufficiali
Per la categorizzazione del rischio, al fine di ottimizzare i controlli ufficiali previsti vengono utilizzati gli indicatori di consumo espressi in DDD (Defined Daily Dose) di antimicrobici totali e antimicrobici ritenuti di importanza critica per l'uomo.

Prevenire insorgenza di AMR in ottica di sanità pubblica
In Europa 33000 decessi all'anno sono attribuibili a infezioni da batteri resistenti agli antibiotici. Per fornire uno strumento che consenta di visualizzare i campioni processati dagli Istituti di riferimento, con indicazione dei patogeni riscontrati e la sensibilità ai principi attivi è stato implementato il cruscotto Stewardship ed appropriatezza diagnostica.

Strumento chiave nella distribuzione della PAC (Politica Agricola Comune)
Uno dei criteri utilizzati per l'attribuzione dei contributi previsti dalla PAC è la riduzione del consumo degli antimicrobici.
Nel 2023, per poter accedere ai contributi previsti dalla PAC era necessario che l'allevamento fosse sotto la mediana di riferimento (Q1 e Q2) per i consumi di antimicrobici espressi in

DDD. Oppure l'allevamento che, pur essendo classificati sopra la mediana (Q3 e Q4) doveva ridurre i consumi del 10% rispetto al 2022.
Nel 2024 i criteri sono leggermente diversi, infatti per poter accedere ai contributi gli allevamenti devono avere un valore espresso in DDD al di sotto di soglie specifiche per categoria produttiva (9 per allevamenti di suini con orientamento produttivo ingrasso) o ridurre i consumi del 10% rispetto al 2022. Le soglie sono riportate nel *Decreto ministeriale prot. n. 353015 del 2 agosto 2024 - Adeguamento delle percentuali di riduzione e/o della baseline dall'eco-schema 1*
Con riferimento specifico agli allevamenti di suini da ingrasso le UBA premiabili sono calcolate considerando i suini macellati nel corso dell'anno di domanda come riportato nel *Decreto del 23 dicembre 2022 Disposizioni nazionali di applicazione del regolamento (UE) 2021/2115 del Parlamento europeo e del Consiglio del 2 dicembre 2021, per quanto concerne i pagamenti diretti.*

CEPPI DI PRRS AD ALTA VIRULENZA: IMPATTO ECONOMICO E PROSPETTIVE DI CONTROLLO

ILLAS F.

Batallé Group, Spagna

È universalmente noto che la PRRS è una patologia suina causa di perdite economiche di milioni di euro. Fortunatamente, fino a 11 anni fa, la presenza di ceppi ad alta virulenza in Europa era episodica. Dal 2014 in Italia, e dal 2020 in Spagna, questi ceppi di PRRS diffondono apparentemente senza alcuna prospettiva di controllo.

L'elevata mortalità negli allevamenti e la riduzione del numero di suini sul mercato hanno fatto sì che il prezzo della carne suina garantisse margini di profitto alla maggior parte dei produttori spagnoli, indipendentemente dalla qualità del loro lavoro. "C'è denaro per tutti" e questa situazione ha ucciso professionalità e spinta al miglioramento: quando i soldi sono in tasca, non c'è alcuna pressione per fare meglio.

Dopo due anni di applicazione delle stesse strategie di controllo di una PRRS "normale" contro ceppi ad alta virulenza, senza alcun successo, il gruppo Batallé ha deciso di cambiare completamente sistema, progettando un modello di allevamento basato su All In/All Out in tutte le sue aziende. Il sistema scelto è stato la gestione a bande penta-settimanali (5WBMS), con una riduzione del numero di gruppi di scrofe nelle aziende da 21 a 4. I gruppi di scrofe erano però quasi 5 volte più grandi, così come il numero di parti nello stesso momento, i gruppi di svezzamento, ecc… un cambiamento radicale che ha richiesto organizzazione e sincronizzazione. È stato deciso di unire i team di operai tra le diverse aziende, consapevoli delle difficoltà iniziali nel mescolare le squadre, ma convinti che questa scelta avrebbe favorito il lavoro di squadra in futuro. Tre anni dopo, i nostri allevatori non si sentono più coinvolti solo nei risultati della loro azienda, ma anche in quelli dell'intero gruppo.

Quando gli allevamenti adottano il 5WBMS, il virus PRRS viene eliminato in circa 6-8 mesi. Ovviamente, il sistema non impedisce una nuova infezione, ma consente di svezzare suini negativi alla PRRS, un obiettivo quasi impossibile con i flussi continui. Secondo la nostra esperienza, se l'obiettivo è rendere negativa un'azienda di scrofe, è essenziale bloccare l'introduzione di scrofette fino al raggiungimento di questo risultato. Nei reparti di svezzamento, questo porta a un miglioramento progressivo: Prima fase: suinetti positivi da allevamenti 5WBMS; Seconda fase: suinetti negativi da lotti 5WBMS; Terza fase: suinetti negativi da lotti 5WBMS, senza nidiate da scrofe di primo parto. È proprio in questa terza fase che si osservano le massime prestazioni in termini di sanità, mortalità e riduzione dell'uso di antibiotici. Non è raro concludere i cicli con una mortalità inferiore allo 0,5%, un tasso 5-6 volte inferiore rispetto ai lotti negativi che includono nidiate da scrofe primipare.

Questa osservazione ci ha spinto a esplorare nuovi modelli di produzione, in cui il sistema All In/All Out potesse essere applicato anche alle aziende di scrofe. È possibile immaginare un allevamento in cui tutte le scrofe di uno stesso lotto siano nate nella stessa settimana, abbiano vissuto nella stessa azienda, mangiato lo stesso mangime, bevuto la stessa acqua e siano state esposte alle stesse sfide sanitarie? Probabilmente è il sistema più vicino a un "copia e incolla sanitario" che oggi gli allevatori possono adottare. Acclimatamento delle scrofette è solo una parola, non una pratica realmente attuabile. Eliminare l'introduzione di scrofette può essere una scelta vantaggiosa per la salute animale. Il concetto non è nuovo, è solo una copia economica di ciò che i nostri colleghi del settore avicolo fanno da anni.

Nessuna sfida, nessun cambiamento!

ERADICAZIONE DELLE MALATTIE - QUAL È IL SUO VALORE?

KOENDERS K.

Lintjeshof Veterinary Practice, Paesi Bassi

INTRODUZIONE

Questo lavoro tratta dell'eradicazione delle malattie negli allevamenti suinicoli, con particolare attenzione alle malattie batteriche. Nei Paesi Bassi questa pratica non è ancora molto diffusa, ma ci sono alcuni allevamenti che l'hanno applicata, con esito positivo. Verranno qui descritti due di questi casi pratici.

Come veterinari, affrontiamo quotidianamente la gestione delle malattie negli allevamenti. Tuttavia, una volta che un veterinario e un allevatore vedono i risultati che si possono ottenere con animali ad elevato stato sanitario, si apre un orizzonte del tutto nuovo.

I due esempi di cui tratteremo sono stati implementati in un'area ad elevata densità suinicola nei Paesi Bassi. Alcune informazioni riguardanti il contesto della produzione suinicola nei Paesi Bassi. Fino a poco tempo fa, era presente circa 1 milione di scrofe, questo numero sta diminuendo rapidamente a causa delle politiche governative mirate alla riduzione dell'azoto. Gli allevamenti situati in determinate aree ricevono offerte economiche dal governo per cessare l'attività, e se l'allevatore accetta, l'allevamento viene chiuso e demolito, senza possibilità di allevare nuovamente animali in futuro. L'alta densità suinicola ha implicazioni sulla gestione ed eradicazione delle malattie, poiché il rischio di reintroduzione dei patogeni è elevato. Oltre alla produzione per la macellazione interna, i Paesi Bassi esportano un gran numero di suini in diversi paesi, tra cui Spagna (dove la domanda è aumentata a causa del PRRSV ceppo Rosalia), Polonia e altri stati. Da oltre un decennio, il settore zootecnico lavora attivamente per ridurre l'uso di antibiotici. Tra il 2009 e il 2024, l'uso di antibiotici è stato ridotto di oltre il 70%, pur mantenendo lo stesso peso vivo totale degli animali. Questo processo non è stato semplice, ma ha avuto successo grazie alla creazione della autorità indipendente Veterinary Medicine Authority (SDA) e all'implementazione di un sistema di qualità privato per i veterinari. Tutte le prescrizioni di antibiotici per i suini devono essere registrate nel sistema entro due settimane e vengono monitorati i consumi per categoria (scrofe e lattonzoli, svezzati, ingrasso e scrofette). Questo sistema ha permesso di stabilire benchmark e soglie target, implementate attraverso piani di riduzione personalizzati per ogni allevamento.

Caso 1: Depop-repop per APP e PRRS

La strategia depop-repop nei Paesi Bassi viene utilizzata soprattutto per l'eradicazione di *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP).

L'allevamento oggetto di questo caso è un'azienda a ciclo aperto con vendita di suini a 25 kg e auto-produzione delle scrofette. Inizialmente l'azienda contava 400 scrofe, successivamente portate a 800 e poi a 1200. Con l'espansione e l'acquisto di scrofe da fonti diverse, sono emersi problemi sanitari, principalmente APP e PRRS. PRRS ha influito negativamente sulla produzione nel sito 1. APP ha aumentato la mortalità negli svezzati e nei grassi, con gravi lesioni polmonari. Visto l'orientamento all'export dell'azienda, APP ha causato anche problemi con i clienti, a causa della mortalità acuta e della riduzione delle performance all'ingrasso.

Dopo attente valutazioni, nel 2021 l'allevatore ha deciso di procedere con un depop-repop. È stato formato un team di consulenti composto da: veterinario, autorità sanitaria locale, azienda genetica, consulente finanziario e nutrizionista. Il piano ha incluso miglioramenti nella biosicurezza esterna.

Procedura:
• Per 8 settimane non ci sono state nascite di suinetti
• Gli ultimi tre gruppi di suinetti sono stati venduti al momento dello svezzamento
• L'allevamento è rimasto completamente vuoto per 2 settimane, durante le quali è stato pulito e disinfettato
• Sono state introdotte nuove scrofette SPF, esenti da APP, Mycoplasma e PRRS, (arrivate e fecondate in una struttura separata di quarantena).
Per i successivi due anni, l'allevamento è rimasto SPF. Tuttavia, all'inizio del 2024 è stato introdotto un ceppo di PRRS di campo, con impatto clinico limitato (solo alcuni aborti). Il virus è stato rilevato nei feti abortiti, portando all'introduzione di un programma vaccinale con vaccino inattivato, successivamente sostituito con vaccino vivo attenuato (MLV).

Benefici ottenuti dall'applicazione del depop-repop:
- Aumento della produzione: +1,5-2 suinetti/scrofa/anno
- Mortalità ridotta: eliminati APP, *Streptococcus suis* e altre problematiche
- Miglioramenti nella commercializzazione dei suini: niente più reclami da parte degli acquirenti
- Maggiore incremento giornaliero: i suini raggiungono il peso da macello con una settimana di anticipo.

Costi e ROI:
- Costo delle scrofette SPF confrontato ai benefit di scrofe da macello: 1300 x 225 €
- Costi delle operazioni di pulizia/disinfezione circa 25.000 €
- Perdita di produzione per 8 settimane senza produzione di suinetti e minor pagamento lattonzoli circa 135.000 €
- Costo per affitto sede aggiuntiva circa 337.500 €

Costo totale della procedura: 490.000 €.
Benefici calcolati sula base della vendita di suinetti di 25Kg.
- Suinetti venduti a prezzo più alto (+3 € /capo)
- Costi di vaccinazione ridotti (-3 € /capo)
- Riduzione della mortalità post-svezzamento (+1 € /capo)
- Minor necessità di manodopera (-0,5 € /capo)

Guadagno totale 7,5 € /suino.

Se una allevamento produce circa 33 suinetti/scrofa/anno, il beneficio totale annuo è stimato a circa 300.000 € (7,5 €/suinetto x 33 suinetti/scrofa/anno). Il tempo di ROI (ritorno sull'investimento) è quindi inferiore a 2 anni. Secondo le stime commerciali, il guadagno per l'ingrasso è pari a quello del sito 1, quindi altri 7,5 €/suino grasso.
Il team dell'allevamento è molto soddisfatto della scelta e della nuova gestione di animali sani.

Caso 2: Eradicazione di Mycoplasma senza depop-repop
Il caso è stato presentato al congresso ESPHM nel 2024.
"Case report: successful *Mycoplasma hyopneumoniae* eradication using trachea-bronchial swab monitoring in a farrow-to-wean sow herd with combined vaccination and treatment protocol"
Frédéric Vangroenweghe 1,2*, Karien Koenders, van Gog 3, Hans Neleman 3
1 Elanco Animal Health Benelux, Antwerp, Belgium; 2 Ghent University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Internal Medicine - Reproduction - Population Medicine, Unit of Porcine Health Management, Merelbeke, Belgium; 3 Lintjeshof Farm Health Solutions, Nederweert, Netherlands

Allevamento a ciclo aperto nei Paesi Bassi con 1500 scrofe e rimonta interna. I suinetti vengono svezzati in un allevamento separato. L'allevamento ha un alto livello di produzione, con scrofe di genetica Topigs TN70 e produce 36 suinetti svezzati per scrofa all'anno. La biosicurezza è molto elevata, e lo stato sanitario free per APP e PRRS da anni. A un certo punto però l'azienda è stata infettata da *M. Hyopneumoniae*. La fonte dell'introduzione non è chiara. Le problematiche successive sono state: a) problemi polmonari riscontrati negli ingrassi di clienti tedeschi, circa il 25% delle lesioni da polmonite enzootica sono state riscontrate nel macello ed è stata dimostrata la presenza di *M. Hyopneumoniae;* b) a livello di scrofaia, presenza di tosse soprattutto nelle scrofette appena introdotte nel gruppo. L'obiettivo dell'allevatore è stato quello di essere nuovamente free per *M. Hyopneumoniae,* per tornare completamente SPF (Specific Pathogen Free) e mantenere il livello elevato di salute e produzione.
Strategia adottata:
• Monitoraggio diagnostico iniziale con tamponi tracheo-bronchiali (PCR per *M. Hyopneumoniae*)
• Interruzione temporanea della fecondazione (e quindi dei parti) delle scrofette
• Doppia vaccinazione (la seconda dose dopo 4 settimane) di tutti i suini presenti con un vaccino monodose per *M. Hyopneumoniae*
• Trattamento con Tulatromicina, ripetuto due volte a distanza di quattro settimane
• Follow-up con PCR (tamponi tracheo-bronchiali) e sierologia dopo la conclusione della vaccinazione nelle scrofe (la vaccinazione dei suinetti per *M. Hyopneumoniae* è continuata su richiesta dei clienti).
Prima di iniziare la procedura è stata effettuata una stima dei costi. I costi principali sono stati suddivisi in 3 parti: diagnostica / vaccinazione / tulatromicina. Il totale ammontava a circa 17.000 euro. Si è deciso di avviare il processo all'inizio del 2023.
I risultati diagnostici dei tamponi tracheobronchiali sono stati i seguenti: Gennaio 2023: 120 campioni: 40% scrofe pos, 13% suinetti e scrofette pos; Giugno 2023: 108 campioni: tutti negativi; Ottobre 2023: 72 campioni: tutti negativi. La sierologia ha mostrato la presenza di scrofe sieropositive (vaccinate precedentemente fino ad agosto 2024). E' stato osservato inoltre che le scrofette non vaccinate e le scrofe giovani erano sieronegative.

Si è concluso che la procedura è stata un successo. Dal punto di vista economico, è molto più difficile fare un calcolo in questo caso perché c'è stato solo un lieve miglioramento nella produzione, e i suinetti dovevano ancora essere vaccinati a causa della domanda di mercato. D'altra parte, l'allevatore e il suo team sono molto contenti, perché preferiscono lavorare con animali sani. La sintomatologia clinica respiratoria si è completamente risolta e i clienti degli allevamenti di ingrasso non si sono più lamentati: commercialmente parlando, avere un cliente soddisfatto è sempre vantaggioso. Una ulteriore osservazione dell'allevatore è stata che in estate, le scrofe hanno bisogno di una buona capacità polmonare per una produzione elevata. E secondo me, ha colto nel segno con questa osservazione. Vediamo così spesso nella nostra pratica, che la mortalità delle scrofe è più alta soprattutto in estate e che la produzione non è ottimale. A volte, se facciamo necroscopie su scrofe morte, troviamo vecchie lesioni polmonari che indicano una capacità polmonare limitata. Ma purtroppo questo fenomeno non viene sempre considerato nei nostri allevamenti.

CONCLUSIONE
Questi due casi dimostrano che, anche in un paese ad alta densità suinicola, è possibile eradicare le malattie con strategie mirate e miglioramenti nella biosicurezza.

ATTI DEL 50 MEETING ANNUALE 2025

Lazise (VR), 17-18 Aprile 2025

LINEE GUIDA SULL'USO PRUDENTE DEGLI ANTIBIOTICI NEL SETTORE SUINICOLO: CRITERI E ASPETTI NORMATIVI ALLA BASE DELLA REVISIONE

CANDELA L.

Dirigente sanitario veterinario
Ministero della Salute
Direzione generale della salute animale
Dipartimento della salute umana, della salute animale e dell'ecosistema(One Health)
e dei rapporti internazionali

Per contrastare la crescente minaccia per la salute pubblica e animale, rappresentata dall'antibiotico-resistenza, è fondamentale un uso responsabile degli antibiotici. La somministrazione di antibiotici, in particolare attraverso mangimi medicati e soluzioni o polveri orali, spesso destinata a gruppi di animali, può aumentare il rischio di selezione di batteri resistenti. Considerando i rischi specifici legati alla specie suina, che include la sua particolare sensibilità a determinate patologie infettive di origine batterica, nonché le diverse tipologie produttive e le condizioni ambientali in cui gli animali sono allevati, il settore suinicolo risulta particolarmente vulnerabile. Inoltre, le caratteristiche dei medicinali veterinari utilizzati, comprese le differenti formulazioni farmaceutiche, contribuiscono all'aumento del rischio di sviluppo di resistenze.

I nuovi regolamenti europei, come il regolamento (UE) 2019/6, impongono restrizioni più severe sull'uso profilattico e metafilattico degli antibiotici. Tali regolamenti incentivano l'adozione di pratiche avanzate di biosicurezza e una gestione sanitaria mirata, con l'obiettivo di mantenere gli animali in buono stato di salute e ridurre la necessità di trattamenti antibiotici, preservandone così l'efficacia. Il regolamento 2024/1159, inoltre, stabilisce norme specifiche per l'impiego sicuro ed efficace dei medicinali veterinari autorizzati e prescritti, in particolare per la somministrazione orale mediante vie alternative ai mangimi medicati.

Fornire orientamenti a livello nazionale, adattati alle specie animali e ai sistemi produttivi presenti sul nostro territorio, ha l'obiettivo di promuovere un impiego prudente degli antibiotici, soprattutto in un settore suinicolo di fondamentale importanza per la produzione nazionale. Le linee guida sono state sviluppate per orientare i professionisti sanitari nelle scelte terapeutiche più appropriate, tenendo conto della situazione delle resistenze sul nostro territorio e delle peculiarità produttive del settore.A questo proposito, all'interno delle Linee guida sull'uso prudente dell'antibiotico nel suino, sono riportate diverse tabelle (Tabelle 1, 2, 3, 4 e 5), che per comodità di consultazione si includono di seguito. In queste sono descritte le indicazioni relative ai protocolli diagnostici per le principali malattie caratteristiche per tipologia di allevamento, dettagliando il materiale da campionare e da quali animali.

LINEE GUIDA PER L'USO PRUDENTE DELL'ANTIBIOTICO NEL SUINO: LA DIAGNOSI DI LABORATORIO DELLE MALATTIE INFETTIVE E IL SUO RUOLO CHIAVE PER UN TRATTAMENTO ANTIBIOTICO CONSAPEVOLE

BASSI P.

La diagnosi di una malattia infettiva in allevamento riveste un ruolo cruciale nella gestione del percorso terapeutico, nonché negli investimenti legati alle procedure di profilassi o manageriali (es: miglioramento dei livelli di biosicurezza o richiesta di requisiti peculiari all'acquisto) che vengono applicate per prevenire o eliminare la malattia in allevamento.

La diagnosi di malattia infettiva scaturisce dalla possibilità di associare un quadro clinico o anatomopatologico all'azione di un agente eziologico. Talvolta questo nesso di causalità è facilmente definibile (es: presenza di lesioni patognomoniche compatibili con la sintomatologia clinica o l'isolamento eziologico), talvolta la complessità della malattia o la presenza di sovra infezioni secondarie complica il processo diagnostico.

La diagnosi in senso ampio può essere intesa come diagnosi clinica, quando si avvale dei dati anamnestici e dei segni rilevabili nel paziente, oppure eziologica, quando viene individuato un agente causale.

La diagnosi eziologica si avvale spesso del contributo di un laboratorio di analisi o di sistemi di diagnosi "*on-farm*". La diagnosi eziologica di laboratorio, nel contesto dell'uso consapevole dell'antibiotico, permette di:

- Confermare il sospetto diagnostico e quindi l'appropriatezza della terapia impostata
- Valutare tramite test di sensibilità le eventuali resistenze dell'agente eziologico circolante in azienda permettendo di impostare una terapia antibiotica adeguata o variarla in caso di mancata sensibilità all'antibiotico già prescritto in base, ad esempio, allo storico aziendale;
- Tipizzare e conservare eventuali isolati batterici per impostare profilassi vaccinali con preparati stabulogeni che possono sopperire all'assenza di preparati immunizzanti commerciali e coprire in maniera più calzante eventuali sierotipi circolanti;
- Monitorare nel tempo l'andamento della circolazione di agenti eziologici e, per le specie batteriche, i loro profili di resistenza agli antibiotici.

Per una diagnosi corretta è necessario, tra le atre cose:

- prelevare i campioni da animali rappresentativi della situazione circolante, nella fase acuta della malattia (evitando così infezioni secondarie o cronicizzazioni con riduzione della presenza dell'agente eziologico), non trattati con antibiotici;
- se possibile campionare più animali;
- scegliere accuratamente i materiali da campionare;
- trasportare correttamente i campioni (in linea di massima refrigerati se consegnati nelle 24 ore oppure congelati a circa -20°C se consegnati oltre le 24 ore);
- Richiedere io concordare con il laboratorio le analisi che possono fornire una indicazione migliore della condizione patologica in atto.

A questo proposito, all'interno delle Linee guida sull'uso prudente dell'antibiotico nel suino, sono riportate diverse tabelle (Tabelle 1, 2, 3, 4 e 5), che per comodità di consultazione si includono di seguito. In queste sono descritte le indicazioni relative ai protocolli diagnostici per le principali malattie caratteristiche per tipologia di allevamento, dettagliando il materiale da campionare e da quali animali.

Tabella 1: Protocolli diagnostici per le principali malattie dell'allevamento suino

In caso di:	Esami diagnostici per:	Materiale da campionare
Aborto/ natimortalità	Herpesvirus (Malattia di Aujeszky), Parvovirus, Encefalomiocardiovirus, PCV2, PRRSv, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes, Streptococcus* spp., *Leptospira* spp., *Chlamydophila* spp., *Toxoplasma gondii*	Feti
	Anticorpi vs.: Virus influenzali (H1N1, H1N1 pandemico, H3N2, H1N2), PRRS, Parvovirus, *Leptospira* spp., gE e gB Herpesvirus (Malattia di Aujeszky)	Sangue delle scrofe che hanno abortito (doppio prelievo in fase acuta, e dopo 3 settimane, in fase convalescente)
Diarrea neonatale	Rotavirus, Coronavirus (PED, TGE), *E. coli* enterotossigeni, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens* e *Clostridium difficile*	Feci, intestini, carcasse
Diarrea post-svezzamento	Coronavirus (PED, TGE), *E. coli* enterotossigeni, *Salmonella* spp., *Lawsonia intracellularis*	Feci, intestini, carcasse
Diarrea in animali >3 mesi	Coronavirus (PED, TGE), *Salmonella* spp., *Lawsonia intracellularis, Brachyspira spp.*	Feci, intestini, carcasse
Patologia respiratoria	*Mycoplasma hyopneumoniae, Mycoplasma hyorinis, Pasteurella multocida, Actinobacillus, pleuropneumoniae, Streptococcus suis, Bordetella bronchiseptica, Glaesserella parasuis,* PRRSv, virus influenzali	Polmoni, carcasse, tamponi nasali, lavaggi bronco- alveolari, tamponi tracheo-bronchiali
	Anticorpi vs.: *Mycoplasma hyopneumoniae, Actinobacillus pleuropneumoniae,* PRRSv, virus influenzali, gE e gB Herpesvirus della Malattia di Aujeszky)	Sangue (doppio prelievo in fase acuta, e dopo 3 settimane, in fase convalescente)
Patologia articolare	*Mycoplasma hyosinoviae, Mycoplasma hyorynis, Streptococcus suis, Glaesserella parasui*s	Essudato articolare, carcasse, articolazioni
Prelievi legati ai piani	Peste suina classica, Peste suina africana, Malattia di Aujeszky	Sangue

Una diagnosi eziologica corretta, però, necessita di alcuni presupposti e non può prescindere dal confronto con la corrispondenza agli aspetti clinici e anatomopatologici. A questo proposito nelle Linee guida sono riportati i principali sintomi che si possono osservare nelle forme enteriche (Tabella 2) e respiratorie (Tabella 4) e le lesioni correlate, a cui corrispondono consigli sul corretto campionamento e su quali test diagnostici richiedere (Tabelle 3 e 5).

Tabella 2: presentazione clinica delle principali malattie enteriche del suino

Malattia/ agente	**Età comparsa**	**Segni clinici**	**Caratteristiche della diarrea**
Clostridiosi *Cl. perfringens Tipo A*	48 ore dopo la nascita Mortalità: generalmente bassa	Depressione del sensorio, vomito, stato comatoso, emaciazione	Diarrea mucoide, color rosa senza sangue
Clostridiosi *Cl. perfringens Tipo C*	PA: 1 gg A: 3 gg SA: 7gg C: 10-14gg Mortalità: 100% forme PA e A	Depressione del sensorio, vomito, stato comatoso, emaciazione	PA e A: diarrea emorragica SA e C: diarrea giallastra
Clostridiosi *Cl. difficile*	Prima settimana Mortalità: variabile (fino al 50%)	Morte improvvisa, distensione addominale	Feci pastose giallastre, talvolta acquose
Colibacillosi (*E. coli*)	3-4 gg (neonatale) 24-40 gg (post-svezamento) Mortalità: fino al 70% e 25% (neonatale e post-svezzamento)	Disidratazione, imbrattamento della regione perianale	Diarrea gialla, rosa o grigia, pH alcalino
Ileite *Lawsonia intracellularis*	Dopo lo svezzamento fino all'ingrasso Mortalità: bassa o assente	Perdite di peso, mancato accrescimento. A: nella forma acuta degli animali giovani/ adulti anemia e morte	Feci con ridotta consistenza, verdastre; A: emorragica nella forma acuta
Dissenteria emorragica *Brachyspira hyodysenteriae*	Periodo accrescimento-ingrasso Mortalità: variabile (generalmente bassa)	Raramente morte; scadimento condizioni generali, ridotti incrementi ponderali	Feci muco-emorragiche
Salmonellosi *Salmonella Typhimurium*	Periodo accrescimento-ingrasso Mortalità: bassa o assente	Febbre, disidratazione, scadimento dello stato di nutrizione, ridotti incrementi ponderali	Inizialmente giallo-verde. può essere seguita da diarrea muco-emorragica

PA: forma per-acuta; A: acuta; SA: sub-acuta; C: cronica.

Tabella 3: diagnostica delle principali malattie enteriche del suino

Malattia/ agente	**Lesioni**	**Campionamento**	**Test diagnostici**
Colibacillosi (*E. coli*)	Enterite diffusa al piccolo e grosso intestino	Piccolo intestino, includere sempre ileo e digiuno Tamponi rettali	Isolamento Genotipizzazione (tossine e fimbriae)
Clostridiosi *Cl. perfringens Tipo C*	Enterite necrotico emorragica PA e A: diarrea emorragica SA e C: diarrea giallastra	Piccolo intestino (in particolare digiuno)	Isolamento (quantificazione) Genotipizzazione (tossine) Esame istologico
Clostridiosi *Cl. perfringens Tipo A*	Enterite necrotizzante (diarrea mucoide, color rosa senza sangue)	Piccolo intestino (in particolare digiuno)	Isolamento (quantificazione) Genotipizzazione (tossine) Esame istologico
Clostridiosi *Cl. difficile*	Tiflo-colite, edema del meso-colon (feci pastose giallastre)	Grosso intestino (cieco/colon)	Isolamento (quantificazione) Genotipizzazione (tossine)
Dissenteria emorragica *Brachyspira hyodysenteriae*	Tiflo-colite fibrino-necrotica e muco-emorragica	Colon (Feci possono essere utilizzate in assenza di mortalità)	Isolamento Genotipizzazione Esame istologico
Salmonellosi *Salmonella Typhimurium*	Enterite necrotico-fibrinosa	Grosso intestino e feci	Isolamento Sierotipizzazione
Ileite *Lawsonia intracellularis*	Ileite cronica (adenomatosi intestinale) Ileite acuta emorragica	Ileo (valvola ileo-ciecale)	Istopatologia Dimostrazione del patogeno (PCR, IHC)

PA: forma per-acuta; A: acuta; SA: sub-acuta; C: cronica.

Tabella 4: presentazione clinica delle principali malattie respiratorie e sistemiche del suino

Malattia/agente	**Età comparsa**	**Clinica**
Streptococcosi *Streptococcus suis*	Dalla prima settimana di vita fino allo svezzamento Mortalità: elevata	Segni neurologici, *pedalage*, zoppie, tremori, convulsioni, opistotono, cecità
Malattia di Glässer *Glaesserella parasuis*	Post-svezzamento Mortalità: elevata	Tosse secca non produttiva Segni neurologici, zoppie, formazione di scarti Febbre elevata
Salmonellosi *Salmonella Choleraesuis*	Post-svezzamento/ magronaggio Mortalità: elevata	Cianosi cutanea, mortalità elevata, dispnea, anoressia Febbre elevata
Pasteurellosi *Pasteurella multocida*	Post-svezzamento/ magronaggio Mortalità: variabile	Tosse produttiva
Polmonite enzootica *Mycoplasma hyopneumoniae*	Magronaggio/ ingrasso Mortalità: bassa o assente	Tosse: secca non produttiva (produttiva se complicata) Febbre lieve
Pleuropolmonite *Actinobacillus pleuropneumoniae*	Magronaggio/ingrasso Mortalità: variabile (talvolta elevata)	Tosse: dolorosa, produttiva Febbre elevata
Mal Rosso *Erysipelothrix rhusiopathiae*	Tutte le età	Losanghe cutanee. Forme setticemiche con cianosi ed iperemia cutanea

Si ricorda infine che, soprattutto per alcune patologie, il riscontro di un agente eziologico non è direttamente correlabile alla presenza di malattia: ad esempio la positività in PCR per Circovirus suino di tipo 2 o per *Lawsonia intracellularis* non può essere interpretata con la presenza di PMWS o Ileite proliferativa senza indagini collaterali che dimostrino la presenza di lesioni tipiche e dell'agente eziologico nel contesto della lesione (istologia e immunoistochimica).
Concludendo, una corretta diagnosi eziologica rappresenta uno degli elementi cardine per un uso responsabile dell'antibiotico e, quando possibile, deve essere sempre confrontata con la manifestazione clinica e anatomopatolgica della malattia al fine di definire un quadro patogenetico coerente.

Tabella 5: diagnostica delle principali malattie respiratorie e sistemiche del suino

Malattia/agente	**Lesioni**	**Campionamento**	**Test diagnostici**
Pleuropolmonite *Actinobacillus pleuropneumoniae*	Pleuropolmonite necrotico-fibrino-emorragica, rinoraggia	Suini deceduti o polmoni con caratteristiche lesioni acute	Isolamento Tipizzazione ceppi (siero e genotipizzazione)
Pasteurellosi *Pasteurella multocida*	Broncopolmonite apicale catarral-purulenta	Suini deceduti, polmoni	Isolamento
Polmonite enzootica *Mycoplasma hyopneumoniae*	Broncopolmonite catarrale con coinvolgimento dei lobi apicali e cardiaci	Lavaggio bronco alveolare, tampone tracheo-bronchiale, polmoni	PCR tradizionale PCR quantitativa
Streptococcosi *Streptococcus suis*	Splenomegalia, congestione pluriviscerale, congestione dei vasi meningei ed encefalici. possibili quadri di polisierosite fibrinosa	Suini deceduti, tamponi cerebrali, articolari, pericardici	Isolamento Tipizzazione ceppi
Salmonellosi *Salmonella Choleraesuis*	Cianosi cutanea, broncopolmonite e pleurite fibrinosa; epatomegalia, linfoadenomegalia dei linfonodi perigastrici	Suini deceduti (rene, milza, polmone, intestino)	Isolamento Prove biochimiche e sierotipizzazione
Malattia di Glässer *Glaesserella parasuis*	Meningite, artrite, polisierosite fibrinosa	Suini deceduti o sacrificati (questi ultimi da preferire, necessario materiale fresco; se possibile evitare il congelamento)	Isolamento Sierotipizzazione
Mal Rosso *Erysipelothrix rhusiopathiae*	Losanghe cutanee, endocarditi ulcero-polipose, artrite cronica Forme setticemiche	Suini deceduti (cuore, rene, milza)	Isolamento Identificazione biochimica o PCR

BIBLIOGRAFIA:

LINEE GUIDA - Uso prudente degli antibiotici nell'allevamento suino, revisione 2, 2025.

AGGIORNAMENTI SULLE LINEE GUIDA SULL'USO PRUDENTE DEGLI ANTIBIOTICI NEGLI ALLEVAMENTI SUINI

TRAMBAJOLO G.

È stata completata la seconda revisione delle linee guida per l'uso prudente degli antibiotici negli allevamenti suini, ad opera di un gruppo di lavoro costituito da componenti del Ministero della Salute, del Centro Nazionale di referenza per l'antibioticoresistenza, dell'IZSLER, dell'Università, delle Aziende Usl e da veterinari privati, liberi professionisti e di filiera, sotto il coordinamento della Regione Emilia-Romagna. Il documento è stato condiviso e approvato dalla società scientifica SIPAS, che ha organizzato una tavola rotonda all'interno della prima giornata del 50° Meeting annuale, per presentare e discutere il documento con i soci e con rappresentanti del servizio pubblico, presso i quali l'evento è stato divulgato.

La prima stesura delle Linee guida, messa a punto dalla Regione Emilia-Romagna in collaborazione con gli attori sopra specificati, risale al 2018, è stata approvata dal centro Nazionale di referenza AMR e condivisa a livello di Coordinamento Interregionale della Prevenzione, andando a costituire il primo documento di indirizzo sul buon uso degli antibiotici nell'allevamento suino; la prima revisione, completata nel 2022, si è resa necessaria in seguito all'entrata in vigore dei regolamenti europei n. 2019/6 e 2019/4, che limitano notevolmente l'utilizzo dei medicinali veterinari e dei mangimi medicati, soprattutto nei trattamenti di massa.

Questa ultima revisione invece, la seconda, completata nei primi mesi dell'anno corrente, rientra nel progetto generale, inserito tra gli obiettivi nel PNCAR 2022-2025, di produrre un documento a carattere nazionale, in analogia con quanto già messo in atto per le Linee guida per l'uso prudente nei bovini da latte, approvato da tutti gli Uffici competenti del Ministero della Salute e condiviso con la principale società scientifica del settore.

Il progetto ministeriale prevede la revisione delle Linee guida prodotte fino ad ora dalle Regioni, con la finalità di produrre gli orientamenti nazionali, previsti dal Regolamento 2019/6 e dal Decreto Legislativo 218/2023, pubblicandoli sul portale del Ministero della Salute e la messa a punto di linee guida per l'uso prudente nelle specie avicole, nei vitelli e nei vitelloni da carne e nell'acquacultura.

Ulteriore obiettivo del Piano Nazionale di contrasto all'antibioticoresistenza è il coinvolgimento di filiere o consorzi particolarmente virtuosi, che stanno mettendo in atto iniziative volte alla promozione del buon uso degli antibiotici negli allevamenti, affinché condividano i percorsi e si propongano come esempio e come elemento trainante nei confronti di altri gruppi di produttori.

La divulgazione delle Linee guida nell'ambito di eventi, convegni o tavoli condivisi rappresenterà l'occasione migliore per mettere a confronto le diverse esperienze messe in atto o programmate a breve, in un'ottica di miglioramento continuo e condivisione di buone pratiche.

È importante sottolineare ancora una volta le connotazioni di questo documento: le linee guida, infatti, sono documenti che hanno lo scopo di chiarire le migliori modalità di comportamento in determinati settori; possono richiamare diverse normative, ma non hanno carattere cosiddetto "cogente", vale a dire che non sono previsti provvedimenti nei confronti di chi non segue le loro indicazioni. Nel caso specifico hanno l'obiettivo di chiarire quali sono le migliori pratiche che allevatori e veterinari devono mettere in atto, con la finalità di ridurre il consumo di antibiotici e soprattutto di ottimizzare il loro utilizzo, per minimizzare l'insorgenza di un grave problema di tipo sanitario ed economico, quello dell'antibiotico resistenza. La linea di demarcazione tra trattamento profilattico di massa con antibiotici –

non consentito - e trattamento metafilattico di massa – consentito a determinate condizioni - è quindi definita da alcuni passaggi fondamentali, nella cui definizione diventa centrale la figura del medico veterinario che segue l'allevamento: la diagnosi, la valutazione dei fattori di rischio, la definizione di gruppo a stretto contatto.
La divulgazione dell'attuale versione potrà essere pertanto ancora una volta utilizzata anche come un momento di confronto tra i Servizi Pubblici e il mondo dei veterinari e degli allevatori del settore suinicolo, indispensabile per aprire il dibattito e individuare proposte costruttive.
Infatti, l'approccio ai nuovi regolamenti europei, non solo nel settore del farmaco veterinario e dell'antibiotico resistenza, ma anche in quelli del benessere, della sanità animale e della biosicurezza, prevede un cambiamento profondo di mentalità, che coinvolge veterinari pubblici, privati e allevatori: la nuova "parola d'ordine" è ***collaborazione,*** in vista di obiettivi comuni, rappresentati dalla tutela della salute pubblica e dal miglioramento delle condizioni generali di salute e di benessere negli allevamenti, al fine di rispondere alle richieste di un consumatore più esigente rispetto al passato e maggiormente sensibile ai temi di sostenibilità delle produzioni animali e dell'ambiente. Le indicazioni contenute nelle linee guida rappresentano quindi lo strumento per mettere in atto, sotto la guida costante dei veterinari pubblici e privati, le modifiche graduali ma progressive, indispensabili per l'adeguamento alla nuova normativa.

UTILIZZO SOSTENIBILE DEGLI ANTIBIOTICI NELL'ALLEVAMENTO SUINICOLO E APPLICAZIONE DELLE LINEE GUIDA

ROLLA U.

L'approccio *One Health*, che riconosce l'interconnessione tra la salute umana, animale e ambientale, ha posto da anni l'attenzione sulla problematica dell'antimicrobico-resistenza derivante dalle produzioni zootecniche. In particolare, il settore suinicolo, che in passato ha registrato un uso eccessivo di antibiotici, sta adottando strategie di miglioramento volte a ridurre la selezione di batteri multi-resistenti e a ottimizzare l'uso prudente degli antimicrobici.

Per raggiungere obiettivi ambiziosi in questo ambito, è fondamentale il coinvolgimento di tutti gli attori della filiera suinicola, tra cui il Ministero della Salute, i Servizi Veterinari Ufficiali, gli Istituti Zooprofilattici Sperimentali e, soprattutto, il veterinario aziendale. Quest'ultimo riveste un ruolo cruciale nel trasferire le esigenze del modello *One Health* all'interno degli allevamenti, bilanciando la necessità di garantire la sanità animale con le esigenze produttive. Tuttavia, sebbene l'obiettivo della riduzione dell'uso di antimicrobici sia condiviso da tutti gli stakeholder, i percorsi per raggiungerlo possono variare in base ai tempi e ai metodi applicati.

Un primo passo essenziale è l'analisi accurata del consumo di antibiotici. In questo contesto, il sistema ClassyFarm rappresenta uno strumento fondamentale per il monitoraggio e il confronto dell'uso di antimicrobici attraverso l'indicatore DDD (Defined Daily Dose). Una volta definito il consumo aziendale, sia in termini quantitativi che qualitativi (classi di antibiotici impiegate), è possibile stabilire obiettivi di riduzione, tenendo in considerazione anche la collocazione geografica dell'allevamento. Infatti, le aree ad alta densità zootecnica, caratterizzate dalla circolazione endemica di patologie virali (ad esempio PRRS), necessitano di strategie di riduzione differenziate rispetto a quelle a bassa o media densità.

La diminuzione dell'uso di antibiotici può essere perseguita attraverso il controllo o l'eradicazione di specifiche patologie, la revisione dei protocolli di profilassi e il miglioramento del management aziendale. Tuttavia, alcune fasi della vita del suino presentano criticità particolari. La fase di svezzamento, in cui i suinetti affrontano importanti cambiamenti immunitari e nutrizionali, rappresenta un momento critico in cui la presenza di agenti patogeni, spesso in associazione con infezioni virali, può determinare quadri clinici severi.

Le sfide future del settore suinicolo richiedono un veterinario preparato a ottimizzare l'uso degli antibiotici senza compromettere la produttività degli allevamenti. Diventa quindi essenziale una gestione consapevole e una comunicazione efficace del processo decisionale alla base delle scelte terapeutiche, al fine di garantire un approccio sostenibile e scientificamente supportato all'impiego degli antimicrobici.

UTILIZZO RAZIONALE DEGLI ANTIBIOTICI IN AMBITO ZOOTECNICO: IL PUNTO DI VISTA DEL LIBERO PROFESSIONISTA.

UN APPROCCIO SOSTENIBILE PER LA SALUTE ANIMALE E UMANA: ONE HEALTH.

ZAVATTINI S.

L'utilizzo di antibiotici in ambito zootecnico è una pratica comune per prevenire e trattare le infezioni batteriche negli animali da allevamento. Tuttavia, l'abuso e l'uso improprio di questi farmaci possono portare a gravi conseguenze, come lo sviluppo di resistenze batteriche, che rappresentano una minaccia per la salute pubblica globale. Pertanto, è essenziale adottare un approccio razionale e responsabile all'uso degli antibiotici in zootecnia. L'uso razionale degli antibiotici implica una corretta diagnosi della patologia, la valutazione della possibilità di cura farmacologica e la somministrazione dei farmaci solo quando strettamente necessario, seguendo modalità, dosaggi e tempi di trattamento appropriati. Questo approccio aiuta a ridurre il rischio di sviluppare resistenze batteriche e a mantenere l'efficacia degli antibiotici esistenti. Il compito del veterinario libero professionista, tuttavia, non si può limitare a questo: la prevenzione delle infezioni negli allevamenti è il primo passo per ridurre la necessità di utilizzare antibiotici. Tra le misure preventive ci sono un'igiene rigorosa, programmi vaccinali "tailor made", alimentazione equilibrata e gestione adeguata.

La presenza del veterinario aziendale è fondamentale per gestire in modo coordinato tutti questi aspetti ed affiancare il proprietario nell'attività di allevamento. Rimane prerogativa del medico veterinario effettuare una diagnosi corretta e indicare un trattamento appropriato; quando si sospetta un'infezione, è cruciale effettuare una diagnosi accurata prima di somministrare antibiotici. La diagnosi può includere esami clinici e di laboratorio per identificare il patogeno responsabile. La preparazione scientifica del veterinario aziendale da questo momento in poi farà la differenza: dall'esame anatomopatologico effettuato in campo, spesso in condizioni ambientali disagevoli, alla scelta di inviare materiale organico al laboratorio e soprattutto l'interpretazione corretta e contestualizzata dell'esito prodotto fino alla scelta della terapia sono prerogative che sono proprie del professionista e non possono essere messe in discussione basandosi solo su certificazioni di laboratorio e linee guida. La complessità delle malattie, anzi delle sindromi d'allevamento, sono comprensibili solo dal veterinario che vive la realtà aziendale e non da uno spettatore esterno pur qualificato. Una volta confermata l'infezione, il veterinario può, anzi deve, prescrivere l'antibiotico più appropriato, considerando lo spettro d'azione, la modalità, il dosaggio e la durata corretta del trattamento. Molti paesi hanno introdotto normative molto vincolanti e linee guida per limitare e regolamentare l'uso degli antibiotici in zootecnia: le restrizioni sull'uso preventivo metafilattico e soprattutto profilattico riservandolo solo ai casi di reale necessità, i controlli periodici e il monitoraggio dell' efficacia tramite gli antibiogrammi hanno portato a risultati concreti in termini di consumo di antibiotico; dati incoraggianti di riduzione pari a oltre il 50% del valore di DDD nell'ultimo quinquennio testimoniano l'impegno profuso da tutti gli attori della filiera zootecnica. Dall'analisi dei consumi, tuttavia, non si può fare a meno di notare che le patologie tipiche dell'allevamento intensivo le cosiddette "tecnopatie" caratterizzano ancora il nostro settore ed orientano i consumi di farmaco: aminopenicilline nella fase di svezzamento, tetracicline e lincosamidi nella

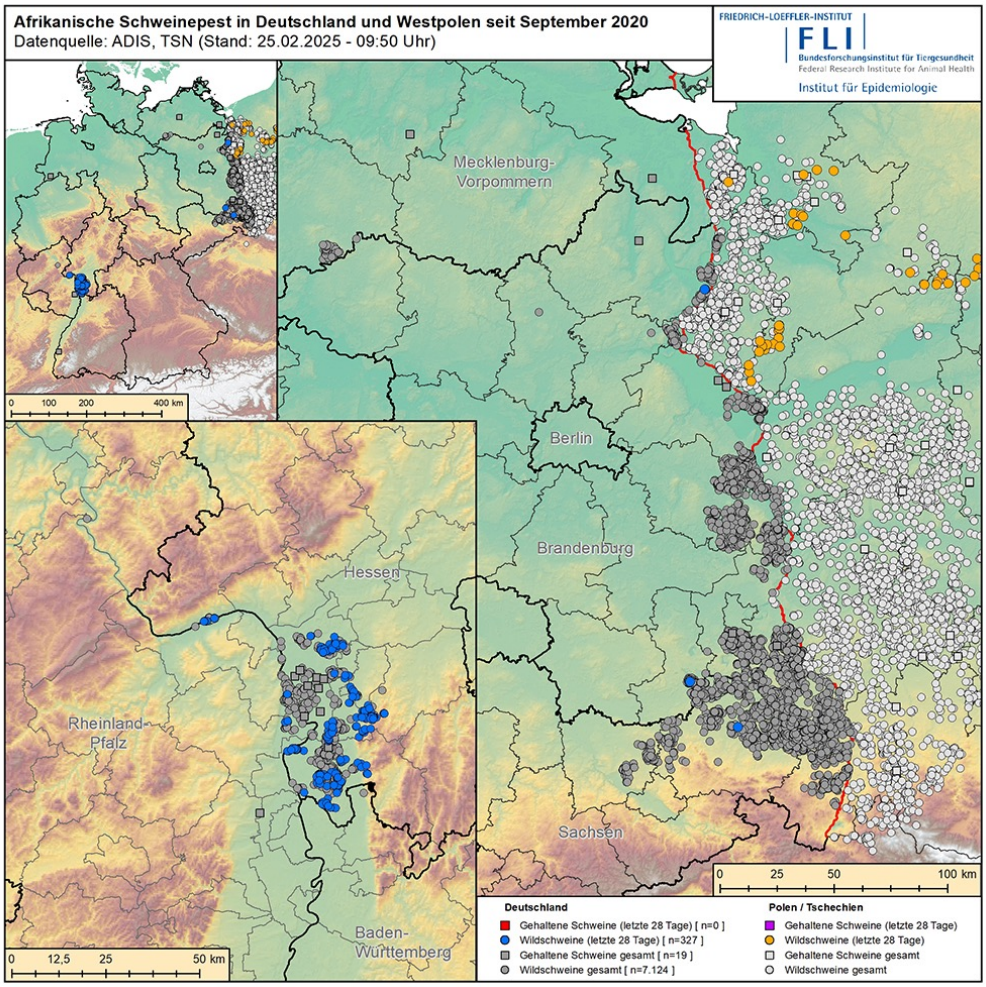
fase di ingrasso. Da più parti viene correlata la riduzione dell'uso dell'antibiotico ad un aumento del dato di mortalità media nelle aziende: a questo riguardo, non disponendo di dati scientifici certi, non posso esprimere un giudizio razionale anche se la sensazione percepita va in questa direzione. Un nuovo aspetto di etica professionale si pone a questo punto al veterinario aziendale: prevenire le malattie e quindi salvare la vita agli animali con profilassi o metafilassi antibiotica o privilegiare la terapia del caso clinico conclamato assumendosi la responsabilità di una mortalità più alta? O ancora, c'è forse da ripensare il sistema attuale di allevamento a favore di sistemi meno intensivi ma con un aumento vertiginoso dei costi di produzione? L'incessante attività del medico veterinario aziendale in termini di formazione propria e dell'allevatore è l'unico sistema idoneo a perseguire lo scopo.

L'utilizzo razionale degli antibiotici in ambito zootecnico è fondamentale per garantire la salute degli animali e prevenire la diffusione delle resistenze batteriche. Attraverso pratiche di prevenzione, diagnosi accurate, trattamenti appropriati e rispetto delle normative, è possibile utilizzare questi farmaci in modo responsabile e sostenibile. Solo così possiamo proteggere l'efficacia degli antibiotici per le generazioni future e garantire un sistema di allevamento sano e sicuro.

LA SITUAZIONE DELLA PESTE SUINA AFRICANA (ASF) IN GERMANIA E LA STRATEGIA DI CONTROLLO DELLA BASSA SASSONIA

ZANI L.

Lower Saxony State Office for Consumer Protection and Food Safety (LAVES), Oldenburg, Germany



https://www.fli.de/de/aktuelles/tierseuchengeschehen/afrikanische-schweinepest/karten-zur-afrikanischen-schweinepest/ visited on 27.02.2025

La Peste Suina Africana (ASF) è una delle malattie più devastanti per i suini, con un impatto significativo sia sul settore dell'allevamento suino, che sulle popolazioni di cinghiali. L'ASF è stata introdotta nella popolazione di cinghiali in Germania nel 2020 , e da allora, sono stati compiuti enormi sforzi per eradicare la malattia. Tuttavia, il controllo della peste nei cinghiali

è complesso e ottenere un rapido successo è quasi impossibile. Nella zona di Mecklenburg-Pomerania, un focolaio di ASF nei cinghiali è stato individuato rapidamente ed eradicato nel giro di due anni. Tuttavia, in Brandenburgo e Sassonia, dove sono possibili introduzioni transfrontaliere, la malattia è ancora presente. Nelle regioni di Hesse e Rhineland-Palatinate, l'ASF è stata rilevata nel 2024 e da allora sono stati individuati più di 1200 cinghiali positivi.

Il controllo di un focolaio di ASF nei suini domestici è meno complesso rispetto ai cinghiali, poiché le misure di controllo sono rigidamente stabilite dalle normative dell'UE. Tuttavia, le misure di contenimento nelle zone di restrizione causano enormi problemi agli allevatori di suini. Dall'introduzione dell'ASF in Germania nel 2020, si sono verificati diciannove focolai nei suini domestici. Le dimensioni delle aziende colpite variavano da piccoli allevamenti all'aperto fino a grandi allevamenti commerciali.

La Bassa Sassonia è stata colpita nel 2022, quando l'ASF è stata rilevata in un allevamento di suinetti. Dato che questo stato federale ha la più alta densità di suini domestici in Germania, l'epidemia ha avuto enormi conseguenze negative per gli allevatori situati nelle zone di restrizione. Le premialità sono state perse e i macelli spesso si sono rifiutati di accettare suini provenienti dalle zone di restrizione. Poiché si è trattato di un singolo focolaio nella regione, le misure sono state revocate dopo tre mesi. Tuttavia, l'epidemia ha causato ingenti perdite economiche e problemi di benessere animale, poiché i suini dovevano rimanere più a lungo nelle stalle ed era vietato lo spostamento anche verso i siti 2 o 3.

In caso accadesse un'epidemia di peste nella popolazione di cinghiali della Bassa Sassonia, le misure di contenimento durerebbero più a lungo. Per questo motivo, viene raccomandata la prevenzione. Gli allevatori di suini e i veterinari vengono regolarmente aggiornati sulle misure di biosicurezza. Sono in atto programmi di monitoraggio sia per i suini domestici che per i selvatici, con l'obiettivo di rilevare l'ASF il più rapidamente possibile. Tuttavia, l'introduzione del virus, principalmente attraverso i movimenti dell'uomo, non può essere completamente controllata. Di conseguenza, la Bassa Sassonia ha implementato diverse misure preventive, tra cui corsi di formazione regolari per tutti i soggetti coinvolti nelle misure di controllo, l'implementazione di opzioni digitali per semplificare il coordinamento delle operazioni di contenimento e la disponibilità di materiali per la recinzione e la rimozione delle carcasse.

PSA: COME TI INFETTO IL CINGHIALE (E TI ROVINO IL SUINO)

GUBERTI V.

Università di Bologna Dipartimento Scienze Veterinarie

La Peste suina africana (PSA) nel cinghiale è stata diagnosticata in Piemonte/Liguria nel Gennaio 2022 (Iscaro et al., 2022; Vitale et al., 2024) tuttavia è stata probabilmente introdotta nell'agosto del 2021 (Gervasi et al., 2023). Successivamente l'infezione è stata diagnosticata nella città di Roma e nelle regioni Calabria e Campania. La PSA è stata affrontata, dapprima, attraverso il Centro nazionale di lotta ed emergenza contro malattie animali e relativi articolati, successivamente con il commissariamento. Inizialmente l'eradicazione è stata impostata seguendo criteri ed esperienze maturate a livello internazionale (Guberti et al., 2022) e suggeriti dai report delle visite del Team dell'Unione Europea delle Emergenze Veterinarie (EUVET) nell'area infetta. La strategia era basata su:

a. Arresto della diffusione spaziale dell'onda epidemica ottenuto con la recinzione dell'area di circolazione virale;

b. Divieto di caccia/abbattimento all'interno dell'area recintata;

c. Abbattimento del maggior numero possibile di cinghiali all'esterno dell'area recintata;

d. Ricerca attiva e rimozione delle carcasse di cinghiale nell'area recintata;

e. Abbattimento dei cinghiali nell'area recintata una volta esaurita l'onda epidemica dell'infezione.

La strategia non è mai stata applicata completamente a causa di una molteplicità di fattori contrastanti; soprattutto le recinzioni e il blocco della caccia sono state ritenute misure eccessive, tecnicamente errate, onerose, non accettate localmente e di conseguenza la strategia è stata orientata verso il drastico depopolamento del cinghiale nelle aree infette. Nel frattempo nell'area dell'Italia del Nord l'area di circolazione virale (descritta dal poligono definito dai punti più esterni di ritrovamento degli animali positivi) è aumentata di circa 20 volte passando da 500 a oltre 10.000 km2. I punti di maggiore criticità si sono rivelati:

1. Ritardata o mancata costruzione delle recinzioni;
2. Mancato arresto dell'onda epidemica che si è frastagliata seguendo l'orografia del territorio;
3. Interventi eterogenei e talvolta controproducenti attuati nella popolazione di cinghiale all'interno della zona infetta;
4. Interventi poco incisivi all'esterno delle aree di restrizione;
5. Insufficiente ricerca e rimozione delle carcasse infette;

Attualmente la strategia di controllo è stata rimodulata, tuttavia l'applicazione della strategia originalmente proposta dall'EUVET risulta difficile a causa dell'estensione della zona di circolazione virale e soprattutto per l'impossibilità di gestire in modo unico una popolazione di cinghiale distribuita su 10.000 km2 e costituita da un numero di animali fluttuante, approssimabile tra i 40.000 e gli 80.000 capi che raggruppate spazialmente in sub-popolazioni. Ognuna delle diverse sub-popolazioni mostra una delle possibili fasi dell'epidemiologia della Peste suina africana nel cinghiale: dalla recente introduzione del virus fino all'endemia passando per vere e proprie fasi epidemiche. Di fatto i 10.000 km2 di territorio di circola-

zione del virus sono un mosaico di aree: in alcune, il virus si è quasi estinto, in altre recentemente re-introdotto, in altre ancora il virus è in una fase endemica in altre epidemica. La densità locale del cinghiale segue o precede le dinamiche epidemiologiche. Al momento nel solo il territorio definito dalla Zone di Controllo dell'Espansione Virale (ZCEV) la gestione del cinghiale è definita dalla situazione epidemiologica mentre nella restante parte delle Zone di Restrizione (ZR) I e II la gestione del cinghiale non considera la situazione epidemiologica della malattia. L'intero territorio definito dalle ZR I e II potrebbe essere gestito frammentandolo in Sub-Unità Gestionali di superficie appropriata (100-150 km2) e per ognuna delle Unità applicata la strategia di gestione in funzione della situazione epidemiologica in atto. L'applicazione di una strategia individuale delle diverse Unità di Gestione del Cinghiale senza l'ausilio delle barriere e operata quasi esclusivamente sulla gestione differenziata degli abbattimenti è un tentativo interessante, non ancora testato in alcuno dei Paesi della UE, e la cui probabilità di successo è piuttosto imprevedibile.

Arrestare l'onda epidemica del virus con abbattimenti (barriera biologica) o altri accorgimenti (reti elettriche, barriere odorose ecc.) è molto difficile ed i metodi impiegati hanno dimostrato una scarsa efficacia (si confrontino Lim et al., 2022; Geisser e Reyer, 2004; Faltusová et al., 2025) in tutti i differenti contesti ambientali dell'Europa Occidentale i.e. dall'Estonia alla Grecia.

La mancata o ritardata eradicazione dell'infezione permette al virus di allargare il proprio areale di distribuzione geografica. Nella situazione epidemiologica attuale, un ulteriore allargamento dell'area di circolazione virale verso aree indenni dell'Appennino e delle Alpi è un evento probabile. Ragionevolmente l'infezione si espanderà nelle aree boscate in continuità di areale di distribuzione del cinghiale (Faustini et al., 2025).

Servono comunque ingenti risorse; il Belgio ha eradicato il virus dalla popolazione di cinghiale nel 2018-2020 (Licoppe et al. 2023) con costi riportati al 2024 pari a circa 350 euro/ettaro che applicati all'area di circolazione virale del Nord Italia ammonterebbero a circa 350 milioni di euro, a fronte di una perdita di 500 milioni di euro stimati da ASSICA per mancate esportazioni e di circa 100 milioni di euro per i costi associati all'epidemia nel suino domestico nell'estate del 2024 (107.000 animali abbattuti).

La disponibilità di un vaccino potrebbe cambiare l'intero scenario (Gervasi e Guberti 2024). Le simulazioni di diverse campagne vaccinali mostrano che un vaccino somministrabile *per os*, anche se di scarsa qualità (bassa efficacia e breve durata dell'immunità), è comunque in grado di fornire quell'aiuto indispensabile per transitare dall'attuale fase di endemia alla vera e propria eradicazione. Tuttavia anche un piano di vaccinazione, così come le recinzioni, la sorveglianza ecc. necessita di una strategia complessa, di adeguate risorse economiche e capacità logistiche (Gervasi et al., 2024). Limitandosi alla sola area di circolazione virale del Nord si tratta di vaccinare per 3 anni consecutivi la popolazione di cinghiale effettuando 14 campagne vaccinali, distribuendo dai 3.5 ai 5.5 milioni di esche vaccinali e gestendo dalle 6.500 alle 10.000 aree di vaccinazione, seguendo tempi e modalità piuttosto rigidi.

Infine giova ricordare che:

- La peste suina africana non ha una densità minima di cinghiali raggiunta la quale il virus viene eradicato; animali infetti e carcasse infette concorrono entrambe al mantenimento del virus scambiandosi stagionalmente il ruolo di principale diffusore (attivo o passivo) del virus; le carcasse infette svolgono un ruolo cruciale di mantenimento del virus

nell'ambiente a bassa densità del cinghiale (Gervasi e Guberti., 2021; Cukor et al., 2025); l'eliminazione delle carcasse infette è più importante di ogni forma di riduzione della densità del cinghiale.

- Gli abbattimenti in area di circolazione virale risultano sostanzialmente inutili se non dannosi; possono causare un aumento della vagilità del cinghiale (Olejarz et al., 2022) che durante la fase di incubazione può fuggire a km di distanza e una volta morto determinare il possibile allargamento delle diverse Zone di Restrizione.

Letteratura citata

1. Cukor, J., Faltusová, M., Vacek, Z., Linda, R., Skoták, V., Václavek, P., Havránek, F. (2024). Wild boar carcasses in the center of boar activity: crucial risks of ASF transmission. *Frontiers in Veterinary Science*, *11*, 1497361.
2. Faltusová, M., Ježek, M., Ševčík, R., Silovský, V., & Cukor, J. (2024). Odor fences have no effect on wild boar movement and home range size. *Animals*, *14*(17), 2556.,
3. Faustini, G., Soret, M., Defossez, A., Bosch, J., Conte, A., Tran, A. (2025). Habitat suitability mapping and landscape connectivity analysis to predict African swine fever spread in wild boar populations: A focus on Northern Italy. *PloS one*, *20*(1), e0317577.
4. Geisser, H., & Reyer, H. U. (2004). Efficacy of hunting, feeding, and fencing to reduce crop damage by wild boars. *The Journal of Wildlife Management*, *68*(4), 939-946.
5. Gervasi, V., & Guberti, V. (2021). African swine fever endemic persistence in wild boar populations: Key mechanisms explored through modelling. *Transboundary and emerging diseases*, *68*(5), 2812-2825.
6. Gervasi, V., & Guberti, V. (2024). The Effect of Partial and Temporary Vaccination on African Swine Fever Eradication Rates. *Transboundary and Emerging Diseases*, *2024*(1), 9409991.
7. Gervasi, V., Masiulis, M., Bušauskas, P., Bellini, S., Guberti, V. (2024). Optimizing Vaccination Strategies against African Swine Fever Using Spatial Data from Wild Boars in Lithuania. *Viruses*, *16*(1), 153.
8. Gervasi, V., Sordilli, M., Loi, F., Guberti, V. (2023). Estimating the Directional Spread of Epidemics in Their Early Stages Using a Simple Regression Approach: A Study on African Swine Fever in Northern Italy. *Pathogens*, *12*(6), 812.
9. Guberti, V., Khomenko, S., Masiulis, M., & Kerba, S. (2022). *African swine fever in wild boar: ecology and biosecurity* (Vol. 28). Food & Agriculture Org.
10. Iscaro, C., Dondo, A., Ruocco, L., Masoero, L., Giammarioli, M., Zoppi, S., Feliziani, F. (2022). January 2022: Index case of new African Swine Fever incursion in mainland Italy. *Transboundary and emerging diseases*, *69*(4), 1707.
11. Licoppe, A., De Waele, V., Malengreaux, C., Paternostre, J., Van Goethem, A., Desmecht, D., Linden, A. (2023). Management of a focal introduction of ASF virus in wild boar: the Belgian experience. *Pathogens*, *12*(2), 152.
12. Lim, S. J., Kwon, J. H., Namgung, H., Park, J. Y., Kim, E. K., & Park, Y. C. (2022). Long-Term Monitoring of the Barrier Effect of the Wild Boar Fence. *Journal of forest and environmental science*, *38*(2), 128-132.
13. Olejarz A., Augustsson E., Kjellander P., Ježek M., Podgórski T. (2024). Experience shapes wild boar spatial response to drive hunts. *Scientific Reports* 14:19930
14. Vitale, N., Barzanti, P., Maria, I. C., Desiato, R., Guardone, L., Listorti, V., Ru, G. (2024). Measuring transboundary disease spread-ASF in wild boars straddling Piedmont and Liguria. *Microbial Risk Analysis*, *27*, 100329.

PESTE SUINA AFRICANA IN LOMBARDIA COMPRENDERNE LE ORIGINI PER COMBATTERNE LA DIFFUSIONE

BELLINI S.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia ed Emilia-Romagna (IZSLER)

Nel periodo 2023 - 2024 la Lombardia è stata interessata da due epidemie di Peste suina africana (PSA) nei suini domestici. La prima si è verificata in provincia di Pavia e si è conclusa in poco più di un mese di attività con 9 focolai. La seconda epidemia invece è stata caratterizzata da una più ampia diffusione dell'infezione che ha interessato, al confine con Pavia, anche le provincie di Lodi e Milano.

In totale, nel biennio 2023-2024, sono stati individuati 30 focolai nei suini domestici: 19 in allevamenti da riproduzione e 11 in allevamenti da ingrasso. Il numero medio di capi negli allevamenti da ingrasso è stato di 4336 (min = 122, max = 12548), mentre in quelli da riproduzione di 2805 (min = 4, max = 19615). In entrambi i periodi il picco epidemico è stato registrato alla fine di agosto.

I primi focolai delle due epidemie hanno avuto caratteristiche simili. In entrambi i casi è probabile che l'infezione sia stata introdotta dai selvatici e, a loro volta, non hanno dato origine a focolai secondari. Nel 2023 un ruolo centrale nella diffusione dell'infezione è stato svolto dal secondo focolaio individuato, verificatosi nel comune di Zinasco (PV) che ha determinato, direttamente o indirettamente, l'insorgenza dei focolai successivi. La maggior parte dei quali si è verificata in un'area ristretta (3.4 Km2), quelli individuati fuori da questa area erano correlati epidemiologicamente con i focolai interni all'area. Il primo focolaio del 2024, probabilmente, in termini temporali, non è stato il primo della seconda epidemia. In base alle lesioni riscontrate, il primo del 2024 dovrebbe essere il quarto focolaio notificato. Questo allevamento sembra avere avuto un ruolo importante nella diffusione dell'infezione, potrebbe aver determinato il passaggio dell'infezione ad allevamenti della filiera, dove poi l'infezione è diffusa tra allevamenti della filiera stessa. Ad oggi, in alcune zone delle province di Pavia e Lodi, colpite da PSA nei suini domestici, la malattia non è mai stata identificata nei cinghiali.

Nella maggior parte dei focolai di PSA lombardi sono state individuate le possibili vie di infezione, che è essenziale per arrestarne la diffusione. I risultati delle indagini hanno evidenziato che durante il periodo a rischio alcuni focolai sono stati esposti a diverse possibili vie di trasmissione e non sempre è stato possibile individuare quella efficace nella trasmissione dell'infezione. Circa il 50% dei focolai, il 70% nel secondo periodo epidemico, si è verificato in allevamenti che facevano parte della filiera, che normalmente significa avere una fonte comune di suinetti e materiale genetico, la stessa fornitura di mangime, condividere veicoli, macelli, personale tecnico e veterinari. I fattori citati, in caso di introduzione di un agente patogeno, possono facilitarne la trasmissione e questo indipendentemente dalla malattia e dalla specie animale coinvolta. Nel 2023 attraverso le indagini epidemiologiche sono stati rintracciati 127 allevamenti per contatti con allevamenti infetti nel periodo a rischio, nel 2024 ne sono stati tracciati 543. Tutti questi allevamenti sono stati sottoposti a restrizioni e controllati per escludere la presenza della PSA. Il movimento dei veicoli (carico di suini, mangime, siero di latte, suini morti) è stata la via di trasmissione più frequentemente tracciata, rappresentando il 77,2% dei tracciamenti nel 2024.

Il 40% dei focolai si sono verificati nella zona di protezione di focolai precedenti. La trasmissione dell'infezione tra allevamenti vicini è una modalità di diffusione abbastanza nota per le malattie epidemiche, soprattutto quando si verificano in aree densamente popolate. Nel 2024, i primi cinque focolai si sono verificati in un'area interessata dalla PSA nel 2023, dove probabilmente la densità di popolazione nel 2024 non era sufficiente a supportare la trasmissione dell'infezione per prossimità, visto che gli allevamenti colpiti nel 2023 non erano stati ripopolati e quindi la densità di suini era bassa; nelle zone di sorveglianza dei primi cinque focolai, il numero mediano di suini per km2 era di 21. L'aggregazione di focolai di PSA è stata identificata nella seconda parte dell'epidemia 2024, quando la malattia ha interessato per la prima volta l'area di confine con le provincie di Pavia e Lodi, dove la densità di suini era più elevata (268,2 suini per km2).

Per quanto riguarda la biosicurezza, in generale si può dire che il livello di applicazione della biosicurezza nei focolai è stato vario, migliore negli allevamenti più industriali, meno in quelli più piccoli. Un elemento di rischio emerso in tutti i focolai è l'ubicazione del punto di disinfezione, che in tutti i focolai è stato posto all'interno dell'allevamento, anche se al di fuori dell'area strettamente dedicata all'allevamento dei suini (la cosiddetta zona pulita). Ciò è consentito dalla normativa vigente ma per essere efficace richiede la costante e corretta applicazione delle procedure di pulizia e disinfezione di tutti i veicoli o attrezzi introdotti in azienda, compresi i veicoli utilizzati per i lavori agricoli, che nella maggior parte dei casi erano tenuti in azienda. In generale, la commistione di diverse attività agricole nella stessa struttura rende più difficile mantenere efficacemente il sistema di biosicurezza aziendale.

Vale la pena ricordare che la presenza della PSA nei suini domestici in Lombardia ha determinato importanti ripercussioni economiche per l'intero settore suinicolo, dirette e indirette. In entrambe le epidemie l'infezione è stata debellata rapidamente nei suini, ma continua a persiste nei cinghiali e questo rappresenta una minaccia costante per l'intero comparto suinicolo.

IN ATTESA DEL VACCINO, LA PREVENZIONE PRIMARIA È L'UNICA ARMA DISPONIBILE PER CONTRASTARE LA PESTE SUINA AFRICANA

FELIZIANI F., BEATO M. S., MONTAGNIN C., ISCARO C.

Laboratorio di Riferimento Nazionale per lo studio dei Pestivirus e Asfivirus
Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati"

La Peste Suina Africana (PSA) è una malattia virale altamente contagiosa che colpisce i suini domestici e selvatici, causando gravi perdite economiche e problemi di sanità animale. Poiché non esiste ancora un vaccino efficace e disponibile su larga scala, la prevenzione si basa esclusivamente su rigorose misure di biosicurezza e igiene.

In ambito zootecnico, l'uso corretto di disinfettanti è fondamentale per ridurre il rischio di introduzione/diffusione del virus. È quindi essenziale adottare protocolli di pulizia frequenti e accurati, con particolare attenzione ai punti critici come stalle, veicoli, strumenti di lavoro e indumenti utilizzati dagli operatori. Tra i disinfettanti più efficaci ricordiamo quelli a base di ipoclorito di sodio, perossido di idrogeno, composti fenolici e sali di ammonio quaternario, che devono essere applicati su attrezzature, veicoli e ambienti frequentati dagli animali (vedi Manuale Operativo Pesti Suine (https://www.izsum.it/area_letturaActPro/160/pagsistema.html).

Per blindare gli allevamenti non basta predisporre solide strutture di separazione con l'esterno, ma serve anche erigere delle barriere gestionali e funzionali. Oltre alla disinfezione, altre misure di igiene imprescindibili includono la restrizione degli accessi agli allevamenti, la quarantena per nuovi animali introdotti, la disinfezione obbligatoria di veicoli e materiali in entrata e uscita, e il corretto smaltimento delle carcasse infette. Nell'evoluzione epidemiologica della PSA in Italia e in Europa, un ruolo chiave è stato svolto dai cinghiali selvatici, che rappresentano un importante serbatoio della malattia e ne facilitano la diffusione, ma non si deve dimenticare che il fattore umano rappresenta il veicolo più importante del virus.

Per quanto riguarda lo sviluppo di vaccini, la ricerca sta facendo progressi, ma permangono numerose criticità ancora irrisolte. Il virus della PSA è complesso e induce una reazione immunitaria che non prevede anticorpi neutralizzanti utili a bloccare l'infezione, rendendo difficile la creazione di un vaccino sicuro ed efficace. Le strategie più promettenti includono l'uso di virus attenuati, geneticamente modificati e di vettori virali, alcuni dei quali hanno mostrato risultati incoraggianti in studi preclinici e sperimentazioni su piccoli gruppi di suini. Tuttavia, prima di una commercializzazione su larga scala, è necessario garantire che i vaccini non causino effetti collaterali e forniscano un'immunità duratura senza rischi di diffusione del virus vivo attenuato. Senza conoscere le caratteristiche di somministrazione ed efficacia del vaccino è anche difficile ipotizzare le migliori strategie da applicare qualora questo strumento fosse disponibile.

Nel frattempo, la prevenzione attraverso misure di biosicurezza rigorose resta l'unico strumento realmente efficace per contenere la diffusione della PSA e proteggere gli allevamenti suinicoli.

COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE

MICOPLASMOSI DEL SUINO: STUDIO LONGITUDINALE PER LA RILEVAZIONE *IN VIVO* DI *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE* E *MYCOPLASMA HYORHINIS* ATTRAVERSO UN SISTEMA DI CAMPIONAMENTO NON INVASIVO (*EASY COLLECTION SAMPLING*)

SWINE MYCOPLASMOSIS: LONGITUDINAL STUDY FOR THE LIVE DETECTION OF MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE AND MYCOPLASMA HYORHINIS THROUGH THE USE OF A NON-INVASIVE SAMPLING SYSTEM (EASY COLLECTION SAMPLING)

RINALDI E.[1], GASTALDELLI M.[1], MORALES A.[1], PRATAVIERA D.[1], TARGHETTA C.[2], ZANON C.[2], USTULIN M.[2], VIO D.[2], MERENDA M.[1]

[1] Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Sezione Territoriale di Verona, Laboratorio di Diagnostica Clinica e Sierologia di Piano, U.O. Micoplasmi, Buttapietra (VR);
[2] Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Sezione Territoriale di Pordenone, Laboratorio di Patologia e Benessere della Specie Suina, Cordenons (PN)

Parole chiave: *Mycoplasma hyorhinis*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, campionamento non invasivo (ECS)
Key words: *Mycoplasma hyorhinis*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, Easy Collection Sampling (ECS)

Riassunto
Il presente studio ha l'obiettivo di valutare le potenzialità di utilizzo di campionamenti non invasivi, *Easy Collection Sampling* (ECS), nei vari settori dell'allevamento suino, per l'identificazione di *Mycoplasma hyorhinis* (MHR) e *Mycoplasma hyopneumoniae* (MHP). Sono stati analizzati 590 fluidi orali (OF), 63 emosieri testicolari (EST) e 51 invogli fetali (IF), oltre a 271 polmoni, provenienti da 4 allevamenti con diversi sistemi gestionali e con un'anamnesi pregressa di micoplasmosi. È stato osservato un elevato numero di OF positivi per MHR nel settore svezzamento e magronaggio/ingrasso ed un significativo aumento di OF positivi per MHP nella fase di magronaggio/ingrasso, in linea sia con l'epidemiologia dei patogeni considerati che con il *trend* osservato nelle matrici classiche. Interessante e meritevole di futuro approfondimento il riscontro di positività negli EST, sia per MHR che per MHP in due aziende. Al contrario, gli IF non rappresentano una matrice idonea per i l monitoraggio dei micoplasmi, dato il riscontro di una unica positività per MHR. Il sistema ECS messo a punto permette di coniugare semplicità di campionamento e riduzione dei tempi/costi di prelievo, offrendo ai colleghi di campo una semplice e valida possibilità di monitoraggio delle micoplasmosi. Tale sistema è peraltro facilmente modulabile attraverso la variazione del numero di corde/emosieri testicolari e della frequenza di campionamento, in funzione del quesito diagnostico e della prevalenza attesa.

Abstract
The aim of this study is to evaluate the potential use of non-invasive sampling (Easy Collection Sampling, ECS) in different pig farming sectors for the identification of *Mycoplasma hyorhinis* (MHR) and *Mycoplasma hyopneumoniae* (MHP). 590 oral fluids (OF), 63 processing fluids (EST) and 51 fetal envelops (IF) were analyzed, as well as 271 lungs (classical samples) from 4 farms with different management systems and with a previous history of mycoplasmosis. A high number of MHR-positive OF samples was observed in weaning and growing/finishing phases and a significant increase in MHP-positive samples in growing/finishing pigs, in agreement both with the epidemiology of these pathogens and the trend observed in classical samples. The

finding of positivity in EST, both for MHR and MHP in two farms, is interesting and worthy of future study. On the contrary, IF showed to be less effective in detecting mycoplasmas, following the observation of only one positive result for MHR. The ECS system allows to combine simplicity of sampling and reduction of sampling times/costs, offering field colleagues a simple and valid possibility of monitoring/controlling mycoplasmosis. This system is also easily modulated by varying the number of OF/processing fluids and the sampling frequency, depending on the diagnostic question and the expected prevalence.

INTRODUZIONE

I micoplasmi sono responsabili di ingenti perdite economiche nell'allevamento suino, determinando forme croniche e predisponendo ad infezioni secondarie con conseguente impatto sull'uso di antimicrobici (Maes, et al. 2017) e sulla possibile insorgenza di fenomeni di resistenza. In particolare *Mycoplasma hyopneumoniae*,(MHP) è agente della polmonite enzootica (EP) e patogeno primario nella PRDC (*Porcine Respiratory Disease Complex*) (Sibila, et al. 2009), mentre *Mycoplasma hyorhinis* (MHR), è causa di polisierosite e artrite nella fase di svezzamento (Friis e Feenstra 1994). La diagnosi di MHP si basa sul riscontro delle lesioni anatomopatologiche e sul riscontro di positività con metodiche biomolecolari o microbiologiche. La diffusione del patogeno nel gruppo viene normalmente valutata tramite l'esecuzione dello *score* polmonare al macello, ma tale approccio presenta un largo ritardo diagnostico rispetto all'insorgenza della problematica in azienda. La diagnosi in vivo d'altra parte richiede il contenimento degli animali, risultando quindi stressante per gli animali stessi nonché pericolosa per gli operatori. La diagnosi sierologica risente della lenta diffusione dell'infezione e non permette la differenziazione tra soggetti vaccinati e infetti (Friis e Feenstra 1994, Ameri-Mahabadi, Zhou e Hsu 2005). Metodiche di campionamento non invasive (*Easy Collection Sampling*, ECS) quali la raccolta dei fluidi orali (OF) e degli emosieri testicolari (EST) sono già utilizzate nell'allevamento suino per il monitoraggio delle forme virali, quali PRRS e PCV2 (Turlewicz-Podbielska, Włodarek e Pomorska-Mól 2020); risulta quindi importante valutarne le condizioni di utilizzo anche nel campo della diagnosi delle micoplasmosi. Dati bibliografici confermano la validità strategica degli OF per la ricerca dei micoplasmi patogeni del suino (Hernandez-Garcia, et al. 2017, Vilalta, et al. 2019); MHP è stato inoltre riscontrato per la prima volta in EST da Vilalta *et al.* nel 2019 (Vilalta, et al. 2019) mentre MHR è stato rilevato in scoli vaginali di scrofa (Ustulin, et al. 15-16/03/2018) a testimonianza di una possibile eliminazione attraverso l'apparato riproduttore, in analogia con altri micoplasmi. L'obiettivo del presente studio è stato quindi quello di valutare le potenzialità e l'efficacia del campionamento di fluidi orali (OF), emosieri testicolari (EST) ed invogli fetali (IF) nelle varie fasi di allevamento (gestazione, sala parto, svezzamento, magronaggio-ingrasso) al fine di fornire uno strumento semplice ed efficace per il monitoraggio delle micoplasmosi e creare i presupposti per una efficace gestione e controllo di tali infezioni croniche nell'allevamento suino.

MATERIALE E METODI

Selezione degli allevamenti e raccolta dati

Sono stati selezionati 4 allevamenti da riproduzione, 2 in provincia di Pordenone e 2 in provincia di Verona, nei quali fosse presente una anamnesi remota di patologie sostenute da MHP e/o MHR. Di questi allevamenti 2 hanno una gestione a ciclo chiuso, 1 è una azienda multisito ed una a ciclo aperto. Tutti gli allevamenti sono stati visitati almeno una volta in occasione del primo campionamento delle matrici ECS. In tale occasione sono state raccolte informazioni sia di tipo strutturale (organizzazione delle fasi di allevamento, densità degli animali, gestione a bande) che di tipo sanitario (piani vaccinali, utilizzo del farmaco), al fine di valutare, in fase di elaborazione dei dati, eventuali correlazioni tra la positività dei campionamenti ECS, la fase produttiva, la tipologia di allevamento e le altre variabili indagate. Tutti i campionamenti sono stati effettuati tra aprile 2023 e agosto 2024.

Campionamento matrici ECS
Per la raccolta dei fluidi orali sono stati utilizzati kit autoprodotti utilizzando corde di cotone ritorto con 4 capi, non trattato.
Il campionamento di matrici ECS è stato effettuato tre volte, secondo modalità e tempistiche illustrate in **Tabella 1.** Il numero di campioni raccolti è stato definito al fine di garantire la presenza di almeno un campione positivo con una probabilità superiore al 95%, assumendo per tutti i casi il seguente *worst case scenario*: prevalenza del 10%, box/gruppi di animali da 6 unità e sensibilità della PCR al 90%.

Categoria	**Fase**	**Momento di prelievo**	**Matrice**	**Numerosità Campionaria**
Scrofe	Gestazione in box	Ultimo terzo di gestazione	OF	1 campione per box fino a un massimo di 15 campioni
Scrofe	Sala Parto	Al parto	IF	1 pool per sala parto fino a un massimo di 15 campioni
Suinetti	Sottoscrofa	Alla castrazione	EST	1 pool per sala parto fino a un massimo di 15 campioni
Suinetti	Svezzamento	Inizio, metà, fine	OF	1 campione per box fino a un massimo di 15 campioni
Suini	Magronaggio	Inizio, metà, fine	OF	1 campione per box fino a un massimo di 15 campioni
Suini	Ingrasso	Inizio, metà, fine	OF	1 campione per box fino a un massimo di 15 campioni

Tabella 1. Organizzazione del campionamento ECS
Table 1. *ECS sampling plan*

Campionamento matrici "classiche"
Il monitoraggio di MHR e MHP con matrici "classiche" è stato svolto secondo il seguente schema:
- ✓ Scrofe riformate: campionamento minimo di 10 polmoni al macello;
- ✓ Suini deceduti nelle fasi:
  - "sottoscrofa": campionamento minimo di 30 soggetti deceduti. Sulla base di una prevalenza attesa di MHP e MHR del 10% in tale settore, tale numerosità permette di rilevare almeno un soggetto positivo con probabilità maggiore al 95%;
  - "svezzamento": campionamento minimo di 30 soggetti deceduti. Sulla base di una prevalenza attesa di MHP e MHR del 10% in tale settore, tale numerosità permette di rilevare almeno un soggetto positivo con probabilità maggiore al 95%;
- ✓ Suini grassi: campionamento minimo di 10 polmoni al macello. Sulla base di una prevalenza attesa del 30% in tale settore, tale numerosità permette di rilevare almeno un soggetto positivo con probabilità maggiore al 95%.

I prelievi effettuati al macello (scrofe da riforma e suini grassi) hanno riguardato i primi 10 soggetti della partita macellata.

Analisi di laboratorio ed elaborazione dati
Le matrici ECS sono state analizzate per la ricerca di MHP e MHR mediante Real Time PCR multiplex con controllo interno (18S eucariotico) che identifica le sequenze che appartengono al gene 16S per MHR e al gene p102 per MHP (Ustulin, et al. 15-16/03/2018).
I polmoni sono stati sottoposti ad esame anatomopatologico e quindi alla ricerca di MHR e MHP con la medesima metodica. Le analisi sono state eseguite in pool di massimo 5 campioni.

Le analisi statistiche sono state condotte con il software R (Team 2023). Gli intervalli di confidenza della percentuale di OF positivi sono stati calcolati assumendo una distribuzione binomiale o quasi-binomiale, a seconda del livello di dispersione dei dati tra i 3 prelievi effettuati. Nel caso di frequenze medie pari a 0 o 100%, gli intervalli di confidenza sono stati approssimati tramite il profilo della statistica del test del rapporto di verosomiglianza (pacchetto *binom* (Dorai-Raj 2022)).

RISULTATI

Analisi di laboratorio su matrici "ECS"
Sono stati analizzati 590 OF, 63 EST e 51 IF. I risultati sono riassunti nelle tabelle sottostanti (**Tabella 2**, **Tabella 3**).

	Prelievo	OF scrofe gestazione		OF Suinetti Svezzamento		OF Suini Magronaggio / Ingrasso	
		# campioni	# pos MHR / MHP	# campioni	# pos MHR / MHP	# campioni	# pos MHR / MHP
A	I	7	7 / 0	15	15 / 0	15	15 / 15
	II	8	6 / 3	15	15 / 1	15	15 / 13
	III	7	5 / 0	15	15 / 0	15	15 / 11
B	I	13	5 / 3	15	15 / 1	30	30 / 14
	II	10	0 / 2	10	10 / 1	12	12 / 10
	III	14	1 / 0	12	12 / 0	15	15 / 7
C	I	13	0 / 0	15	11 / 0	28	28 / 16
	II	15	1 / 0	15	15 / 2	30	29 / 13
	III	16	2 / 0	13	13 / 0	29	29 / 12
D	I	13	6 / 1	14	14 / 0	30	29 / 0
	II	12	2 / 1	14	14 / 0	30	30 / 0
	III	15	3 / 0	15	15 / 0	30	30 / 2

Tabella 2. Risultati real-time PCR per MHR e MHP in fluidi orali (OF)
Table 2. *Results of MHR/MHP realt-time PCR in oral fluids (OF)*

	Invogli fetali	Emosieri testicolari
A	10 pool # pos: 0 MHR / 0 MHP	11 pool # pos: 0 MHR / 0 MHP
B	34 pool # pos: 0 MHR / 0 MHP	33 pool # pos: 0 MHR / 0 MHP
C	3 pool # pos: 1 MHR / 0 MHP	10 pool # pos: 8 MHR / 4 MHP
D	4 pool # pos: 0 MHR / 0 MHP	9 pool # pos: 9 MHR / 8 MHP

Tabella 3. Risultati real-time PCR per MHR e MHP in invogli fetali (IF) ed emosieri testicolari (EST)
Table 3. *Results of MHR/MHP real-time PCR in fetal envelops (IF) and processing fluids (EST)*

Sono risultati positivi per *M. hyorhinis* 38 OF da scrofe in gestazione e quasi la totalità degli OF raccolti in fase di svezzamento e magronaggio/ingrasso. Solo 4 campioni sono risultati negativi nell'allevamento C in fase di svezzamento e 1 campione ciascuno sia nell'allevamento C che nell'allevamento D in fase magronaggio/ingrasso. Per quanto riguarda *M. hyopneumoniae*, sono state riscontrate 10 positività nelle scrofe in gestazione, 5 positività nei suini in svezzamento e 113 positività nei suini della categoria magronaggio/ingrasso.
L'analisi degli invogli fetali (IF) ha evidenziato un'unica positività nei confronti di MHR nell'allevamento C e nessuna per MHP. Sono stati rilevati inoltre 17 emosieri testicolari (EST) positivi per MHR e 12 EST positivi per MHP.

Analisi di laboratorio su matrici "classiche"
L'esame anatomopatologico effettuato sui polmoni prelevati al macello (scrofe e suini grassi), ha evidenziato lesioni compatibili con polmonite enzootica (EP) in 11 scrofe e 11 suini grassi, con quadri di broncopolmonite catarrale a localizzazione antero-ventrale che coinvolgevano principalmente i lobi apicale, medio e cardiaco, talvolta in associazione ad esiti di pleuriti fibrino-adesive.

Sono stati analizzati in pool i polmoni di 64 scrofe, 34 suinetti sottoscrofa, 63 suinetti in svezzamento e 65 suini in categoria magronaggio-ingrasso.

I risultati sono riassunti nella **Tabella 4**.

	Scrofe gestazione	Suinetti sottoscrofa	Suinetti svezzamento	Suini ingrasso
A	14 soggetti 3 pool # pos: 0 MHR / 2 MHP	20 soggetti 5 pool # pos: 1 MHR / 2 MHP	27 soggetti 10 pool # pos: 8 MHR / 2 MHP	10 soggetti 2 pool # pos: 1 MHR / 2 MHP
B	10 soggetti 2 pool # pos: 0 MHR / 0 MHP	14 soggetti 4 pool # pos: 0 MHR / 0 MHP	19 soggetti 5 pool # pos: 5 MHR / 1 MHP	10 soggetti 4 pool # pos: 0 MHR / 2 MHP
C	20 soggetti 4 pool # pos: 0 MHR / 1 MHP	non determinato	6 soggetti 3 pool # pos: 1 MHR / 0 MHP	25 soggetti 8 pool # pos: 0 MHR / 8 MHP
D	20 soggetti 4 pool # pos: 0 MHR / 3 MHP	non determinato	17 soggetti 13 pool # pos: 10 MHR / 1 MHP	20 soggetti 3 pool # pos: 2 MHR / 0 MHP

Tabella 4. Risultati real-time PCR per MHR e MHP in matrici "classiche"
Table 4. *Results of MHR/MHP real-time PCR in "classical" samples*

Analisi dei dati

I risultati ottenuti sono stati analizzati con la finalità di esplorare le performance di rilevazione di MHR e MHP mediante ECS, in funzione della prevalenza attesa e del numero di campionamenti eseguiti nelle diverse fasi oggetto di studio. Sono state calcolate le percentuali medie di positività dei pool di OF analizzati per MHR e MHP nelle diverse categorie produttive e, in seguito, analizzati i cicli soglia (Ct) medi osservati negli OF risultati positivi nelle diverse categorie produttive **(Figure 1 e 2)**.

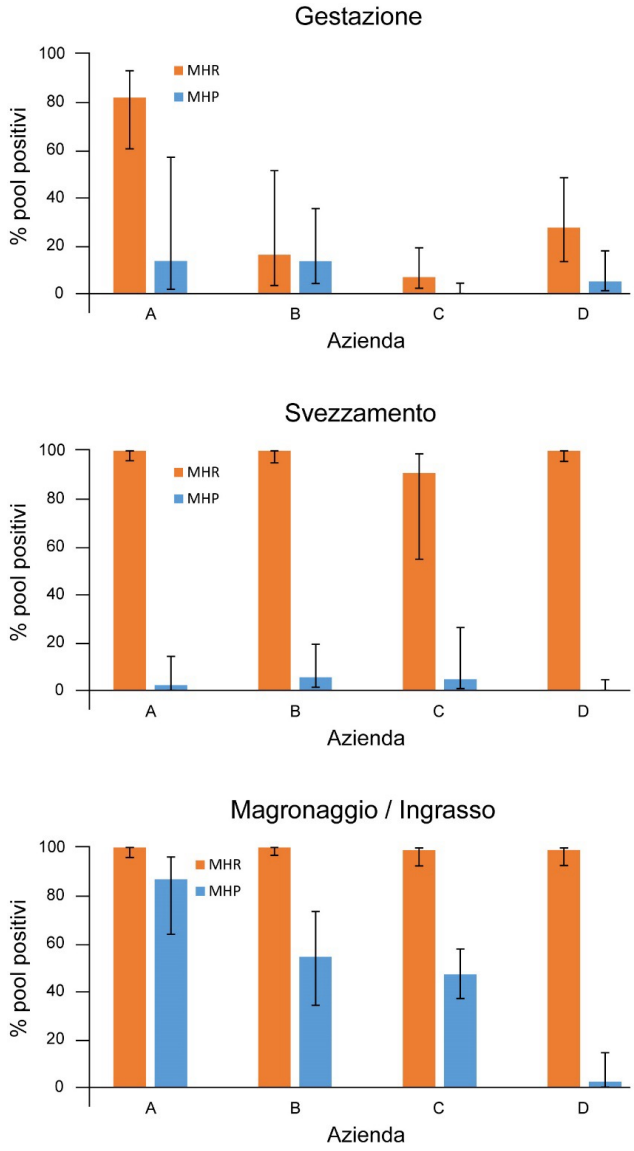


Figura 1. Percentuali di positività per MHR e MHP negli OF.
Le barre degli errori rappresentano gli intervalli di confidenza al 95% di ciascun gruppo di dati.
Figure 1. *Percentage of positivity for MHR and MHP in OF.*
Error bars represent the 95% confidence intervals related to each data group.

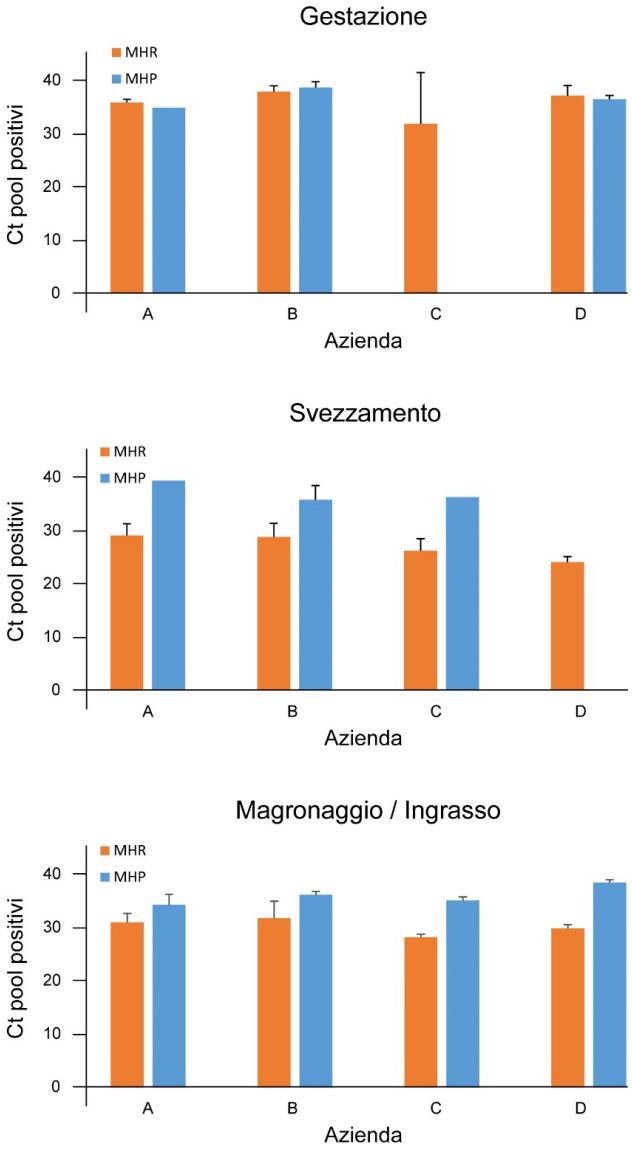


Figura 2. Analisi dei Ct medi osservati negli OF MHR e MHP positivi.
Le barre degli errori rappresentano la deviazione standard di ciascun gruppo di dati.
Figure 2. *Analysis of average Ct observed in MHR and MHP positive OF.*
Error bars represent the standard deviation of each data group.

DISCUSSIONE

Il lavoro ha lo scopo di valutare le potenzialità di utilizzo di campionamenti non invasivi, *Easy Collection Sampling* (ECS), per indagare la presenza di MHP e MHR nel settore suinicolo italiano, al fine di fornire uno strumento semplice e facilmente applicabile per il monitoraggio dei micoplasmi durante le diverse fasi produttive del ciclo, e che nel contempo riesca a ridurre il ritardo diagnostico attualmente presente, in particolar modo per MHP.

I risultati ottenuti hanno evidenziato un elevato numero di OF positivi per MHR in particolare nelle categorie "suinetti svezzati" e "suini magronaggio-ingrasso" a conferma della sua larga diffusione come commensale nelle alte vie respiratorie del suino (Friis e Feenstra 1994). I fluidi orali sono costituiti infatti da secrezioni delle ghiandole salivari ma anche da secrezioni nasali, espettorato bronchiale, nonché da componenti ematiche derivanti da piccole ferite buccali, flora microbica orale, cellule di esfoliazione e detriti di origine alimentare.

A fronte di una differenza nella percentuale di pool di OF positivi tra le diverse aziende nel settore "scrofe in gestazione" (azienda A e aziende B, C e D), non si osservano differenze nella percentuale di positività nei "suinetti in svezzamento", che si attestano in tutte le aziende su valori superiori al 90%. Questo dato, già descritto da Clavijo *et al.* nel 2017 (Clavijo, et al. 2017) era stato riportato anche nei risultati di recenti studi (Ustulin, et al. 15-16/03/2018), in cui l'analisi sui tamponi nasali aveva evidenziato una diffusione di MHR tra i suinetti molto rapida, con percentuali di positività superiori al 90% entro i 30 giorni di età, anche a fronte di un numero di scrofe portatrici limitato. Per quanto riguarda la quantità di MHR osservata nei fluidi orali analizzati si evidenzia un significativo ($p < 0.0001$) abbassamento dei valori medi di ciclo soglia (Ct) della realtime PCR nel passaggio dalla fase di gestazione a quella di svezzamento in tutte le aziende, a testimonianza di una maggiore circolazione di MHR nella fase svezzamento, dove lo stesso manifesta la sua maggiore patogenicità. Nelle fasi di crescita successive si osserva un significativo ($p < 0.0001$) aumento dei valori di Ct nella categoria magronaggio/ingrasso, con valori inferiori a quelli osservati negli OF prelevati dalle scrofe in gestazione. Tale riscontro è supportato anche dai risultati della ricerca di MHR sulle matrici classiche: nei 13 pool di polmoni afferenti alla categoria delle scrofe riformate non è stata infatti rilevata nessuna positività, mentre il 77% dei pool provenienti dai suinetti in svezzamento è risultato positivo. Questi dati dimostrano che l'analisi degli OF permette di rilevare l'eventuale presenza di MHR nella fase di svezzamento evitando tipologie di prelievo più invasive nei soggetti vivi (lavaggi tracheobronchiali o tamponi nasali profondi) oppure prelievi su soggetti deceduti che comportano comunque attività più complesse (necroscopia/prelievo di organi target). Nel settore magronaggio/ingrasso, la percentuale di pool di polmoni positivi per MHR si riduce attestandosi su 3 pool positivi sui 17 analizzati: tale dato è concorde con quanto già evidenziato da altri autori in relazione alla elevata diffusione di MHR nei soggetti giovani a fronte di una riduzione all'aumentare dell'età.

Per quanto riguarda MHP negli OF abbiamo osservato andamenti diversi sia tra le categorie produttive che tra i diversi allevamenti. Nonostante la carica di MHP osservata in questa tipologia di campioni si attesti sempre su valori al limite della rilevazione (Ct elevati), si osserva un significativo ($p < 0.0001$) aumento nel numero di OF positivi nella fase di magronaggio/ingrasso, dato in linea con gli studi epidemiologici su questo patogeno la cui presenza risulta maggiormente frequente in tale fase produttiva. L'azienda D, l'unica tra le 4 aziende oggetto di studio a ciclo aperto, presenta un andamento differente dalle altre 3 aziende. In questo allevamento, in cui i suinetti vengono vaccinati per MHP all'età di 7 e 28 giorni, è stata evidenziata una bassa prevalenza di MHP sia da campioni di OF che dai polmoni, a fronte della positività di alcuni campioni di emosieri testicolari, indice della presenza di scrofe portatrici. Si ipotizza quindi che l'uscita dei soggetti a fine svezzamento,

fase in cui generalmente MHP non ha raggiunto la massima diffusione nei gruppi, sia in grado di ridurre la circolazione del batterio. Un limite relativo al campionamento effettuato è legato al fatto di aver incluso, sulla base della disponibilità a partecipare al progetto, una sola azienda da ingrasso rifornita dall'azienda D, ma si confida di poter colmare questo *gap* con successive osservazioni nel corso dell'attività diagnostica. Similmente a quanto osservato per MHR, il *trend* di positività per MHP osservato nei fluidi orali trova conferma nell'analisi delle matrici classiche. Infatti ad esclusione dell'azienda D, la percentuale dei polmoni positivi nei suini all'ingrasso si attesta su valori di circa l'86% contro il 17% di positività in svezzamento ed il 33% nelle scrofe gestanti. Tale dato testimonia l'utilità e l'efficacia degli OF nel monitoraggio di MHP in allevamento, permettendo di fare una stima di quanto osservabile a fine ciclo produttivo.
Per quanto riguarda gli EST, su un totale di 63 campioni testati abbiamo osservato 17 e 12 pool positivi per MHR e MHP rispettivamente. Il riscontro di positività negli EST non sorprende e concorda con quanto osservato per MHP da Vilalta *et al.* nel 2019 (Vilalta, et al. 2019). **È** interessante sottolineare che nel nostro studio le positività, sia per MHR che per MHP, sono state riscontrate in 2 sole aziende (C, D), mentre non abbiamo avuto alcuna positività nelle aziende A e B. Questa osservazione risulta apparentemente in contrasto con i risultati ottenuti analizzando gli OF nelle stesse scrofaie. Non è attualmente possibile avanzare ipotesi per spiegare tale riscontro ma è fondamentale evidenziare che l'insieme dei due sistemi di rilevazione in parallelo (OF in gestazione e EST in sala parto) ci ha permesso di ottenere il dato di nostro interesse e cioè la corretta classificazione dello status sanitario per le micoplasmosi in questa fase di allevamento. I risultati ottenuti fanno ipotizzare che la trasmissione dei micoplasmi dalla scrofa ai suinetti non avvenga solo tramite la via respiratoria/orale ma anche attraverso la trasmissione verticale, in utero, nelle ultime fasi della gravidanza e probabilmente in seguito a condizioni di diminuita reattività immunitaria; per la conferma di tale ipotesi sono necessari ulteriori studi con una base campionaria maggiore rispetto a quella del presente lavoro. I risultati di questo studio indicano che gli invogli fetali non rappresentano una matrice idonea per la rilevazione di MHP e MHR.

CONCLUSIONI

Il sistema *Easy Collection Sampling* per la rilevazione di MHR e MHP messo a punto nel presente studio permette di coniugare semplicità di campionamento e riduzione dei tempi/costi di prelievo con una valutazione delle condizioni di allevamento in tempo reale, offrendo ai colleghi di campo un nuovo, semplice e affidabile strumento di monitoraggio delle micoplasmosi.
Tale approccio sarà di ausilio nella comprensione della diffusione di MHR e MHP all'interno dell'allevamento e nella modulazione di piani vaccinali e misure di biosicurezza/*management* necessari per ridurre l'impatto negativo di tali patogeni sulle *performance* produttive, sull'utilizzo di antimicrobici e quindi sui costi di produzione.
Tenuto conto della sensibilità della rilevazione di MHP del sistema proposto, qualora vi sia la necessità di indagare più approfonditamente le dinamiche di infezione o di attestare l'assenza di circolazione di MHP in situazioni particolari quali, per esempio, la creazione di gruppi di scrofe MHP-*free*, sarà possibile modulare facilmente il campionamento attraverso la variazione del numero di corde/emosieri testicolari e della frequenza di campionamento, in funzione della prevalenza attesa.
Le attività descritte sono state svolte nell'ambito della Ricerca Corrente IZSVe 08/21 "Micoplasmosi del suino: studio longitudinale per la rilevazione in vivo di *Mycoplasma hyopneumoniae* e *Mycoplasma hyorhinis* attraverso un sistema di campionamento non invasivo (*Easy Collection Sampling*)" finanziata dal Ministero della Salute.

BIBLIOGRAFIA

1. Ameri-Mahabadi, M., E. Zhou, e W. H. Hsu. «Comparison of two swine Mycoplasma hyopneumoniae enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies from vaccinated pigs and field serum samples.» *J Vet Diagn Invest* 17 (2005): 61-64.
2. APSP, Silva, et al. «Effect of testing protocol and within-pen prevalence on the detection of Mycoplasma hyopneumoniae DNA in oral fluid samples.» *Prev Vet Med*, 2022.
3. Clavijo, MJ., D. Murray, S. Oliveira, e A. Rovira. «Infection dynamics of Mycoplasma hyorhinis in three commercial pig populations.» *Vet Rec.* 181, n. 3 (2017): 68.
4. Dorai-Raj, S. «"binom: Binomial Confidence Intervals for Several Parameterizations".» 2022. https://cran.r-project.org/package=binom.
5. Friis, NF, e AA Feenstra. «Mycoplasma hyorhinis in the etiology of serositis among piglets.» *Acta Vet Scand.* 35, n. 1 (1994): 93-8.
6. Hernandez-Garcia, J., et al. «The use of oral fluids to monitor key pathogens in porcine respiratory disease complex.» *Porcine Health Manag.* 3, n. 7 (2017).
7. Maes, D., M. Sibila, P. Kuhnert, J. Segalés, F. Haesebrouck, e M. Pieters. «Update on Mycoplasma hyopneumoniae infections in pigs: Knowledge gaps for improved disease control.» *Transbound Emerg Dis.*, 23 Aug 2017: 110-124.
8. Sibila, M., M. Pieters, T. Molitor, D. Maes, F. Haesebrouck, e J. Segalés. «Current perspectives on the diagnosis and epidemiology of Mycoplasma hyopneumoniae infection.» *Vet J.* 181, n. 3 (Sep 2009): 221-3.
9. Team, R Core. *R: A Language and Environment for Statistical Computing.* 2023. https://www.r-project.org/.
10. Turlewicz-Podbielska, H., J. Włodarek, e M. Pomorska-Mól. «Noninvasive strategies for surveillance of swine viral diseases: a review.» *Vet Diagn Invest.* 32, n. 4 (2020): 503-512.
11. Ustulin, M., et al. «Studio sulla trasmissione di Mycoplasma hyorhinis in suinetti sottoscrofa in due allevamenti a ciclo studio.» *Atti della Società Italiana di Patologia ed Allevamento dei Suini - XLIV Meeting Annuale.* Centro Fiera del Garda - Montichiari (BS), 15-16/03/2018.
12. Vilalta, C., JM. Sanhueza, D. Murray, L. Johnson, e M. Pieters. «Detection of Mycoplasma hyopneumoniae in piglet processing fluids.» *Vet Rec.* 185, n. 16 (2019).

PROFILI DI DI SENSIBILITÀ AGLI ANTIMICROBICI IN CEPPI DI *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE E PASTEURELLA MULTICIDA* ISOLATI DA SUINI AFFETTI DA PRDC NEL PERIODO 2021-2024 IN IZSVE

ANTIBIOTIC SENSITIVITY PROFILES OF ACTINOBACILLUS PELUROPNEUMONIAE AND PASTEURELLA MULTICIDA STRAINS ISOLATED BETWEEN 2021 AND 2024 IN IZSVE FROM PRDC AFFECTED SWINE

USTULIN M.[1], TAGLIENTE D.[1], GHIRITI A.[1], CORDIOLI B.[2], MERENDA M.[3], ALESSANDRI G.[3], COCCHI M.[4], DEOTTO S.[4], VIO D.[1]

[1] *Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie - Sezione territoriale di Pordenone*
[2] *Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie - Sezione territoriale di Treviso*
[3] *Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie - Sezione territoriale di Verona*
[4] *Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie - Sezione territoriale di Udine*

Parole chiave: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, MIC
Keywords: *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida*, MIC

Riassunto

Il ricorso a presidi antimicrobici è generalmente necessario per la gestione delle patologie batteriche che rientrano nella PRDC. Un utilizzo razionale e prudente di tali presidi è essenziale per limitare la selezione di agenti batterici antibiotico-resistenti tutelando la salute pubblica e la salute animale.

Il costante monitoraggio dei profili di sensibilità agli antibiotici dei batteri che determinano patologia in allevamento è uno dei mezzi a disposizione per verificare e prevenire l'insorgenza di nuove resistenze.

Nel presente lavoro sono descritti i risultati dei dati di MIC raccolti in IZSVe dal 2021 al 2024 per ceppi di *Pasteurella multocida* e di *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolati da suini affetti da PRDC.

I dati raccolti mostrano una situazione in generale favorevole per *P. multocida* rispetto al pannello di antimicrobici testati, per la netta preponderanza di ceppi sensibili. Diversamente si segnalano alcune criticità per la presenza di ceppi di *A. pleuropneumoniae* multiresistenti.

Abstract

The use of antimicrobial agents is generally necessary for managing bacterial diseases that fall under PRDC. Proper and prudent use of these agents is essential to avoid the selection of antibiotic-resistant bacteria and protect public and animal health.Continuous monitoring of the antibiotic sensitivity profiles of the bacteria causing diseases in farms is one of the tools available to control and prevent the eventual emergence of new resistances.

This paper presents the results of MIC data collected at IZSVe from 2021 to 2024 for *Pasteurella multocida* and *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains collected from pigs affected with respiratory diseases.

The data collected show an overall favorable situation, particularly due to the clear predominance of *P. multocida* strains sensitive to the tested antimicrobials. On the other hand, a significant presence of multi-resistant *A. pleuropneumoniae* strains was registered.

INTRODUZIONE

Il complesso della patologia respiratoria del suino (PRDC) è un insieme di malattie di natura polifattoriale che include cause virali, batteriche, ambientali e manageriali.
Tra gli agenti patogeni batterici, primari e secondari, responsabili di PRDC, ritroviamo *Mycoplasma hyopneumoniae, Pasteurella multocida, Streptococcus suis, Haemophilus parasuis, Trueperella pyogenes, Actinobacillus pleuropneumoniae* (Opriessinig et al. 2011).
Il monitoraggio costante della sensibilità agli antimicrobici di ceppi batterici patogeni è essenziale non solo in un'ottica di salute e benessere degli animali ma soprattutto per garantire un utilizzo corretto e prudente dei presidi antibiotici e per tutelare la salute pubblica.
La sensibilità dei ceppi batterici isolati da campioni diagnostici nei confronti di determinati principi attivi, si può valutare *in vitro* attraverso la determinazione della Minima Concentrazione Inibente (MIC), dato quantitativo che permette di monitorare nel tempo l'andamento della sensibilità agli antimicrobici dei ceppi circolanti responsabili di malattia.
In questo studio sono stati valutati i dati di sensibilità agli antibiotici di due delle specie batteriche più frequentemente isolate in corso di PRDC, *A. pleuropneumoniae* e *P. multocida.*

MATERIALI E METODI

Lo studio ha coinvolto un totale di 264 ceppi di *P. multocida* e 106 ceppi di *A. pleuropneumoniae* isolati tra il 2021 e il 2024 nel Triveneto da suini affetti da PRDC. I ceppi analizzati sono stati isolati in corso di attività diagnostica routinaria da campioni conferiti per indagini batteriologiche e/o anatomo-patologiche e successivi approfondimenti.
L'identificazione di specie è stata eseguita attraverso l'applicazione test biochimici, spettrometria di massa (MALDI TOF) e protocolli di biologia molecolare.
La MIC è stata determinata utilizzando il metodo della microdiluizione in brodo utilizzando piastre commerciali (Thermo Scientific™ Sensititre™).
Per la preparazione dell'inoculo, è stata allestita una sospensione batterica a torbidità 0,5 McFarland. Successivamente 50 µL della sospensione se *P. multocida,* 50 µL se *A. pleuropneumoniae*, sono stati introdotti in 11 mL di idoneo terreno di coltura, ovvero Cation Adjusted Muller Hinton Broth (CAMHB) eventualmente addizionato con 2,5-5% di sangue lisato di cavallo (LHB) per *P. multocida* e Veterinary Fastidiuos Medium (VFM) per *A. pleuropneuomoniae*. 100 µL dell'inoculo così ottenuto sono stati quindi trasferiti in ciascun pozzetto di una piastra MIC e incubati a 34±1°C per 24 ore.
Si è infine proceduto a valutare in quali pozzetti si fosse verificata la crescita batterica registrando il valore di MIC come la più bassa concentrazione di antibiotico in cui non si è registrata crescita.
La sensibilità di entrambe le specie batteriche è stata testata nei confronti di 15 molecole ad attività antimicrobica. L'elenco delle molecole testate le relative concentrazioni sono dettagliate in tabella 1.

Sigla	Molecola	RANGE MIC µg/mL
AUG	Amoxicillina + Ac. Clavulanico	0,06/0,03 - 16/8
AMP	Ampicillina	0,015 - 16
XNL	Ceftiofur	0,06 - 8
ENRO	Enrofloxacin	0,03 - 2
FFN	Florfenicolo	0,25 - 8
FLUQ	Flumequine	2 - 16
GAM	Gamitromicina	2 - 16
KAN	Kanamicina	8 - 32
SPE	Spectinomicina	4 - 256
TET	Tetraciclina	0,12 - 16
TIA	Tiamulina	8 - 32
TIP	Tildipirosina	2 - 16
TIL	Tilmicosina	0,25 - 64
SXT	Trimethoprim + Sulfametossazolo	0,12/2,38 - 16/304
TUL	Tulatromicina	16 - 128

Tabella 1: Elenco degli antibiotici e relativi range di concentrazioni testati
Table1: List of antibiotics and dilution range tested

La classificazione dei ceppi testati come sensibile, intermedio o resistente è stata effettuata sulla base dei Break-Point (BP) CLSI (Methods for antimicrobial susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria isolated from animals. 1ed, 2017) quando disponibili. Per Flumequina, Kanamicina e Trimethoprim/Sulfametossazolo sono stati utilizzati i BP EUCAST (European Commettee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

RISULTATI
I valori di MIC degli antimicrobici testati sono riassunti in tabella 2 e 3. Laddove disponibili, i BP clinici sono indicati tramite linee verticali (CLSI, 2017, EUCAST, 20219). Una linea singola indica il cut-off tra sensibile-resistente, due linee mostrano i cut-off sensibile-intermedio-resistente.
I valori di MIC_{50} e MIC_{90} riscontrati nei ceppi in analisi sono riassunti in tabella 4 assieme a numero e percentuale di ceppi sensibili e intermedi ad ogni molecola testata.

¤	0,015¤	0,03¤	0,06¤	0,12¤	0,25¤	0,5¤	1¤	2¤	4¤	8¤	16¤	32¤	64¤	128¤	256¤	>256¤	¤
AUG¤	‰	‰	89¤	57¤	80¤	21¤	3¤	4¤	1¤	2¤	3¤	4¤	‰	‰	‰	‰	¤
AMP¤	4¤	35¤	72¤	77¤	41¤	10¤	3¤	4¤	2¤	1¤	4¤	11¤	‰	‰	‰	‰	¤
XNL¤	‰	‰	195¤	15¤	28¤	15¤	4¤	1¤	1¤	1¤	4¤	‰	‰	‰	‰	‰	¤
ENRO¤	‰	225¤	16¤	6¤	13¤	2¤	1¤	¤	1¤	‰	‰	‰	‰	‰	‰	‰	¤
FFN¤	‰	‰	‰	‰	135¤	98¤	24¤	2¤	1¤	1¤	3¤	‰	‰	‰	‰	‰	¤
FLUQ¤	‰	‰	‰	‰	‰	‰	‰	250¤	6¤	2¤	3¤	3¤	‰	‰	‰	‰	¤
GAM¤	‰	‰	‰	‰	‰	‰	‰	250¤	2¤	3¤	2¤	7¤	‰	‰	‰	‰	¤
KAN¤	‰	‰	‰	‰	‰	‰	‰	‰	‰	217¤	14¤	6¤	27¤	‰	‰	‰	¤
SPE¤	‰	‰	‰	‰	‰	‰	‰	‰	5¤	57¤	81¤	87¤	26¤	4¤	1¤	3¤	¤
TET¤	‰	‰	‰	22¤	53¤	64¤	34¤	12¤	4¤	20¤	37¤	18¤	‰	‰	‰	‰	¤
TIA¤	‰	‰	‰	‰	‰	‰	‰	‰	‰	91¤	93¤	65¤	15¤	‰	‰	‰	¤
TIP¤	‰	‰	‰	‰	‰	‰	‰	202¤	44¤	11¤	2¤	5¤	‰	‰	‰	‰	¤
TIL¤	‰	‰	‰	‰	¤	3¤	23¤	41¤	58¤	63¤	51¤	18¤	3¤	4¤	‰	‰	¤
SXT¤	‰	‰	‰	126¤	24¤	18¤	25¤	28¤	7¤	10¤	7¤	19¤	‰	‰	‰	‰	¤
TUL¤	‰	‰	‰	‰	‰	‰	‰	‰	‰	‰	248¤	6¤	4¤	3¤	3¤	‰	¤

Tabella 2. Distribuzione dei ceppi di *P. multocida* rispetto alle diverse concentrazioni di principio attivo testato (µg/ml). Le caselle bianche corrispondono alle concentrazioni di antimicrobico testate.
Table 2. Distribution of *P. multocida* strians according to the antibiotic concentration tested (µg/ml). White boxes correspond to the antimicrobial concentration tested.

¤	0,015¤	0,03¤	0,06¤	0,12¤	0,25¤	0,5¤	1¤	2¤	4¤	8¤	16¤	32¤	64¤	128¤	256¤	>256¤	¤
AUG¤	‰	‰	6¤	13¤	45¤	34¤	7¤	1¤	¤	¤	¤	¤	‰	‰	‰	‰	¤
AMP¤	2¤	15¤	9¤	39¤	18¤	2¤	0¤	0¤	2¤	4¤	6¤	22¤	‰	‰	‰	‰	¤
XNL¤	‰	96‰	2¤	3¤	5¤	¤	¤	¤	¤	¤	¤	¤	¤	¤	¤	¤	¤
ENRO¤	‰	69¤	24¤	4¤	4¤	3¤	2¤	¤	¤	¤	¤	¤	¤	¤	¤	¤	¤
FFN¤	‰	‰	‰	¤	84¤	7¤	1¤	4¤	3¤	6¤	1¤	¤	¤	¤	¤	¤	¤
FLUQ¤	‰	‰	‰	¤	¤	¤	¤	95¤	3¤	4¤	1¤	3¤	¤	¤	¤	¤	¤
GAM¤	‰	‰	‰	¤	¤	¤	¤	74¤	21¤	8¤	2¤	1¤	¤	¤	¤	¤	¤
KAN¤	‰	‰	‰	¤	¤	¤	¤	¤	¤	51¤	39¤	13¤	3¤	¤	¤	¤	¤
SPE¤	‰	‰	‰	¤	¤	¤	¤	¤	10¤	7¤	22¤	23¤	21¤	18¤	4¤	1¤	¤
TET¤	‰	‰	‰	29¤	17¤	26¤	5¤	4¤	5¤	12¤	7¤	1¤	¤	¤	¤	¤	¤
TIA¤	‰	‰	‰	‰	‰	¤	¤	¤	¤	74¤	23¤	8¤	1¤	¤	‰	‰	¤
TIP¤	‰	‰	‰	‰	‰	¤	¤	25¤	31¤	19¤	20¤	11¤	¤	¤	‰	‰	¤
TIL¤	‰	‰	‰	‰	2¤	2¤	¤	6¤	21¤	33¤	21¤	14¤	5¤	2¤	‰	‰	¤
SXT¤	¤	¤	¤	75¤	8¤	10¤	3¤	2¤	3¤	1¤	¤	¤	¤	¤	¤	¤	¤
TUL¤	‰	‰	‰	‰	‰	¤	¤	¤	¤	¤	47¤	21¤	11¤	18¤	93¤	‰	¤

Tabella 3: Distribuzione dei ceppi di *A. pleuropneumoniae* rispetto alle diverse concentrazioni di principio attivo testato (µg/ml). Le caselle bianche corrispondono alle concentrazioni di antimicrobico testate.
Table 3. Distribution of *A. pleuropneumoniae* strians according to the antibiotic concentration tested (µg/ml). White boxes correspond to the antimicrobial concentration tested.

Tabella 4: Distribuzione MIC_{50} e MIC_{90}, numero e percentuale dei ceppi sensibili e intermedi
Table 4: Distribution of MIC_{50} and MIC_{90} number and percentage of sensitive and intermediate

Principio attivo	PM						APP					
	MIC 50	MIC 90	N°ceppi S	% ceppi S	N°ceppi I	% ceppi I	MIC 50	MIC 90	N°ceppi S	% ceppi S	N° ceppi I	% ceppi I
AUG	0,12	2	47	85,6	2	8,0	0,25	0,5	64	60,4	34	32,1
AMP	0,12	0,5	239	90,5	3	1,1	0,25	>16	69	65,1		
XNL	≤0,06	0,25	258	97,7	1	0,4	≤0,06	≤0,06	101	95,3		
ENRO	≤0,03	0,06	260	98,5	2	0,8	≤0,03	0,12	101	95,3	3	2,8
FFN	≤0,25	1	259	98,1	1	0,4	≤0,25	2	96	90,6	3	2,8
FLUQ	≤2	≤2	256	97,0	2	0,8	≤2	≤2	98	92,5	4	3,8
GAM	≤2	≤2	252	95,5	3	1,1	≤2	4	95	89,6	8	7,5
KAN	≤8	>32	217	82,2	14	5,3	16	32	51	48,1	13	12,3
SPE	16	64	230	87,1	26	9,8	32	128	62	58,5	21	19,8
TET	0,5	16	139	52,7	34	12,9	0,5	8	72	67,9	5	4,7
TIA	16	32	184	69,7			≤8	16	97	91,5	5	4,7
TIP	2	4	246	93,2			4	16	95	89,6		
TIL	8	16	239	90,5			8	32	85	80,2		
SXT	0,25	8	221	83,7	7	2,7	≤0,12/ 2,38	0,5/9,5	98	96,1	4	3,9
TUL	≤16	≤16	248	93,9	6	2,3	32	128	79	74,5		

DISCUSSIONE

Il monitoraggio dei profili di sensibilità agli antimicrobici degli agenti patogeni circolanti in allevamento è essenziale non solo per ottimizzare la gestione terapeutica delle patologie di natura batterica, ma anche per ragioni di salute pubblica, limitando il rischio di trasmissione all'uomo di batteri portatori di geni di antibiotico-resistenza, anche considerando, come nel presente lavoro, batteri che non presentano carattere zoonosico.

L'analisi dei dati raccolti nel periodo 2021-2024 per *P. multocida* ha mostrato una situazione in generale favorevole, con una marcata preponderanza di ceppi sensibili agli antibiotici considerati (>80%), con l'eccezione di tetraciclina (57,2% di ceppi sensibili e 12,9% intermedi.) e tiamulina (69,7% di ceppi sensibili). Per la tiamulina in particolare, il dato è in contrasto con gli elevati livelli di sensibilità riscontrati da Somogyi *et al*. (2023) che ha evidenziato percentuali di sensibilità pari al 97,7%. Per tetraciclina, il risultato da noi ottenuto è paragonabile a quanto evidenziato da dati spagnoli che riscontravano il 60,8% dei ceppi sensibili (Vilarò *et al.*, 2020).

Va tenuto in considerazione che per nessuno degli antibiotici testati si è riscontrata sensibilità nella totalità dei ceppi analizzati, a differenza di altri studi. E' infatti riportata una sensibilità del 100% dei ceppi di *P. multocida* ad amoxicillina, enrofloxacina, florfenicolo e tulatromicina da Somogyi *et al.* (2023), a ceftiofur, florfenicolo e tulatromicina da Vilarò *et al,* (2020) ad e a ceftiofur (Cuevas *et al*., 2020; El Garch *et al*., 2016; Sweeney *et al*., 2017). I dati raccolti nel presente studio mostrano che, rispettivamente il 97,7% e lo 0,4% di ceppi sono sensibili e intermedi al ceftiofur, evidenziando la circolazione di una piccola percentuale di ceppi di *P. multocida* resistenti a cefalosporine di terza generazione, molecola inserita nella categoria B dell'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA) ("limitare") e categorizzata dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) tra gli *Highest Priority Critically*

Important Antimicrobials (HPCIA).
Valutando la distribuzione delle resistenze tra i ceppi di *P. multocida,* 149 dei 264 ceppi testati, sono resistenti ad almeno un principio attivo. Tra questi, 66 ceppi presentano resistenza ad un unico antibiotico, 35 risultano resistenti a 2 molecole, 18 sono resistenti a 3 molecole, 14 sono resistenti a 4 molecole, 5 sono resistenti a 5 molecole, 4 sono resistenti a 6 molecole, 2 sono resistenti a 7 molecole, 2 sono resistenti a 8 molecole, 1 ceppo è resistente a 9 molecole e un altro ceppo è resistente a 11 molecole.
Per *A. pleuropneumoniae*, i dati raccolti mostrano che meno del 75% dei ceppi risulta sensibile ad amoxicillina e acido clavulanico, ampicillina, kanamicina, spectinomicina, tetraciclina, tulatromicina. Particolarmente significativo il dato relativo alla tulatromicina, per cui abbiamo osservato una percentuale di sensibilità del 74,5% mentre in bibliografia viene evidenziata sensibilità nel 100% da ceppi isolati in Ungheria (Somogyi *et al*. 2023); Danimarca (Holmer *et al*., 2019), Repubblica Ceca (Kucerova *et al*., 2011), Spagna (Vilarò *et al*., 2020) e tra Stati Uniti e Canada (Porti *et al*., 2012; Sweeney *et al*., 2017). Il quadro da noi riscontrato è particolarmente importante essendo la tulatromicina un farmaco appartenente alla classe dei macrolidi, che pur rientrando nella categoria C dell'EMA ("attenzione"), viene categorizzata dall'OMS tra gli HPCIA.
Sempre per *A. pleuropneumoniae*, un altro riscontro degno di nota riguarda la frequente resistenza a diversi antibiotici che, secondo la categorizzazione dell'*Antimicrobial Advice Ad Hoc Expert Group* (AMEG) dell'EMA rientrano nelle categorie D (aminopenicilline, spectinomicina, tetracicline) e C (aminoglicosidi, aminopenicilline con inibitori delle beta-lattamasi).
La percentuale bassa di ceppi sensibili alle penicilline, 65% per ampicillina, 60,4% per amoxicillina e acido clavulanico, trova supporto nel lavoro di Somogyi *et al.*, del 2023 che riscontra in Ungheria una percentuale di ceppi sensibili all'amoxicillina del 64%, mentre altri studi riscontrano maggior diffusione di ceppi sensibili in Danimarca (92,4%) (Holmer *et al*., 2019) e in Repubblica Ceca (76%) (Kucerova *et al*., 2011).
La percentuale di ceppi di *A. pleuropneumoniae* sensibili a florfenicolo (90,6%) e tilmicosina (80,2%) risulta leggermente più bassa rispetto a quanto pubblicato in altri studi. Vilarò *et al.* (2020) riscontra infatti una percentuale di ceppi sensibili del 97% per florfenicolo e del 99,4% per tilmicosina, El Garch *et al*., (2016) riporta il 99,4% di ceppi sensibili per entrambe le molecole, Somogyi *et al*, (2023) descrive come sensibili a florfenicolo e timicosina rispettivamente il 98.8% e il 95.7% dei ceppi testati. I dati relativi alla tiamulina dove il riscontro di più del 90% di ceppi sensibili si allineano ai dati presenti in letteratura (Porti *et al*., 2013, Holmer *et al*, 2019).
La percentuale di ceppi di *A. pleuropneumoniae* sensibili alla tetraciclina (67,9%) risulta di poco inferiori a quanto riscontrato nello studio di Kucerova *et. al*, su ceppi isolati in Repubblica Ceca (76% ceppi sensibili) e ai risultati del programma di monitoraggio europeo descritto da El Garch *et al*. (70%), ma mostrano sensibilità più elevata rispetto a quanto evidenziato in Spagna da Gutierez-Martini et al. nel 2006 (26,2%) o negli Stati Uniti da Porti et al. (7,4%).
Per enrofloxacina il 95,3% dei ceppi di APP è risultato sensibile e anche questi valori risultano in linea con El Garch *et al*., (96,8%) e comunque più favorevoli di quanto evidenziato in Spagna da Vilarò *et al*. (2023) (72,2%) e in Ungheria da Somogyi *et al*, (2023) (47,5%).
Per quanto concerne ceftiofur, cefalosporina di terza generazione, abbiamo riscontrato il 95,3% di ceppi di *A. pleuropneumoniae* sensibili e, per quanto la percentuale di sensibilità sia elevata, come già visto in *P. multocida*, è necessario considerare che diversi autori riportano il 100% dei ceppi sensibili ((Somogyi *et al*. 2023, Vilarò *et al*. 2023, El Garch *et al*. 2016, Sweeney et al., 2017, Kucerova *et al*., 2011).

Un dato di rilievo è rappresentato dall'elevato numero di ceppi di *A. pleuropneumoniae* resistenti a più principi antimicrobici. Dei 106 ceppi testati ben 68 presentava resistenza ad almeno un principio attivo solo 20 presentano un'unica resistenza, 19 risultano resistenti a 2 principi antimicrobici, 14 ceppi mostrano resistenza a 3 molecole, 6 ceppi a 4 molecole, 2 ceppi sono resistenti a 5 principi antimicrobici, 3 ceppi a 6 antibiotici, 2 ceppi a 7 molecole, 1 ceppo a 8 e 1 ceppo a 9 antibiotici.

CONCLUSIONI

In generale, gli elevati livelli di sensibilità agli antimicrobici testati per i ceppi *P. multocida* isolati in corso di PRDC; descrivono una situazione favorevole, anche se si sottolinea la percentuale elevata di ceppi resistenti alla tiamulina in contrasto con altri studi europei.
Diversamente, nei casi di pleuropolmonite da *A. pleuropneumoniae*, si evidenzia sia un elevato numero di ceppi multiresistenti che una elevata percentuale di ceppi resistenti a principi attivi di categoria D, indicata dall'EMA come prima linea di trattamento.
In questo scenario, si sottolinea l'importanza di una corretta diagnosi e della valutazione del profilo di resistenza dei ceppi batterici coinvolti nella patologia in corso per poter procedere con una scelta prudente e razionale del farmaco.

BIBLIOGRAFIA

1. Antimicrobial wild type distributions of microorganisms, EUCAST https://mic.eucast.org/search/?search%5Bmethod%5D=mic&search%5Bantibiotic%5D=-1&search%5Bspecies%5D=-1&search%5Bdisk_content%5D=-1&search%5Blimit%5D=50
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for antimicrobial susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria isolated from animals. 1st ed. CLSI document VET 06. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.
3. Manuale CLSI VET01S – Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for Bacteria isolated from animals.
4. Cuevas, I.; Carbonero, A.; Cano, D.; García-Bocanegra, I.; Amaro, M.Á.; Borge, C. Antimicrobial Resistance of Pasteurella Multocida Type B Isolates Associated with Acute Septicemia in Pigs and Cattle in Spain. BMC Vet. Res. 2020, 16, 222
5. El Garch, F.; de Jong, A.; Simjee, S.; Moyaert, H.; Klein, U.; Ludwig, C.; Marion, H.; Haag-Diergarten, S.; Richard-Mazet, A.;Thomas, V.; et al. Monitoring of Antimicrobial Susceptibility of Respiratory Tract Pathogens Isolated from Diseased Cattle andPigs across Europe, 2009–2012: VetPath Results. Vet. Microbiol. **2016**, 194, 11–22.
6. Gutiérrez-Martín, C.B.; Blanco, N.G.D.; Blanco, M.; Navas, J.; Rodríguez-Ferri, E.F. Changes in Antimicrobial Susceptibility of Actinobacillus pleuropneumoniae Isolated from Pigs in Spain during the Last Decade. Vet. Microbiol. **2006**, 115, 218–222.
7. Holmer, I.; Salomonsen, C.M.; Jorsal, S.E.; Astrup, L.B.; Jensen, V.F.; Høg, B.B.; Pedersen, K. Antibiotic Resistance in Porcine Pathogenic Bacteria and Relation to Antibiotic Usage. BMC Vet. Res. **2019**, 15, 449.
8. Kucerova, Z.; Hradecka, H.; Nechvatalova, K.; Nedbalcova, K. Antimicrobial Susceptibility of Actinobacillus pleuropneumoniae Isolates from Clinical Outbreaks of Porcine Respiratory Diseases. Vet. Microbiol. **2011**, 150, 203–206.
9. Opriessnig T, Giménez-Lirola LG and Halbur PG (2011) Polymicrobial respiratory disease in pigs. Animal Health Research Reviews 12, 133–148.
10. Oh, Y.-H.; Moon, D.-C.; Lee, Y.J.; Hyun, B.-H.; Lim, S.-K. Antimicrobial Resistance of Pasteurella Multocida Strains Isolated from Pigs between 2010 and 2016. Vet. Rec. Open 2018, 5, e000293

11. Portis, E. Antimicrobial Susceptibility of Porcine Pasteurella multocida, Streptococcus suis, and Actinobacillus pleuropneumoniae from the United States and Canada, 2001 to 2010. J. Swine Health Prod. **2013**, 21, 30–41.
12. RONAFA (2017). EMA and EFSA Joint Scientific Opinion on measures to reduce the need to use antimicrobial agents in animal husbandry in the European Union, and the resulting impacts on food safety (RONAFA). [EMA/CVMP/570771/2015]. EFSA Journal 2017;15(1):4666, 245 pp.doi: 10.2903/j.efsa. 2017.4666. https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2017.4666
13. Sargeant, J.M.; Bergevin, M.D.; Churchill, K.; Dawkins, K.; Deb, B.; Dunn, J.; Hu, D.; Moody, C.; O'Connor, A.M.; O'Sullivan, T.L.; et al. A Systematic Review of the Efficacy of Antibiotics for the Prevention of Swine Respiratory Disease. Anim. Health Res. Rev. 2019, 20, 291–304.
14. Somogyi, Z.; Mag, P.; Simon, R.; Kerek, Á.; Makrai, L.; Biksi, I.; Jerzsele, Á. Susceptibility of Actinobacillus pleuropneumoniae, Pasteurella multocida and Streptococcus suis Isolated from Pigs in Hungary between 2018 and 2021. Antibiotics 2023, 12, 1298. https://doi.org/10.3390/antibiotics12081298
15. Sweeney, M.T. Antimicrobial Susceptibility of Actinobacillus pleuropneumoniae, Pasteurella multocida, Streptococcus suis, and Bordetella bronchiseptica Isolated from Pigs in the United States and Canada, 2011 to 2015. J. Swine Health Prod. 2017, 25, 106–120.
16. Vilaró, A.; Novell, E.; Enrique-Tarancón, V.; Balielles, J.; Vilalta, C.; Martinez, S.; Fraile Sauce, L.J. Antimicrobial Susceptibility Pattern of Porcine Respiratory Bacteria in Spain. Antibiotics 2020, 9, 402
17. WHO (2019). Critically important antimicrobials for human medicine. 6th revision. Geneva. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO - https://www.who.int/publications/i/item/9789241515528

DIFFUSIONE DI ENTEROCOCCHI RESISTENTI AGLI OXAZOLIDINONI IN UN MATTATOIO SUINO ITALIANO

SPREAD OF OXAZOLIDINONE-RESISTANT ENTEROCOCCI IN AN ITALIAN PIG SLAUGHTERHOUSE

MASSACCI F.R.[1], ALBINI E.[1], RUSSO E.[1], NIGRO M.E.[1], CUCCO L.[1], BINUCCI G.[1], COCCITTO S.N.[2], CINTHI M.[2], GIOVANNETTI E.[2], BRENCIANI A.[2], MAGISTRALI C.F.[1,3]

[1] Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati", via G. Salvemini 1, 06126 Perugia, Italia;
[2] Unità di Microbiologia, Dipartimento di Scienze Biomediche e Sanità Pubblica, Scuola di Medicina, Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italia;
[3] Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "Bruno Ubertini", via bianchi, 9 - 25124 Brescia, Italy

Parole chiave: *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, antibiotico-resistenza, oxazolidinoni
Key Words: *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, antibiotic-resistance, oxazolidinone

Riassunto

La filiera suina rappresenta un punto critico per la diffusione della resistenza antimicrobica, con il mattatoio come possibile *hotspot* di contaminazione crociata. L'uso veterinario di fenicoli potrebbe favorire la resistenza agli oxazolidinoni. Questo studio ha analizzato la presenza di enterococchi resistenti agli oxazolidinoni in un mattatoio suino, esaminando 376 campioni, di cui il 25,8% positivi per *Enterococcus* spp. resistenti al florfenicolo. I campioni ambientali prelevati a fine macellazione mostravano una contaminazione maggiore rispetto a quelli prelevati prima ($p<0.05$), con una prevalenza nelle prime fasi della catena di macellazione, indicando un buon esito delle operazioni di pulizia e disinfezione a fine giornata. L'analisi genomica di 44 isolati di *E. faecalis* e *E. facecium* ha rilevato un'alta prevalenza del gene *optrA* (79,6%), seguito da *poxtA* (29,5%) e *cfr(D)* (11,3%). Sono stati identificati ventiquattro *sequence type* (ST), con predominanza di ST59, ST21 e ST500. I dati indicano un'elevata resistenza a tetraciclina (93,2%) ed eritromicina (72,7%), coerente con la letteratura scientifica. Il 72,7% degli isolati era resistente a linezolid, un oxazolidinone utilizzato in medicina umana, mentre non è stata rilevata resistenza alla vancomicina. I risultati evidenziano la necessità di un monitoraggio costante per prevenire la diffusione di enterococchi resistenti agli oxazolidinoni lungo la filiera suina e preservare l'efficacia del linezolid in ambito clinico.

Abstract

The swine production chain represents a critical point for the spread of antimicrobial resistance, with slaughterhouses acting as potential hotspots for cross-contamination. The veterinary use of phenicols may promote resistance to oxazolidinones. This study investigated the presence of oxazolidinone-resistant enterococci in a pig slaughterhouse in central Italy, analyzing 376 samples, 25.8% of which tested positive for *Enterococcus* spp. resistant to florfenicol. Environmental samples collected at the end of the day of slaughter showed higher contamination levels compared to those collected beforehand ($p<0.05$), with a prevalence in the initial stages of the slaughtering process, suggesting effective cleaning and disinfection procedures at the end of the day. Genomic analysis of 44 isolates of *E. faecalis* and *E. faecium*

revealed a high prevalence of the *optrA* gene (79.6%), followed by *poxtA* (29.5%) and *cfr*(D) (11.3%). Twenty-four sequence types (STs) were identified, with ST59, ST21, and ST500 being predominant. The data indicated high resistance rates to tetracycline (93.2%) and erythromycin (72.7%), consistent with existing literature. Linezolid resistance was observed in 72.7% of isolates, while no vancomycin resistance was detected. These findings highlight the need for continuous monitoring to prevent the spread of oxazolidinone-resistant enterococci along the swine production chain and to preserve the clinical efficacy of linezolid.

INTRODUZIONE

La resistenza antimicrobica (AMR) rappresenta una delle principali sfide per la salute pubblica a livello globale (EFSA and ECDC, 2021). Tale fenomeno, che coinvolge esseri umani, animali e ambiente, richiede un approccio multidisciplinare basato sul concetto di "One Health" per una gestione efficace. Numerosi studi hanno dimostrato che i batteri antibiotico-resistenti (ARB) e i geni di resistenza agli antibiotici (ARG) possono essere trasferiti dagli animali da allevamento all'uomo, rappresentando un potenziale rischio per la salute pubblica (Wee et al., 2020; EFSA and ECDC, 2021)animals and food are collected annually by the EU Member States (MSs. La filiera suina, in particolare, è considerata un punto critico per l'espansione e la diffusione della resistenza antimicrobica, dalla produzione primaria fino al prodotto finale destinato al consumo umano. Il suino rappresenta un potenziale *reservoir* di ARB, e il trasporto degli animali, così come le stalle di sosta, sono stati identificati come fattori di rischio per la loro diffusione (Bolton et al., 2022). Inoltre, il mattatoio costituisce un ambiente in cui possono verificarsi contaminazioni crociate tra carcasse e la propagazione di ARB e ARG, aumentando così il rischio di trasmissione di resistenze all'uomo e all'ambiente (Savin et al., 2020a, 2020b). Tuttavia, le informazioni relative alla presenza di ARB nelle carcasse suine e negli ambienti di macellazione rimangono ancora limitate.

Gli enterococchi sono batteri Gram-positivi ubiquitari, comunemente presenti nel microbiota intestinale di esseri umani e animali. Sebbene facciano parte della flora commensale, alcune specie, in particolare *Enterococcus faecium* ed *Enterococcus faecalis*, sono riconosciute come patogeni opportunisti responsabili di infezioni gravi nell'uomo, tra cui endocarditi, batteriemie, infezioni del tratto urinario e infezioni intra-addominali (Arias and Murray, 2008). La capacità degli enterococchi di acquisire e trasmettere resistenze agli antibiotici rappresenta una sfida significativa per la terapia antimicrobica, rendendo il trattamento delle infezioni sempre più complesso. In particolare, gli oxazolidinoni, come il linezolid, sono considerati antibiotici di ultima risorsa nel trattamento delle infezioni da enterococchi multiresistenti.

Nonostante gli oxazolidinoni non siano autorizzati per l'uso veterinario, diverse evidenze indicano un incremento della resistenza al linezolid negli enterococchi isolati da animali destinati alla produzione alimentare (Fioriti et al., 2020; Schwarz et al., 2021; Coccitto et al., 2022)including cfr, cfr(B. La presenza di enterococchi resistenti agli oxazolidinoni nel settore zootecnico solleva preoccupazioni per la possibile trasmissione lungo la catena alimentare, con un impatto significativo sulla salute pubblica. Diversi studi suggeriscono che l'uso di fenicoli in ambito veterinario possa esercitare una pressione selettiva favorendo la diffusione della resistenza agli oxazolidinoni negli enterococchi (Wang et al., 2020). In particolare, alcuni determinanti genetici di resistenza, come il gene *optrA*, conferiscono resistenza sia ai fenicoli sia agli oxazolidinoni, con un rischio di co-selezione di ceppi resistenti in ambienti caratterizzati da un uso intensivo di questi antimicrobici.

Alla luce di queste considerazioni, la sorveglianza della resistenza agli oxazolidinoni negli enterococchi di origine animale è essenziale per valutare il rischio potenziale per la salute umana. Il presente studio ha analizzato la presenza di enterococchi resistenti agli oxazolidinoni

in un mattatoio suino dell'Italia centrale. Gli isolati di *E. faecium* ed *E. faecalis* sono stati caratterizzati per la presenza di geni di resistenza agli oxazolidinoni, con l'obiettivo finale di valutare il rischio legato alla presenza di questi batteri negli ambienti di macellazione.

MATERIALI E METODI

Campionamento

L'indagine è stata svolta da Aprile 2023 a Marzo 2024 in un mattatoio dell'Italia centrale.
Il mattatoio macellava circa 2500 suini/die in quattro giornate alla settimana, la provenienza dei suini macellati era nazionale. Questo mattatoio era fornito di stalle di sosta.
Il disegno sperimentale ha tenuto conto di una prevalenza di batteri antibiotico-resistenti del 50%, livello di confidenza del 95% ed una precisione del 5%. Il disegno sperimentale ha previsto che i campionamenti venissero effettuati a cadenza trimestrale, uno per ogni stagione dell'anno (aprile 2023, agosto 2023, ottobre 2023 e gennaio 2024). Nel dettaglio sono stati campionati 33 contenuti ciecali e 33 carcasse di suini in ciascuna giornata di macellazione. Per quanto riguarda i campioni ambientali, per ogni giornata di macellazione, sono stati effettuati 22 campioni ambientali prima dell'introduzione degli animali. Il prelievo è stato effettuato con spugne pre- umidificate con acqua peptonata tamponata (Spongebags, Solar Biologicals Inc), eseguendo il campionamento da almeno undici diversi punti lungo la catena di macellazione prima e dopo la macellazione (vasche di scottatura, scivolo carcasse, ganci, coltelli, lavandino eviscerazione, pulsantiera, tavolino carnetta, parannanza degli operatori, cassette porta organi, bocchette di scarico e guarnizioni celle frigo). Inoltre, sono stati effettuati, presso la stalla di sosta, 4 campioni ambientali post-macellazione (porte, pavimento, davanzali e divisori box) con spugne pre- umidificate con acqua peptonata tamponata (Spongebags, Solar Biologicals Inc). In ciascuna giornata di macellazione, i suini oggetto di prelievo sono stati selezionati mediante randomizzazione semplice. Per ciascun animale è stato effettuato un prelievo di contenuto ciecale e tamponi carcassa. Il campionamento della carcassa è avvenuto prima del lavaggio finale. Il prelievo è stato effettuato in base a quanto previsto dalla Norma UNI EN ISO 17604:2003/E, in cinque punti diversi (arto posteriore distale, coscia, addome laterale, regione media dorsale e addome mediale), per ciascuna mezzena, utilizzando una mascherina monouso e spugne pre- umidificate con acqua peptonata tamponata (Spongebags, Solar Biologicals Inc) per una superficie totale di 1000 cm^2 circa. Tutti i campioni sono stati mantenuti a temperatura di refrigerazione e conferiti, successivamente, al laboratorio di analisi ed esaminati entro 24 ore.

Isolamento batterico e test microbiologici

La ricerca di *E. faecalis* ed *E. faecium* resistenti al florfenicolo è stata effettuata diluendo i campioni in acqua peptonata tamponata (APT) in un rapporto di 1:10. I campioni sono stati omogenizzati e incubati a 37 °C per 24 h. Successivamente 10 µl di campione è stato seminato su Slanetz-Bartley addizionato di florfenicolo (10 mg/l). Tutti i campioni sono stati incubati a 37 °C per 48 h. Le colonie di interesse sono state seminate su Agar Sangue (5% globuli rossi di montone), incubate a 37 °C, e identificate mediante MALDI-TOF (MALDI Biotyper, Bruker Daltonics).
Un subset di isolati appartenenti a *E. faecalis* ed *E. faecium* sono stati selezionati per un totale di 44 isolati. Per evitare di includere isolati ridondanti, *è stato selezionato un solo isolato per le matrici cieco e carcassa in base alla provenienza dell'allevamento di origine.*
I 44 isolati sono stati testati per la determinazione della sensibilità agli antimicrobici mediante il metodo della diluizione in brodo, usando un pannello commerciale 96-wellmicrotitre MIC (CMV3AGPF Sensititre; Trek Diagnostic Systems Inc., England) seguendo le istruzioni della ditta produttrice. Gli isolati sono stati inoltre testati per la sensibilità a linezolid e vancomicina (SigmaAldrich, St. Louis, MI, USA) mediante microdiluizione in brodo in accordo con la

procedura raccomandata dal Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), e a tedizolid utilizzando le strisce E-test (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, Italia). *E. faecalis* ATCC 29212 è stato usato come ceppo di controllo. I valori di MIC sono stati interpretati utilizzando i breakpoint raccomandati dal Clinical Laboratory Standard Institute per *Enterococcus* spp. (CLSI VET 01S-ed.7, 2024 e CLSI M100-Ed.34) (CLSI, 2024a, 2024b).

Analisi genomica

Il DNA genomico dei 44 isolati di *E. faecalis* ed *E. faecium* è stato estratto utilizzando il QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen Inc., Hilden, Germany). Il DNA dei 44 isolati selezionati è stato successivamente sottoposto a sequenziamento utilizzando la piattaforma Illumina MiSeq. Dopo le fasi di *trimming* e valutazione di qualità, le sequenze sono state assemblate usando SPAdes genome assembler v3.11.1 (Prjibelski et al., 2020) e annotate usando Prokka v1.14.6 (Seemann, 2014). I prodotti generati da Prokka sono stati analizzati con Roary v3.11.3 (Page et al., 2015) per ottenere un allineamento del *core genome* utilizzato per creare un albero filogenetico di massima verosimiglianza con FastTree 2.1.11 (Price et al., 2010).

Le sequenze dei 44 isolati di *E. faecalis* ed *E. faecium* sono state utilizzate per identificare il ST utilizzando *E. faecalis* ed *E. faecium* MLST database (https://pubmlst.org/organisms/enterococcus-faecalis , https://pubmlst.org/organisms/enterococcus-faecium), il profilo di virulenza mediante la ricerca dei geni di virulenza utilizzando BLASTN v2.13.0 (Camacho et al., 2009) e i geni resistenti agli antimicrobici che sono stati analizzati con ABRicate (https://github.com/tseemann/abricate).

RISULTATI

Complessivamente, sono stati prelevati 376 campioni, dei quali 97 (25.8%) sono risultati positivi per *Enterococcus* spp. resistenti al florfenicolo. Il dettaglio delle matrici campionate è indicato in tabella 1. Per quanto riguarda i campioni ambientali, si è osservata una differenza tra quelli prelevati prima dell'inizio della macellazione e a conclusione delle operazioni (Test del chi-quadrato: $p<0.05$). Le matrici più frequentemente contaminate erano quelle posizionate a inizio della catena di macellazione. Le vasche di scottatura, lo scivolo delle carcasse e le bocchette di scarico sono le aree risultate positive prima dell'inizio delle operazioni di macellazione.

Sono stati identificati 114 isolati di *Enterococcus* a livello di specie, dal momento che alcuni campioni sono risultati contaminati da più di una specie. L'elenco delle specie isolate suddivise per matrice è indicato in tabella 2.

La successiva analisi dei 44 isolati appartenenti alle specie *E. faecalis* e *E. facecium* selezionati ha rivelato che il gene *optrA* era il più prevalente, identificato nel 79,6% (35/44) degli isolati. Il gene *poxtA* è stato identificato nel 29,5% (13/44) degli isolati, mentre *cfr(D)* era presente nell'11,3% (5/44) degli isolati di *E. faecalis*. Un unico isolato risultava positivo al gene *cfr*.

Sono stati identificati ventiquattro diversi ST (Tabella 3, Figure 1-2). ST59, ST21 e ST500 sono stati gli ST più diffusi, rappresentando rispettivamente il 13.6% (n = 6), il 9.1% (n = 4) e il 9.1% (n = 4) dei nostri isolati. La Figure 1 evidenzia come, tra gli isolati di *E. faecalis*, gli ST si raggruppino tra di loro, in particolare ST480, ST59, ST21, ST500 e ST16. Inoltre, gli isolati non sembrano clusterizzare per giorno di macellazione né per l'allevamento di origine ad eccezione di due isolati clonali di *E. faecalis* appartenenti all'allevamento 13 e ST1008 (Figura 1).

Sono 46 i geni di virulenza rilevati in almeno un isolato. La presenza/assenza di questi geni in ciascuno dei 44 isolati è rappresentata nelle Figure 1-2.

La Tabella 4 mostra la distribuzione dei 44 isolati di *Enterococcus* spp. sulla base dei valori di MIC nei confronti di 16 molecole antibiotiche. Tutti gli isolati erano sensibili a vancomicina e daptomicina. Un numero elevato di isolati era resistente alla tetraciclina (n=41, 93.2%), cloramfenicolo (n=40, 90.9%), linezolid (n=32, 72.7%) e alla eritromicina (n=32, 72.7%). Quasi

un terzo degli isolati (n=14, 31.8%) è risultato resistente a ciprofloxacin.
Mediante l'analisi genomica sono stati identificati 26 geni responsabili di antibiotico-resistenza (Figure 1-2). Oltre ai geni associati alla resistenza alla classe degli oxazolidinoni, *tet*(M) e *lsa*(A), rispettivamente responsabili della resistenza a tetraciclina, clindamicina e streptogrammine, sono stati i principali geni di antibiotico-resistenza descritti negli isolati, rispettivamente nel 90.9% (40/44) e 81.8% (36/44). Altri geni sono stati *fexA* (n=34, 77.3%), *tet*(L) (n=32, 72.7%), *erm*(B) (n=32, 72.7%), *aph*(3')-III (n=30, 68.2%).

DISCUSSIONE

I dati mostrano la presenza di contaminazione da *Enterococcus* spp. resistente al florfenicolo nel cieco degli animali, sulle carcasse prima della refrigerazione e sulle superfici. Le contaminazioni degli ambienti di macellazione erano tuttavia generalmente ristrette, nelle fasi pre-lavorative, alle prime parti della catena, indicando un buon esito delle operazioni di pulizia e disinfezione a fine giornata. È interessante notare come sulle carcasse e nei tamponi ambientali si sia assistito ad una netta prevalenza delle specie *E. faecalis*, dato che non si è osservato nei campioni ciecali. Questo può essere legato o a maggiore cariche microbiche in ingresso, o a migliori capacità di persistenza di questa specie nell'ambiente, come già descritto in letteratura (Sadowy and Luczkiewicz, 2014).
L'analisi condotta sugli isolati di *E. faecalis* ed *E. faecium* provenienti da diverse matrici nel mattatoio oggetto di studio ha evidenziato una diffusa presenza di geni associati alla resistenza agli oxazolidinoni, con una predominanza del gene *optrA*. Questo dato risulta coerente con studi precedenti che hanno descritto un incremento della diffusione di *optrA* in ceppi di *Enterococcus* isolati da animali da reddito e alimenti di origine animale (Coccitto et al., 2023; Xuan et al., 2023; Fukuda et al., 2024). La presenza concomitante di *poxtA* e *cfr(D)*, seppur meno frequente, conferma la diversificazione dei meccanismi genetici di resistenza nella popolazione batterica analizzata, sottolineando l'importanza di un monitoraggio continuo (Fioriti et al., 2020; Cinthi et al., 2022a, 2022b; Coccitto et al., 2023).
Un aspetto rilevante emerso dallo studio riguarda la distribuzione degli ST identificati. La predominanza di ST59, ST21 e ST16 è in linea con quanto riportato in studi epidemiologici su *Enterococcus* isolati da matrici animali (Freitas et al., 2020). Tuttavia, la mancata correlazione tra ST e provenienza dell'allevamento suggerisce una possibile circolazione orizzontale dei ceppi tra diverse realtà produttive, ipotesi che trova conferma nella diffusione di specifici determinanti di resistenza e virulenza. Il ritrovamento di due isolati clonali appartenenti allo stesso allevamento ed isolati uno dal cieco e l'altro dalla carcassa corrispondente, classificati come ST1008, sottolinea invece non solo la possibile persistenza e trasmissione verticale di specifici ceppi all'interno dell'allevamento stesso, ma anche una potenziale contaminazione tra cieco e carcassa durante il processo di macellazione. *E. faecalis* ST1008, positivo per il gene *optrA*, in letteratura è riportato come presente in diversi campioni di alimenti crudi per animali domestici disponibili in commercio in vari Paesi europei (Freitas et al., 2021; Nüesch-Inderbinen et al., 2023).
Dal punto di vista fenotipico, i livelli di resistenza antimicrobica rilevati in questo studio indicano percentuali di resistenza estremamente elevate verso tetraciclina ed eritromicina, osservata rispettivamente nel 93.2% e nel 72.7% degli isolati (EFSA, 2024). Questi dati sono in linea con la letteratura scientifica che evidenzia un'elevata prevalenza di queste resistenze in ceppi di *Enterococcus* di origine animale, probabilmente legata al diffuso impiego di tetracicline e macrolidi in ambito zootecnico (Arias et al., 2010). Estremamente elevata anche la resistenza a cloramfenicolo (90.9%), probabilmente originata da fenomeni di co-selezione. Di particolare interesse è la resistenza al linezolid, rilevata nel 72.7% degli isolati. Il linezolid rappresenta infatti un'opzione terapeutica di ultima linea per le infezioni da *Enterococcus* multi-resistenti

nell'uomo. Non è stata invece registrata resistenza alla vancomicina.
L'analisi genomica ha permesso di ottenere un quadro dettagliato del profilo genetico degli isolati. L'ampia varietà di geni di resistenza e virulenza riscontrata riflette la complessità della dinamica evolutiva di *Enterococcus* nei sistemi di produzione animale. La presenza diffusa di *tet(M)* e *lsa(A)*, rispettivamente nel 90,9% e nell'81,8% degli isolati, è indicativa della pressione selettiva esercitata dall'uso di antibiotici nel settore zootecnico. *tet(M)* e *lsa(A)* risultano frequentemente descritti nelle specie di *Enterococcus* isolati da suini e da altri animali da produzione (Aarestrup et al., 2002; Amuasi et al., 2023; El Zowalaty et al., 2023). Analogamente, altri geni di resistenza come *fexA* (77,3%), *tet(L)* (72,7%), *erm(B)* (72,7%) e *aph(3')-III* (68,2%) evidenziano un panorama genetico complesso. In particolare, *fexA* è associato alla resistenza ai fenicoli, *tet(L)* alle tetracicline, *erm(B)* ai macrolidi-lincosamidi-streptogramine (MLS) e *aph(3')-III* agli aminoglicosidi. La maggior parte di questi antimicrobici, come le tetracicline e i macrolidi, sono comunemente impiegati nell'allevamento suino, contribuendo alla selezione di ceppi resistenti.
Il presente studio evidenzia l'ampia diffusione dei geni di resistenza agli oxazolidinoni negli isolati di *E. faecalis* ed *E. faecium* provenienti da un mattatoio suini dell'Italia centrale, con *optrA* risultato il gene prevalente. Questi dati suggeriscono il potenziale ruolo degli isolati di *Enterococcus* spp. di origine zootecnica come serbatoio di resistenza per patogeni di rilevanza clinica nell'uomo. I risultati rafforzano la necessità di strategie mirate alla riduzione dell'uso di antimicrobici negli allevamenti e al rafforzamento delle misure di biosicurezza lungo la filiera produttiva, in accordo con i principi del concetto *One Health*, al fine di preservare l'efficacia del linezolid in ambito clinico.

BIBLIOGRAFIA

1. Aarestrup, F.M., Hasman, H., Jensen, L.B., Moreno, M., Herrero, I.A., Domínguez, L., Finn, M., Franklin, A., 2002. Antimicrobial resistance among enterococci from pigs in three European countries. Appl. Environ. Microbiol. 68, 4127–4129. doi:10.1128/AEM.68.8.4127-4129.2002
2. Amuasi, G.R., Dsani, E., Owusu-Nyantakyi, C., Owusu, F.A., Mohktar, Q., Nilsson, P., Adu, B., Hendriksen, R.S., Egyir, B., 2023. Enterococcus species: insights into antimicrobial resistance and whole-genome features of isolates recovered from livestock and raw meat in Ghana. Front. Microbiol. 14, 1254896. doi:10.3389/fmicb.2023.1254896
3. Arias, C.A., Murray, B.E., 2008. Emergence and management of drug-resistant enterococcal infections. Expert Rev. Anti. Infect. Ther. 6, 637–655. doi:10.1586/14787210.6.5.637
4. Bolton, D., Bover-cid, S., Chemaly, M., Davies, R., Cesare, A. De, Herman, L., Hilbert, F., Lindqvist, R., Nauta, M., Ru, G., Simmons, M., Dohmen, W., Magistrali, C.F., Padalino, B., Tenhagen, B., Threlfall, J., Stella, P., Peixe, L., Guerra, B., Li, E., 2022. Transmission of antimicrobial resistance (AMR) during animal transport. EFSA J. 20(10):758. doi:10.2903/j.efsa.2022.7586
5. Camacho, C., Coulouris, G., Avagyan, V., Ma, N., Papadopoulos, J., Bealer, K., Madden, T.L., 2009. BLAST+: architecture and applications. BMC Bioinformatics 10, 421. doi:10.1186/1471-2105-10-421
6. Cinthi, M., Coccitto, S.N., D'Achille, G., Morroni, G., Simoni, S., Fioriti, S., Magistrali, C.F., Brenciani, A., Giovanetti, E., 2022a. Characterization of a novel cfr(D)/poxtA-carrying plasmid in an oxazolidinone-resistant Enterococcus casseliflavus isolate from swine manure, Italy. J. Glob. Antimicrob. Resist. 30, 308–310. doi:10.1016/j.jgar.2022.07.007
7. Cinthi, M., Coccitto, S.N., Fioriti, S., Morroni, G., Simoni, S., Vignaroli, C., Magistrali, C.F., Albini, E., Brenciani, A., Giovanetti, E., 2022b. Occurrence of a plasmid co-carrying cfr(D) and poxtA2 linezolid resistance genes in Enterococcus faecalis and Enterococcus casseliflavus from porcine manure, Italy. J. Antimicrob. Chemother. 77, 598–603.

doi:10.1093/jac/dkab456
8. CLSI, 2024a. CLSI VET01S – Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for Bacteria isolated from animals. Clin. Lab. Stand. Inst. Suppl. VET01S 7th ed.
9. CLSI, 2024b. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing - 34th ed. - CLSI supplement M100. Clin. Lab. Stand. Inst.
10. Coccitto, S.N., Cinthi, M., Fioriti, S., Morroni, G., Simoni, S., Vignaroli, C., Garofalo, C., Mingoia, M., Brenciani, A., Giovanetti, E., 2022. Linezolid-resistant Enterococcus gallinarum isolate of swine origin carrying cfr, optrA and poxtA genes. J. Antimicrob. Chemother. 77, 331–337. doi:10.1093/jac/dkab408
11. Coccitto, S.N., Cinthi, M., Simoni, S., Vignaroli, C., Massacci, F.R., Albini, E., Garofalo, C., Aquilanti, L., Magistrali, C.F., Brenciani, A., Giovanetti, E., 2023. Identification of plasmids co-carrying cfr(D)/optrA and cfr(D2)/poxtA linezolid resistance genes in two Enterococcus avium isolates from swine brain. Vet. Microbiol. 282, 109749. doi:10.1016/j.vetmic.2023.109749
12. EFSA, 2024. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2021–2022. EFSA J. 22, 1–195. doi:10.2903/j.efsa.2024.8583
13. EFSA, ECDC, 2021. The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2018/2019. EFSA J. 19. doi:10.2903/j.efsa.2021.6490
14. El Zowalaty, M.E., Lamichhane, B., Falgenhauer, L., Mowlaboccus, S., Zishiri, O.T., Forsythe, S., Helmy, Y.A., 2023. Antimicrobial resistance and whole genome sequencing of novel sequence types of Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, and Enterococcus durans isolated from livestock. Sci. Rep. 13, 18609. doi:10.1038/s41598-023-42838-z
15. Fioriti, S., Morroni, G., Coccitto, S.N., Brenciani, A., Antonelli, A., Di Pilato, V., Baccani, I., Pollini, S., Cucco, L., Morelli, A., Paniccià, M., Magistrali, C.F., Rossolini, G.M., Giovanetti, E., 2020. Detection of Oxazolidinone Resistance Genes and Characterization of Genetic Environments in Enterococci of Swine Origin, Italy. Microorganisms 8. doi:10.3390/microorganisms8122021
16. Freitas, A.R., Finisterra, L., Tedim, A.P., Duarte, B., Novais, C., Peixe, L., 2021. Linezolid- and Multidrug-Resistant Enterococci in Raw Commercial Dog Food, Europe, 2019-2020. Emerg. Infect. Dis. 27, 2221–2224. doi:10.3201/eid2708.204933
17. Freitas, A.R., Tedim, A.P., Novais, C., Lanza, V.F., Peixe, L., 2020. Comparative genomics of global optrA-carrying Enterococcus faecalis uncovers a common chromosomal hotspot for optrA acquisition within a diversity of core and accessory genomes. Microb. genomics 6. doi:10.1099/mgen.0.000350
18. Fukuda, A., Nakajima, C., Suzuki, Y., Usui, M., 2024. Transferable linezolid resistance genes (optrA and poxtA) in enterococci derived from livestock compost at Japanese farms. J. Glob. Antimicrob. Resist. 36, 336–344. doi:10.1016/j.jgar.2024.01.022
19. Nüesch-Inderbinen, M., Heyvaert, L., Treier, A., Zurfluh, K., Cernela, N., Biggel, M., Stephan, R., 2023. High occurrence of Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, and Vagococcus lutrae harbouring oxazolidinone resistance genes in raw meat-based diets for companion animals - a public health issue, Switzerland, September 2018 to May 2020. Euro Surveill. Bull. Eur. sur les Mal. Transm. = Eur. Commun. Dis. Bull. 28. doi:10.2807/1560-7917.ES.2023.28.6.2200496
20. Page, A.J., Cummins, C.A., Hunt, M., Wong, V.K., Reuter, S., Holden, M.T.G., Fookes, M., Falush, D., Keane, J.A., Parkhill, J., 2015. Roary: rapid large-scale prokaryote pan genome analysis. Bioinformatics 31, 3691–3693. doi:10.1093/bioinformatics/btv421

21. Price, M.N., Dehal, P.S., Arkin, A.P., 2010. FastTree 2 - Approximately maximum-likelihood trees for large alignments. PLoS One 5. doi:10.1371/journal.pone.0009490
22. Prjibelski, A., Antipov, D., Meleshko, D., Lapidus, A., Korobeynikov, A., 2020. Using SPAdes De Novo Assembler. Curr. Protoc. Bioinforma. 70, e102. doi:10.1002/cpbi.102
23. Sadowy, E., Luczkiewicz, A., 2014. Drug-resistant and hospital-associated Enterococcus faecium from wastewater, riverine estuary and anthropogenically impacted marine catchment basin. BMC Microbiol. 14, 66. doi:10.1186/1471-2180-14-66
24. Savin, M., Bierbaum, G., Andre, J., Heinemann, C., Parcina, M., Sib, E., Voigt, A., Kreyenschmidt, J., 2020a. Antibiotic-resistant bacteria and antimicrobial residues in wastewater and process water from German pig slaughterhouses and their receiving municipal wastewater treatment plants. Sci. Total Environ. 727, 138788. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.138788
25. Savin, M., Bierbaum, G., Hammerl, A., Heinemann, C., Parcina, M., Sib, E., 2020b. ESKAPE Bacteria and Extended-Spectrum-beta-Lactamase- Producing Escherichia coli Isolated from Wastewater and Process Water from German Poultry Slaughterhouses. Appl Env. Microbiol 86, 1–18.
26. Schwarz, S., Zhang, W., Du, X.D., Krüger, H., Feßler, A.T., Ma, S., Zhu, Y., Wu, C., Shen, J., Wang, Y., 2021. Mobile oxazolidinone resistance genes in gram-positive and gram-negative bacteria. Clin. Microbiol. Rev. 34, 1–63. doi:10.1128/CMR.00188-20
27. Seemann, T., 2014. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. Bioinformatics 30, 2068–2069. doi:10.1093/bioinformatics/btu153
28. Wang, Yingyu, Li, X., Fu, Y., Chen, Y., Wang, Yang, Ye, D., Wang, C., Hu, X., Zhou, L., Du, J., Shen, J., Xia, X., 2020. Association of florfenicol residues with the abundance of oxazolidinone resistance genes in livestock manures. J. Hazard. Mater. 399, 123059. doi:10.1016/j.jhazmat.2020.123059
29. Wee, B.A., Muloi, D.M., van Bunnik, B.A.D., 2020. Quantifying the transmission of antimicrobial resistance at the human and livestock interface with genomics. Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 26, 1612–1616. doi:10.1016/j.cmi.2020.09.019
30. Xuan, H., Xia, L., Schwarz, S., Jia, H., Yao, X., Wang, S., Li, R., Wei, J., Li, Z., Shao, D., Liu, K., Qiu, Y., Ma, Z., Li, B., 2023. Various mobile genetic elements carrying optrA in Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis isolates from swine within the same farm. J. Antimicrob. Chemother. 78, 504–511. doi:10.1093/jac/dkac421

Figura 1. Albero filogenetico annotato utilizzando iTOL (https://itol.embl.de/). L'albero contiene i 36 isolati di *E. faecalis* analizzati nel presente studio. L'allevamento e il campione (carcassa, cieco e ambiente) di provenienza, il giorno di macellazione, il sequence type (ST), la presenza dei geni di antibiotico resistenza e fattori di virulenza di ciascun isolato sono rappresentati nell'albero filogenetico.

Figure 1. Phylogenetic tree annotated using iTOL (https://itol.embl.de/). The tree includes the 36 *E. faecalis* isolates analyzed in the present study. The farm and sample source (carcass, cecum, and environment), the slaughter day, the sequence type (ST), as well as the presence of antibiotic resistance genes and virulence factors for each isolate are represented in the phylogenetic tree.

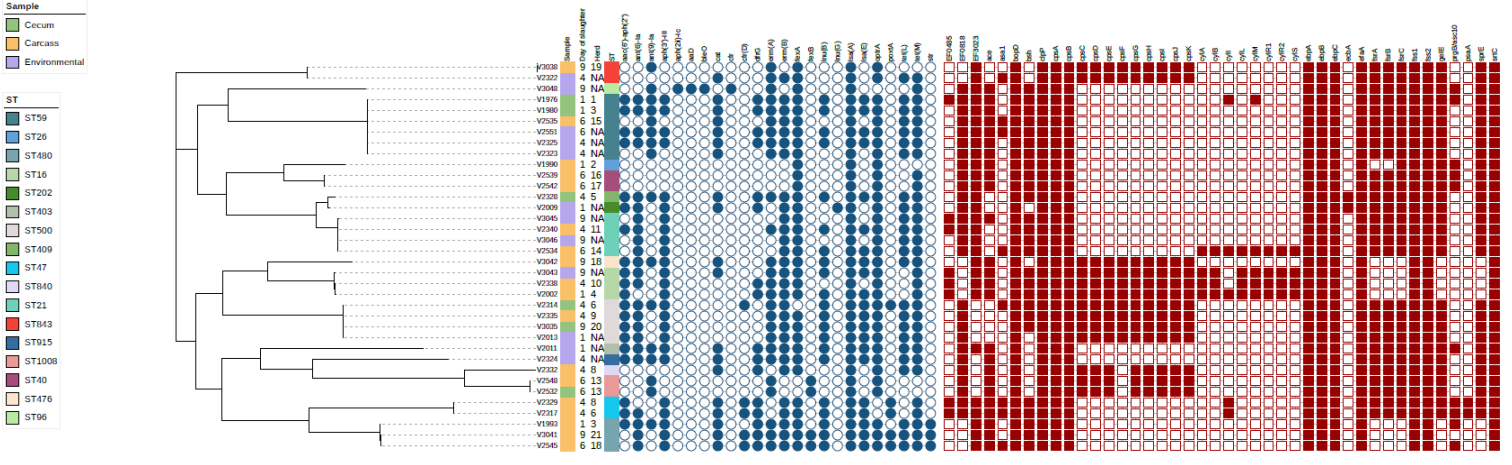


Figura 2. Albero filogenetico annotato utilizzando iTOL (https://itol.embl.de/). L'albero contiene gli 8 isolati di *E. faecium* analizzati nel presente studio. L'allevamento e il campione (carcassa, cieco e ambiente) di provenienza, il giorno di macellazione, il sequence type (ST), la presenza dei geni di antibiotico resistenza e fattori di virulenza di ciascun isolato sono rappresentati nell'albero filogenetico.

Figure 2. Phylogenetic tree annotated using iTOL (https://itol.embl.de/). The tree includes the 8 *E. faecium* isolates analyzed in the present study. The farm and sample source (carcass, cecum, and environment), the slaughter day, the sequence type (ST), as well as the presence of antibiotic resistance genes and virulence factors for each isolate are represented in the phylogenetic tree.

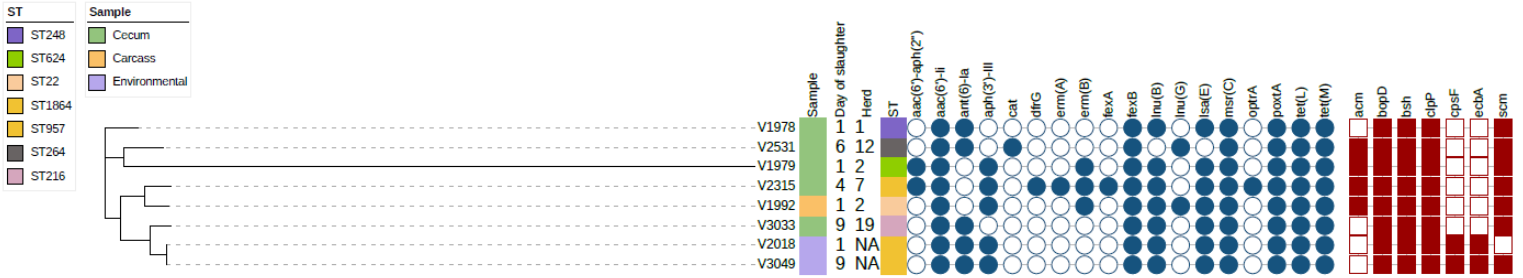


Tabella 1. Campioni positivi per *Enterococcus* spp. resistenti a florfenicolo, suddivisi per matrice.
Table 1. Florfenicol-resistant *Enterococcus spp.* positive samples, categorized by matrix of origin.

Matrice		Campioni positivi/totale (%)
Cieco		26/132 (19.7)
Carcasse		43/132 (32.6)
Tamponi ambientali	Pre-macellazione	4/50 (8)
	Post-macellazione	12/46 (26.1)
	Stalle di sosta	12/16 (12.5)

Tabella 2. Suddivisione delle specie di *Enterococcus* spp. resistenti a florfenicolo in base alla matrice di provenienza.
Table 2. Subdivision of *Enterococcus* species resistant to florfenicol based on the matrix of origin.

Matrice	Numero isolati	Specie batterica	Numero/totale isolati
Cieco	28	*E. faecalis*	6/28
		E. hirae	6/28
		E. avium	6/28
		E. faecium	5/28
		E. durans	2/28
		E. asini	2/28
		E. thailandicus	1/28
Carcasse	49	*E. faecalis*	33/49
		E. avium	9/49
		E. hirae	4/49
		E. faecium	2/49
		E. gallinarum	1/49
Ambiente	37	*E. faecalis*	20/37
		E. faecium	9/37
		E. avium	3/37
		E. hirae	3/37
		E. durans	1/37
		E. gallinarum	1/37

Tabella 3. Informazioni di ciascun isolato indagato nel presente studio.
Table 3. Whole dataset information on each isolate investigated in the present study.

ID	Specie batterica	N° campionamento	Tipo campione	Fase	Dettaglio	Allevamento	Categoria allevamento	MLST	ARGs
V1976	*Enterococcus faecalis*	1	Cieco	NA	NA	1	AF	ST59	*ant(9)-Ia, aac(6')-aph(2''), ant(6)-Ia, aph(3')-III, lsa(A), erm(A), lsa(E), lnu(B), erm(B), optrA, cat, fexA, tet(M), tet(L), dfrG*
V1978	*Enterococcus faecium*	1	Cieco	NA	NA	1	AF	ST248	*aac(6')-Ii, ant(6)-Ia, msr(C), lsa(E), lnu(B), poxtA, fexB, tet(M),tet(L)*
V1979	*Enterococcus faecium*	1	Cieco	NA	NA	2	Non-AF	ST624	*aac(6')-Ii, aac(6')-aph(2''), aph(3')-III, msr(C), lsa(E), lnu(B), erm(B), poxtA, fexB, tet(M), tet(L)*
V1980	*Enterococcus faecalis*	1	Cieco	NA	NA	3	Non-AF	ST59	*ant(9)-Ia, aac(6')-aph(2''), ant(6)-Ia, aph(3')-III, lsa(A), erm(A), lsa(E), lnu(B), erm(B), optrA, cat, fexA, tet(M), tet(L), dfrG*
V1990	*Enterococcus faecalis*	1	Carcassa	NA	NA	2	Non-AF	ST26	*lsa(A), optrA, fexA*
V1992	*Enterococcus faecium*	1	Carcassa	NA	NA	2	Non-AF	ST22	*aac(6')-Ii, aph(3')-III, msr©, lsa(E), lnu(B), erm(B), lnu(G), poxtA, fexB, tet(M), tet(L)*
V1993	*Enterococcus faecalis*	1	Carcassa	NA	NA	3	Non-AF	ST480	*ant(9)-Ia, aac(6')-aph(2''), ant(6)-Ia, aph(3')-III, str, lsa(A), erm(A), lsa(E), lnu(B), erm(B), optrA, cat, fexA, tet(M), tet(L), dfrG*
V2002	*Enterococcus faecalis*	1	Carcassa	NA	NA	4	Non-AF	ST16	*aac(6')-aph(2''), aph(3')-III, lsa(A), erm(A), lsa(E), lnu(B), erm(B), optrA, fexA, tet(M), dfrG*
V2009	*Enterococcus faecalis*	1	Ambiente	pre-macellazione	ganci vasca scottatura	NA	NA	ST202	*aac(6')-aph(2''), ant(6)-Ia, aph(3')-III, lsa(A), lnu(G), erm(B), optrA, fexA, cat, tet(M), tet(L), dfrG*
V2011	*Enterococcus faecalis*	1	Ambiente	post-macellazione	ganci vasca scottatura	NA	NA	ST403	*ant(9)-Ia, aac(6')-aph(2''), ant(6)-Ia, aph(3')-III, lsa(A), erm(A), lsa(E), lnu(B), erm(B), optrA, cat, fexA, tet(M), tet(L), dfrG*
V2013	*Enterococcus faecalis*	1	Ambiente	post-macellazione	scivolo carcassa	NA	NA	ST500	*aac(6')-aph(2''), ant(6)-Ia, aph(3')-III, lsa(A), lsa(E), lnu(B), erm(A), erm(B), optrA, fexA, tet(M), tet(L)*
V2018	*Enterococcus faecium*	1	Ambiente	post-macellazione	tavolo carnetta	NA	NA	ST1864	*aac(6')-Ii, ant(6)-Ia, aph(3')-III, msr(C), lsa(E), lnu(B), poxtA, fexB, tet(M), tet(L)*
V2328	*Enterococcus faecalis*	4	Cieco	NA	NA	5	AF	ST409	*ant(9)-Ia, aac(6')-aph(2''), ant(6)-Ia, aph(3')-III, lsa(A), erm(A), lsa(E), lnu(B), erm(B), optrA, fexA, cat, tet(M), tet(L), dfrG*
V2314	*Enterococcus faecalis*	4	Cieco	NA	NA	6	Non-AF	ST500	*ant(9)-Ia, aac(6')-aph(2''), ant(6)-Ia, aph(3')-III, lsa(A), erm(A), lsa(E), lnu(B), erm(B), optrA, poxtA, Cfr(D), tet(M), tet(L)*
V2315	*Enterococcus faecium*	4	Cieco	NA	NA	7	Non-AF	ST957	*aac(6')-Ii, aac(6')-aph(2''), aph(3')-III, msr(C), erm(A), lsa(E), lnu(B), erm(B), optrA, poxtA, fexA, fexB, tet(M), tet(L), dfrG*
V2317	*Enterococcus faecalis*	4	Carcassa	NA	NA	6	Non-AF	ST47	*ant(6)-Ia, aph(3')-III, aac(6')-aph(2''), lsa(A), lsa(E), lnu(B), erm(B), poxtA, Cfr(D), cat, fexA, tet(M), dfrG*
V2329	*Enterococcus faecalis*	4	Carcassa	NA	NA	8	AF	ST47	*aph(3')-III, aac(6')-aph(2''), lsa(A), lsa(E), lnu(B), erm(B), poxtA, Cfr(D), cat, fexA, tet(M), dfrG*
V2332	*Enterococcus faecalis*	4	Carcassa	NA	NA	8	AF	ST840	*lsa(A), erm(B), optrA, cat, fexA, tet(L), tet(M), dfrG*
V2335	*Enterococcus faecalis*	4	Carcassa	NA	NA	9	Non-AF	ST500	*ant(6)-Ia, aph(3')-III, aac(6')-aph(2''), lsa(A), lsa(E), lnu(B), erm(A), erm(B), optrA, fexA, tet(M), tet(L)*
V2338	*Enterococcus faecalis*	4	Carcassa	NA	NA	10	Non-AF	ST16	*ant(6)-Ia, aph(3')-III, aac(6')-aph(2''), lsa(A), erm(A), erm(B), optrA, fexA, tet(M), dfrG*
V2340	*Enterococcus faecalis*	4	Carcassa	NA	NA	11	Non-AF	ST21	*ant(6)-Ia, aph(3')-III, aac(6')-aph(2''), lsa(A), lsa(E), lnu(B), erm(A), erm(B), optrA, fexA, tet(M), tet(L)*
V2322	*Enterococcus faecalis*	4	Ambiente	pre-macellazione	scivolo carcassa	NA	NA	ST843	*lsa(A), erm(B), erm(A), optrA, cat, fexA, tet(M), tet(L)*
V2323	*Enterococcus faecalis*	4	Ambiente	pre-macellazione	bocchetta scarico	NA	NA	ST59	*ant(9)-Ia, lsa(A), erm(B), erm(A), optrA, cat, fexA, tet(M), tet(L)*
V2324	*Enterococcus faecalis*	4	Ambiente	post-macellazione	scivolo carcassa	NA	NA	ST915	*ant(9)-Ia, aac(6')-aph(2''), ant(6)-Ia, aph(3')-III, lsa(A), erm(A), lsa(E), lnu(B), erm(B), optrA, fexA, cat, tet(M), tet(L), dfrG*
V2325	*Enterococcus faecalis*	4	Ambiente	post-macellazione	bocchetta scarico	NA	NA	ST59	*ant(9)-Ia, aac(6')-aph(2''), ant(6)-Ia, aph(3')-III, lsa(A), erm(A), lsa(E), lnu(B), erm(B), optrA, fexA, cat, tet(M), tet(L), dfrG*
V2531	*Enterococcus faecium*	6	Cieco	NA	NA	12	Non-AF	ST264	*aac(6')-Ii, ant(6)-Ia, lnu(G) msr(C), poxtA, fexB, cat, tet(M), tet(L)*
V2532	*Enterococcus faecalis*	6	Cieco	NA	NA	13	Non-AF	ST1008	*ant(9)-Ia, lsa(A), erm(A), optrA,fexB*
V2534	*Enterococcus faecalis*	6	Carcassa	NA	NA	14	AF	ST21	*ant(6)-Ia, aph(3')-III, lsa(A), lsa(E), lnu(B), erm(B), optrA, fexA, tet(M), tet(L)*
V2535	*Enterococcus faecalis*	6	Carcassa	NA	NA	15	AF	ST59	*ant(9)-Ia, lsa(A), erm(A), erm(B), optrA, cat, fexA, tet(M), tet(L)*
V2539	*Enterococcus faecalis*	6	Carcassa	NA	NA	16	Non-AF	ST40	*lsa(A), optrA, fexA, tet(M)*
V2542	*Enterococcus faecalis*	6	Carcassa	NA	NA	17	AF	ST40	*lsa(A), optrA, fexA, tet(M)*
V2545	*Enterococcus faecalis*	6	Carcassa	NA	NA	18	Non-AF	ST480	*ant(6)-Ia, aph(3')-III, str, lsa(A), lsa(E), lnu(B), erm(A), erm(B), optrA, poxtA, fexA, fexB, Cfr(D), cat, tet(M), tet(L), dfrG*
V2548	*Enterococcus faecalis*	6	Carcassa	NA	NA	13	Non-AF	ST1008	*ant(9)-Ia, lsa(A), erm(A), optrA, fexB*

Tabella 4. Distribuzione dei valori di MIC tra i 44 isolati di *E. faecalis* ed *E. faecium.* Tra parentesi sono indicate le percentuali. L'area in grigio rappresenta il *range* di concentrazioni testate per ciascun antibiotico. Le linee verticali in verde indicano la soglia per la resistenza, mentre le linee tratteggiate indicano la sensibilità intermedia secondo quanto indicato dal CLSI.

Table 4. Distribution of MIC values among the 66 *S. suis* isolates. Percentages are shown in brackets. Shades areas show the range of values tested for each antibiotic. Vertical green bars indicate the threshold values for clinical resistance, while dotted lines indicate intermediate susceptibility according to CLSI.

Molecola antibiotica	Valori di MIC µg/ml																		
	0,015	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096
Tigeciclina					22 (50)	21 (47,7)	1 (2,3)												
Tetraciclina						3 (6,8)					1 (2,3)		40 (90,9)						
Cloramfenicolo											4 (9)	37 (84,1)	3 (6,8)						
Daptomicina *Enterococcus* spp.				16 (36,4)		7 (15,9)	12 (27,3)	1 (2,3)											
Daptomicina *E. faecium*				2 (4,5)		2 (4,5)	4 (9)												
Streptomicina															30 (68,2)		5 (11,4)	6 (13,6)	3 (6,8)
Tilosina tartrato								2 (4,5)	8 (18,2)				34 (77,3)						
Quinupristina/Dalfopristina								6 (13,6)	2 (4,5)	21 (47,7)	15 (34,1)								
Linezolid									12 (27,3)	30 (68,2)	2 (4,5)								
Nitrofurantoina									7 (15,9)	23 (52,3)	5 (11,4)	1 (2,3)	7 (15,9)	1 (2,3)					
Penicillina								25 (56,8)	16 (36,4)	2 (4,5)		1 (2,3)							
Kanamicina													15 (34,1)			1 (2,3)	3 (6,8)	25 (56,8)	
Eritromicina						2 (4,5)	3 (6,8)	5 (11,4)	2 (4,5)	1 (2,3)	31 (70,4)								
Ciprofloxacina						2 (4,5)	9 (20,4)	19 (43,2)	8 (18,2)	6 (13,6)									
Vancomicina						5 (11,4)	19 (43,2)	11 (25)	9 (20,4)										
Lincomicina											44 (100)								
Gentamicina													37 (84,1)		1 (2,3)	2 (4,5)	3 (6,8)	1 (2,3)	

RISULTATI PRELIMINARI SULLO STUDIO DI SIEROPREVALENZA DI SALMONELLA NEL SUINO PESANTE ALL'ETÀ DI MACELLAZIONE

PRELIMINARY RESULTS OF THE SEROPREVALENCE STUDY OF SALMONELLA IN HEAVY PIGS AT SLAUGHTER

TORREGGIANI C.[1], PUPILLO G.[1], D'ANNUNZIO G.[1], DE LORENZI G.[1], GUAZZETTI S.[2], BENATTI D.[3], MASSACCI F. R.[4], PANICCIÀ M.[4], VIO D.[5], LUPPI A.[1], OSTANELLO F.[6]

[1]*Istituto Zooprofilattico della Lombardia e dell'Emilia Romagna, IZSLER*
[2]*Azienda USL – IRCSS di Reggio Emilia*
[3]*Medico Veterinario Macello OPAS*
[4]*Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche "Togo Rosati"*
[5]*Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie*
[6]*Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna*

Parole chiave: Salmonellosi, sieroprevalenza, categorizzazione aziende
Key Words: salmonellosis, seroprevalence, herd categorization

Riassunto

Il lavoro riporta i risultati preliminari di uno studio della valutazione della prevalenza per *Salmonella* nei suini regolarmente macellati, condotto nell'ambito di un progetto di ricerca dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna. Mediante test ELISA, è stata valutata la presenza di anticorpi anti-*Salmonella* in un campione di 30 animali/partita scelti in modo casuale, utilizzando gli stessi campioni di sangue previsti dal piano della malattia di Aujeszky. I prelievi sono stati effettuati da 67 partite di suini pesanti, macellati in uno stabilimento dell'Emilia-Romagna, nel 2024. Di queste 67 partite, 45 (67%) provenivano da allevamenti della Lombardia e 22 da allevamenti dell'Emilia-Romagna. Dei complessivi 2010 sieri esaminati, 1418 (70,5%; 95%CI: 68,5-72,5) sono risultati positivi alla ricerca di anticorpi anti-*Salmonella*. In 66 partite (98,5%) ò stato rilevato almeno un animale sieropositivo. La prevalenza per partita variava da un minimo di 0% (1 partita) ad un massimo del 100%. Utilizzando una classificazione arbitraria della condizione sanitaria basata sui quartili (Q) della distribuzione della prevalenza, il 25% delle partite ha presentato una prevalenza inferiore al 53,3% (Q1), il Q2 era compreso tra 53,3 e 73,3%, il Q3 tra 73,3 e 96,7%. In 16 partite (23,9%) la prevalenza era del 100%. La prevalenza media è risultata leggermente più elevata nelle partite provenienti dalla Regione Lombardia (73,6%) rispetto a quella delle partite provenienti dall'Emilia-Romagna (61,4%). Tale differenza non è risultata statisticamente significativa (p>0,05); analogamente, anche la distribuzione delle aziende all'interno dei quartili non differiva in modo significativo.

Abstract

This study presents the preliminary results of an assessment of the prevalence of *Salmonella* in regularly slaughtered pigs, conducted as part of a research project by the Istituto Zooprofilattico Sperimentale of Lombardia and of Emilia-Romagna. Using ELISA tests, the presence of *Salmonella* antibodies was evaluated in a sample of 30 randomly selected animals per batch, using the same blood samples collected for the Aujeszky's disease monitoring plan. The samples were taken from 67 batches of heavy pigs slaughtered at a facility in Emilia-Romagna

in 2024. Of these 67 batches, 45 (67%) came from farms located in Lombardia Region, while 22 came from farms in Emilia-Romagna. Among the 2,010 sera analyzed, 1,418 (70.5%; 95% CI: 68.5-72.5) tested positive for *Salmonella* antibodies. At least one seropositive animal was detected in 66 batches (98.5%). The prevalence per batch ranged from a minimum of 0% (1 batch) to a maximum of 100%. Using an arbitrary classification of health status based on the quartiles (Q) of the prevalence distribution, 25% of the batches had a prevalence below 53.3% (Q1), Q2 ranged between 53.3% and 73.3%, and Q3 between 73.3% and 96.7%. In 16 batches (23.9%), prevalence reached 100%. The average prevalence was slightly higher in batches from the Lombardy region (73.6%) compared to those from Emilia-Romagna (61.4%). However, this difference was not statistically significant ($p>0.05$). Similarly, the distribution of farms across quartiles did not differ significantly.

INTRODUZIONE

Salmonella è uno dei principali patogeni intestinali del suino, responsabile sia di malattie negli animali, quali la salmonellosi setticemica associata a *Salmonella* Choleraesuis e l'enterocolite associata a *S*. Typhimurium e alla sua variante monofasica (*S*. 1,4,[5],12:i:-), sia di rischi per la salute pubblica correlati al consumo di prodotti a base di carne suina contaminati. Inoltre, l'infezione da *Salmonella* causa significative perdite economiche in conseguenza dell'aumento della mortalità, del ritardo della crescita e della necessità di utilizzare antibiotici per la terapia delle forme cliniche. Tuttavia, le infezioni da *Salmonella*, con particolare riferimento a quelle sostenute da *S*. Typhimurium e dalla sua variante monofasica (*S*. 1,4,[5],12:i: -), si presentano frequentemente in forma sub-clinica costituendo così una potenziale fonte di contaminazione delle carcasse al macello e, di conseguenza, un rischio per la salute dei consumatori.

Da molti anni, in Europa, la salmonellosi è la seconda infezione gastrointestinale umana di origine alimentare per numero di casi segnalati, preceduta dalla campylobatteriosi.

Nel 2023 sono stati segnalati 1115 focolai di *Salmonella* di origine alimentare in Europa, per un totale di 9210 casi umani che hanno portato a 1726 ospedalizzazioni e hanno provocato 17 decessi (EFSA, 2024). Anche se la maggior parte di questi focolai sono riconducibili al consumo di uova, prodotti a base di uova, mixed food e carne di pollo, a livello comunitario il 23,7% dei campioni di carne suina esaminati è risultato contaminato da *Salmonella* con valori prossimi a quelli della carne di pollo (29,8%). I dati delle analisi effettuate dall'Autorità Competente indicano che, in Europa, mediamente il 3% delle carcasse di suino è contaminato (4% in Italia) (EFSA, 2024). Uno studio pubblicato nel 2008 aveva rilevato una prevalenza di *Salmonella* del 10,3% nei suini al macello all'interno dell'Unione Europea (EFSA, 2008); la riduzione osservata è probabilmente da attribuire ai piani di sorveglianza e controllo progressivamente implementati negli anni da numerosi paesi. In Italia, ma in anche in altri paesi europei, il terzo sierotipo, dopo *S.* Enteritidis e *S.* Typhimurium di più frequente isolamento sia da casi umani che da matrici veterinarie (animali e alimenti) è *Salmonella* Typhimurium variante monofasica 1,4,[5],12:i:-, che riconosce il suino come principale serbatoio. L'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA) ha stimato che circa il 10-20% delle infezioni umane da *Salmonella* nell'UE può essere attribuibile al serbatoio suino. Una riduzione dell'80-90% della prevalenza di *Salmonella* dai linfonodi di suini regolarmente macellati potrebbe comportare una riduzione comparabile del numero di casi umani attribuibili ai prodotti a base di carne di maiale (EFSA, 2010).

Il regolamento (CE) N. 2160/2003 del 17 novembre 2003 sul controllo della *Salmonella* e di altri agenti zoonotici impone agli Stati membri di istituire programmi di controllo nazionali per raggiungere gli obiettivi comunitari nella riduzione di agenti zoonotici negli animali, tra cui *Salmonella enterica* nei suini.

A livello Europeo numerosi paesi come Germania, Danimarca, Olanda, Regno Unito e Irlanda

hanno definito da tempo programmi di controllo, che si prefiggono di ridurre i livelli di infezione in allevamento e che si basano sulla sorveglianza sierologica al macello (da campioni di sangue e/o *meat juice*). La definizione della prevalenza intra-allevamento consente di classificare i diversi stabilimenti all'interno di categorie di rischio e permette di agire su quelli con una maggiore sieroprevalenza, a cui si correla un rischio più alto di infezione. La categorizzazione viene utilizzata per avviare misure di riduzione della prevalenza in varie fasi del ciclo produttivo. In Svezia, Finlandia e Norvegia, la prevalenza è molto bassa e, di conseguenza, in questi paesi, i programmi sono mirati all'eradicazione. Ad esempio in Danimarca, nel 2010 la prevalenza di *Salmonella* nella carne suina si attestava al 1.2% (Alban, 2012), mentre uno studio di Merle et al., 2010 riporta i risultati del monitoraggio in Germania negli anni 2003-2008; nel 2000 erano intorno al 7,3% nei suini all'ingrasso, mentre, nel 2008 i livelli di sieroprevalenza si attestavano al 8%.

Il diverso livello di prevalenza negli allevamenti suini determina variabilità negli obiettivi perseguiti dai diversi programmi di controllo implementati a livello nazionale: l'obiettivo dell'eradicazione non può essere seguito nel resto dei paesi europei, in cui i valori di prevalenza sono medio-alti. Pertanto, l'obiettivo della maggior parte di questi piani è quello di ridurre il più possibile i livelli di infezione/prevalenza di *Salmonella*.

In ambito italiano, uno studio longitudinale sull'infezione da *Salmonella* negli allevamenti suini italiani di Merialdi et al. del 2008 ha rilevato livelli di sieroprevalenza tra il 66% e 100%. Nonostante le poche informazioni presenti in letteratura suggeriscano livelli elevati di prevalenza di *Salmonella* al macello, ad oggi, non sono previsti piani di controllo e azioni mirate e strutturate per la riduzione della prevalenza di *Salmonella* nella realtà suinicola italiana.

Ulteriori necessità di indagine si evidenziano in relazione al peculiare sistema produttivo italiano, che si caratterizza da un peso vivo di macellazione di 160-180 kg, ciò implica tre o quattro mesi aggiuntivi nella durata del ciclo produttivo. Questo rende i dati epidemiologici valutati in altri Paesi non pienamente comparabili alla situazione italiana.

L'obiettivo di questo studio preliminare, parte di una più ampia valutazione condotta a livello nazionale, è quello di fornire una valutazione aggiornata della prevalenza sierologica di *Salmonella* nei suini pesanti all'età di macellazione. Parallelamente è stato condotto un tentativo di classificazione del rischio in base alla valutazione della prevalenza sierologica di ciascuna partita esaminata**.**

MATERIALI E METODI

Prelievo e analisi dei campioni

Nell'ambito del progetto di ricerca corrente dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna, dal titolo "Prevalenza di *Salmonella* al macello, studio dei fattori di rischio e misure per la riduzione della prevalenza nel suino", nel periodo febbraio-dicembre 2024 sono state analizzate 67 partite di suini, scelte a caso, provenienti da altrettanti allevamenti da ingrasso dell'Emilia-Romagna e della Lombardia e macellate in uno stabilimento dell'Emilia Romagna. Per ogni partita sono stati analizzati 30 campioni di sangue prelevati al momento della iugulazione utilizzando il campionamento previsto dal piano per la malattia di Aujeszky. Le indagini sierologiche sono state eseguite utilizzando un test sierologico ELISA del commercio per anticorpi nei confronti di *Salmonella*.

Analisi statistica

Preliminarmente, per ciascuna partita è stata calcolata la prevalenza di animali sieropositivi per *Salmonella*. Allo scopo di categorizzare le partite in funzione della proporzione di animali sieropositivi per *Salmonella,* sono stati calcolati i quartili della distribuzione delle prevalenze. Un quartile è una misura statistica che divide un insieme di dati ordinati in quattro parti uguali,

ciascuna contenente il 25% delle osservazioni. Il primo quartile (Q1) e il valore al di sotto del quale si trova il 25% dei dati; il Q2 (mediana) è il valore al di sotto del quale si colloca il 50% delle osservazioni, ecc.
Arbitrariamente, lo stato sanitario delle partite con prevalenza compresa all'interno del primo quartile (Q1) è stato considerato "ottimale"; quello delle partite dei Q2, Q3 e Q4 è stato considerato, rispettivamente "buono", "preoccupante" e "pessimo". La partita è stata definita come positiva quando almeno uno dei sieri esaminati ha fornito esito positivo alla ricerca di anticorpi specifici anti-*Salmonella*. La proporzione di partite positive e la distribuzione dei quartili per Regione di provenienza sono state valutate utilizzando il test chi-quadrato. L'eventuale differenza della prevalenza per partita, in funzione della Regione di provenienza degli animali, è stata valutata utilizzando il test U di U di Mann-Whitney Tutte le analisi statistiche sono state condotte utilizzando il software IBM SPSS ver. 29.0 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA). La significatività statistica è stata fissata ad un valore di $p<0,05$.

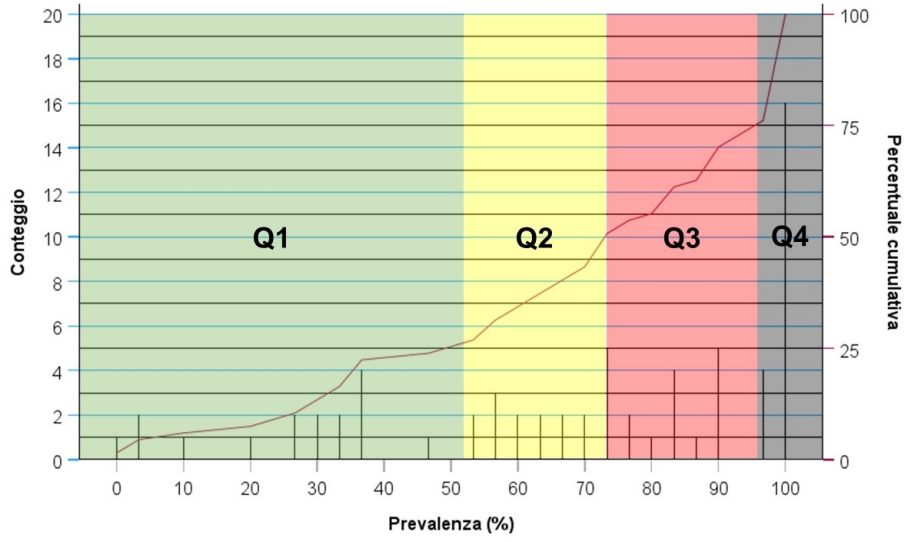
RISULTATI

Sono state analizzate 67 partite di cui 45 provenivano da allevamenti della Lombardia e 22 da allevamenti dell'Emilia-Romagna. Al momento della iugulazione, da ciascuna partita è stato prelevato un campione di sangue da 30 soggetti scelti in maniera casuale. Complessivamente sono stati esaminati 2010 sieri di cui 1418 sono risultati positivi alla ricerca di anticorpi anti-*Salmonella* (70,5%; 95%CI: 68,5-72,5). Sessantasei delle 67 partite esaminate presentava almeno un animale sieropositivo. La distribuzione dei valori di prevalenza delle partite è riportata in fig. 1.

Figura 1. Distribuzione dei valori di prevalenza per *Salmonella* (linee verticali) in ciascuna delle 67 partite esaminate e percentuale cumulativa. Le aree colorate indicano i quartili (Q) della prevalenza

Figure 1. Distribution of prevalence values of *Salmonella* seropositive animals in each of the 67 batches examined and cumulative percentage. The shaded areas indicate the quartiles (Q) of prevalence

La tab 1. riporta le statistiche descrittive della prevalenza osservata nelle 67 partite. La prevalenza



variava da un minimo di 0% (1 partita; 1,7%; provenienza Regione Emilia-Romagna) ad un massimo del 100% (16 partite; 23,9%) che ha rappresentato il valore più frequente (moda). La media dei valori di prevalenza è stata pari al 69,6%. I quartili della distribuzione dei valori di prevalenza sono stati i seguenti; Q1: 53,3; Q2: 73,3; Q3: 96,7.
La prevalenza media è risultata leggermente più elevata nelle partite provenienti dalla Regione Lombardia (73,6%) rispetto a quella delle partite provenienti dall'Emilia-Romagna (61,4%). Tale differenza non è risultata statisticamente significativa (p>0,05); analogamente, anche la distribuzione delle aziende all'interno dei quartili non differiva in modo significativo (tab. 2).

Tabella 1. Statistiche descrittive dei valori di prevalenza per partita

Table 1. Descriptive statistics of prevalence values per batch

Media	Moda	Valore minimo	Valore massimo	Q1	Q2	Q3
69,6	100	0	100	53,3	73,3	96,7

Tabella 2. Distribuzione delle partile all'interno dei quartili per Regione di provenienza degli animali.

Table 2. Distribution of batches within quartiles by Region of origin.

	Regione		
Quartile	**Emilia-Romagna (%)**	**Lombardia (%)**	**Totale**
Q1	8 (36,4)	8 (17,8)	16
Q2	5 (22,7)	13 (28,9)	18
Q3	2 (9,1)	15 (33,3)	17
Q4	7 (31,8)	9 (20,0)	16
Totale	22	45	67

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I risultati indicano che nei suini pesanti all'età di macellazione, la prevalenza di capi e partite sierologicamente positive per *Salmonella* è particolarmente elevata: 66 delle 67 partite esaminate (90,5%) presentava almeno un animale sieropositivo e la media dei valori di prevalenza è stata pari a 69,6%.
La prevalenza media è risultata leggermente più elevata nelle partite provenienti dalla Regione Lombardia (73,6%) rispetto a quella delle partite provenienti dall'Emilia-Romagna (61,4%). Tale differenza non è risultata statisticamente significativa (p>0,05); analogamente, anche la distribuzione delle aziende all'interno dei quartili non differiva in modo significativo.
Prendendo in considerazione la suddivisione in quartili della prevalenza, si può osservare che il primo 25% delle partite esaminate (Q1) presentava prevalenze comprese tra 0% e circa il 53,33%, mentre nei successivi quartili è stata osservata una prevalenza compresa tra il 53% e 73,3% (Q2) e tra il 73% al 96,7% (Q3). Il 25% delle partite esaminate ha presentato una prevalenza superiore al 96,7% (Q4).
Partite di animali macellati in altre regioni, presi in esame all'interno dello stesso progetto di ricerca finanziato dal Ministero della Salute (dati non pubblicati), hanno presentato risultati solo leggermente migliori: 21,9% delle partite con prevalenza 100%, 4,5% con nessun capo sieropositivo, media delle prevalenze: 63,1%, Q1: 36,7%; Q2: 66,7%; Q3: 94,2%.
I dati ottenuti sono tuttavia l'esito di un'indagine preliminare; ne consegue che le valutazioni

che ne derivano sono necessariamente parziali e andranno rivalutate analizzando un più ampio numero di partite/aziende campionate. Tuttavia, in assenza di precedenti valutazioni condotte in Italia, possono rappresentare una prima stima, in sede di macellazione, della prevalenza sierologica di *Salmonella* nei suini pesanti.
Per confrontare correttamente questi dati con quelli di altri paesi europei, è tuttavia necessario prendere in considerazione alcuni fattori: a) in altri paesi, i piani di controllo sono già in essere da diverso tempo e, b) l'età di macellazione è sensibilmente più bassa. I programmi applicati nei paesi europei si basano per lo più su approccio sierologico, con eventuale approfondimento microbiologico, al fine di categorizzare gli allevamenti in funzione del rischio di *Salmonella* e gestire conseguentemente l'ordine di macellazione in base alla categoria dell'allevamento di provenienza degli animali. Negli allevamenti ad alta prevalenza vengono inoltre valutate delle misure di controllo.
Nonostante la sorveglianza degli allevamenti e la loro categorizzazione in base alla valutazione sierologica della prevalenza di *Salmonella*, non tutti i programmi in essere in altri paesi europei sono obbligatori, hanno l'obiettivo della riduzione della prevalenza o prevedono sistemi di penalizzazione. Solo i programmi danese e tedesco hanno istituito sistemi di penalizzazione che riducono i pagamenti per le carcasse provenienti da allevamenti infetti. Inoltre, alcuni programmi (come in Danimarca) monitorano anche la prevalenza nelle carcasse. Gli obiettivi di prevalenza danesi si basano sulla prevalenza nelle carcasse piuttosto che su quella negli allevamenti. La prevalenza di *Salmonella* nelle carcasse fornisce informazioni complementari alla sorveglianza sierologica, riflettendo il potenziale ingresso di *Salmonella* nella catena alimentare (stabilimenti di sezionamento e rivenditori) (Carvajal, 2024).

Il programma di controllo applicato in Danimarca si basa sulla sorveglianza sierologica e sulla categorizzazione delle aziende in 3 livelli (Dahl, 2017). Nel primo livello rientrano le aziende con valori di sieroprevalenza inferiori al 40%, nel livello 2 vengono comprese le aziende con prevalenza compresa tra il 40% e il 65%; nel livello peggiore (livello 3) vengono categorizzate gli allevamenti con prevalenza >65%. La percentuale di allevamenti classificati nel livello 2 e 3 nel 2018 in Danimarca era intorno al 4% (Correia-Gomes, 2021). Il programma implementato in Germania per il monitoraggio di *Salmonella* è stato avviato nel 2002 dal sistema di garanzia della qualità tedesco per la filiera alimentare, il cosiddetto "QS-System" (Blaha, 2004, Merle, 2010). Il principio fondamentale del programma, basato sulle esperienze del sistema danese avviato nel 1995, è l'identificazione di allevamenti che hanno la più alta prevalenza di *Salmonella.* Il metodo di valutazione della prevalenza intra-allevamento è il test sierologico sistematico su campioni di *meat juice* prelevati casualmente dalle carcasse di 60 suini per allevamento in un periodo di 12 mesi. Gli allevamenti sono quindi classificati nelle seguenti categorie: categoria I (prevalenza zero o bassa) sono partite con meno del 20% di suini con campioni di *meat juice* positivi. Categoria II (media prevalenza) sono allevamenti con più del 20% e meno del 40% di campioni positivi. La categoria III (alta prevalenza) identifica gli allevamenti con più del 40% di campioni positivi. Questa categorizzazione è utilizzata per consentire al mattatatoio di pianificare le operazioni di macellazione, cominciando da partite provenienti dagli allevamenti di categoria I, cioè a bassa prevalenza, prima di macellare i suini di categoria III, nell'ottica di ridurre la contaminazione lungo la filiera. Il programma tedesco richiede ai proprietari degli allevamenti di suini di categoria III di implementare misure specifiche di riduzione della prevalenza di *Salmonella* nei loro allevamenti.

Nel lavoro di Merle et al. del 2010, vengono presentati diversi studi sulla sieroprevalenza di Salmonella in Germania. Ad esempio, nel 2004 è stata osservata una sieroprevalenza dell'8% nei suini da ingrasso, mentre nel 2007 la sieroprevalenza nelle scrofe si attestava attorno al 9,9%. Il controllo di *Salmonella* negli allevamenti è complesso e richiede interventi che inte-

ressano 4 categorie di fattori: 1) igiene dell'allevamento (pulizia e disinfezione, controllo dei roditori e degli altri vettori, controllo delle movimentazioni del personale e dei veicoli, gestione delle deiezioni); 2) tipo di alimentazione (pellet o farina; dimensione delle particelle, secco o umido) e acidificazione del mangime; 3) gestione dell'allevamento (dimensione, tipo di allevamento, sistema tutto pieno/tutto vuoto, quarantena e sistemi di housing (tipologia dei box); 4) gestione sanitaria (controllo della degli animali, vaccinazioni e trattamenti antibiotici) (Fosse, 2009, Belœil, 2004).

La complessità e il costo di questi interventi è probabilmente il motivo per cui in alcuni paesi europei quali Olanda, Irlanda e Belgio, che non prevedono nei loro piani sanzioni per allevamenti ad alta prevalenza il sistema è fallito. Senza la sanzione, la motivazione a ridurre la prevalenza in azienda potrebbe non essere così cruciale (Carvajal, 2024). In molti paesi industrializzati sono state messe in atto azioni per mitigare la principale zoonosi di origine alimentare, che, insieme alla resistenza antimicrobica e all'inquinamento ambientale da liquami, sono i principali problemi One Health che l'industria suina dovrà affrontare nei prossimi anni. L'Unione Europea ha guidato l'iniziativa con programmi obbligatori consolidati nelle specie aviarie. Tuttavia, il successo e i progressi nella produzione avicola contrastano con la lenta attuazione delle azioni nell'industria suina. Una maggiore complessità dei sistemi di produzione, l'epidemiologia delle infezioni e la mancanza di strategie chiare per mitigare la salmonellosi ne hanno scoraggiato il controllo, con paesi che non hanno implementato alcun controllo e altri che lo hanno interrotto. É importante ricordare che i programmi di monitoraggio e sorveglianza offrono informazioni preziose per mitigare i rischi di diffusione del patogeno. Il presente lavoro è una iniziale analisi del livello di sieroprevalenza di *Salmonella*, ulteriori approfondimenti saranno necessari per comprendere meglio la problematica, ma ciò potrebbe fornire le basi per futuri piani di controllo e riduzione della prevalenza di S*almonella* in allevamento e, di conseguenza, al macello.

RINGRAZIAMENTI
Questo studio è stato finanziato dal Ministero della Salute (PRC2023003).

BIBLIOGRAFIA

1. EFSA, ECDC, (2024) The European Union One Health 2023 Zoonoses report. EFSA Journal.;22:e9106. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.9106
2. EFSA, (2008) EuropeanFood Safety Authority, httpps://efsa. Onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2008.206r
3. EFSA. (2010), "Scientific opinion on a quantitative microbiological risk assessment of Salmonella in slaughter and breeder pigs." EFSA J. 8:1547. doi: 10.2903/j.efsa.2010.1547
4. Regolamento (CE) N. 2160/2003 del Parlamento Europeo E Del Consiglio del 17 novembre 2003, sul controllo della salmonella e di altri agenti zoonotici specifici presenti negli alimenti.
5. Alban F.M. Baptista V. Møgelmose, L.L. Sørensen, H. Christensen, S. Aabo, J. Dahl, (2012)Salmonella surveillance and control for finisher pigs and pork in Denmark — A case study, Food Research International, Volume 45, Issue 2, Pages 656-665, ISSN 0963-9969, https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.050.
6. Merialdi G., Barigazzi G., Bonilauri P., Tittarelli C., Bonci M., D'incau M. and Dottori M. (2008), Longitudinal Study of *Salmonella* Infection in Italian Farrow-To-Finish Swine Herds. Zoonoses and Public Health, 55: 222-226**.** https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2008.01111.x
7. Merle R., Kösters S., May T., Portsch U., Blaha T., Kreienbrock L.(2010), Serological Salmonella monitoring in German pig herds: results of the years 2003-2008. Prev Vet

Med.;99(2-4):229-233. doi:10.1016/j.prevetmed..02.007
8. Dahl et al. (2017) Salmonella Control in the Pig and Pork Production in Denmark—Lessons Learnt. Disponibile online: https://www.pig333.com/articles/salmonella-control-in-the-pig-and-pork-production-in-denmark-%E2%80%93-lessons_12329/#:~:text=Salmonella%20control%20in%20the%20pig%20and%20pork%20production%20in%20Denmark%20%E2%80%93%20lessons%20learnt&text=The%20success%20of%20the%20Danish,to%20control%20in%20primary%20production.
9. Carvajal A., Kramer M., Argüello, H., (2024), Salmonella Control in Swine: A Thoughtful Discussion of the Pre- and Post-Harvest Control Approaches in Industrialized Countries. Animals, 14, 1035. https://doi.org/10.3390/ani14071035
10. Correia-Gomes, C., Leonard, F., & Graham, D. (2021). Description of control programmes for *Salmonella* in pigs in Europe. Progress to date? *Journal of Food Safety*, 41(5), e12916. https://doi.org/10.1111/jfs.12916
11. Blaha T. (2004), Bisherige Erkenntnisse aus dem QS-Salmonellenmonitoring- und -reduzierungsprogramm [Up-to-date information from the German QS salmonella monitoring and reduction programme]. Dtsch Tierarztl Wochenschr.;111(8):324-326.
12. Fosse J., Seegers H., Magras C. (2009). Prevalence and risk factors for bacterial food-borne zoonotic hazards in slaughter pigs: a review. Zoonoses and public health, 56: 429-454.
13. Belœil P.-A., Fravalo P., Fablet C., Jolly J.-P., Eveno E., Hascoet Y., Chauvin C., Salvat G., Madec F. (2004). Risk factors for Salmonella enterica subsp. enterica shedding by market-age pigs in French farrow-to-finish herds. Preventive veterinary medicine, 63: 103-120.

MONITORAGGIO DELLA DIFFUSIONE DI *BRUCELLA* SPP. NELLE POPOLAZIONI SUINE DOMESTICHE DELLA SARDEGNA

MONITORING THE SPREAD OF BRUCELLA SPP. IN DOMESTIC PIG POPULATIONS IN SARDINIA

COCCOLLONE A.[1], MANDAS D.[1], LOI F.[2], SEDDA P[1]., BRUNDU D. [1], PISEDDU T. [1], PINNA L.[1]

[1]Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna;
[2]Osservatorio Epidemiologico Veterinario Regionale, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Cagliari, Italy.

Parole chiave: *Brucella spp.*, suini domestici
Key Words: *Brucella spp.*, domestic pigs,

Riassunto

I dati relativi alla Sardegna, sulla diffusione della brucellosi suina, sono scarsi e risalgono per lo più al periodo 2007-2010. Ciò che emerge è che l'unica specie di *Brucella* circolante in Sardegna, tra i suini, è la *B. suis* e di tutti gli allevamenti oggetto di controllo, che presentavano problemi a carico della sfera riproduttiva, il 33% ha manifestato sieropositività. Recentemente, alcune segnalazioni nella nostra regione evidenziano positività sierologiche in suini domestici e cinghiali e, all'inizio del 2021, sono stati notificati 2 focolai di brucellosi suina con sintomatologia clinica e isolamento di *Brucella suis*.

Alla luce di questi scarsi dati, è stato ritenuto necessario condurre un nuovo monitoraggio. Sono stati testati sieri di suini domestici provenienti da tutte le AASLL del territorio regionale. I campioni sono stati analizzati prima con metodica SAR e successivamente con metodica FDC.

I dati ottenuti risultano importanti per avere un quadro più dettagliato e aggiornato, e inoltre per poter condurre in futuro uno studio più ampio e rappresentativo dell'intera popolazione.

Abstract

A few data on the spread of porcine brucellosis in Sardinia are available and mostly date back to the period 2007-2010. *B. suis* is the only species of *Brucella* circulating in Sardinia, among pigs. Between all the monitored farms which presented reproductive problems 33% were seropositive. Recently, some reports in our region highlight serological positivity in domestic pigs and wild boars and two outbreaks of swine brucellosis were reported at the beginning of 2021with clinical symptoms and isolation of *Brucella suis*.

Due to this limited data, it was necessary to carry out a new monitoring. Domestic pigs of all regional territory were sampled; samples were analyzed first with SAR method and then with FDC method.

The obtained data are important to have a more detailed and updated picture, and also to be able to conduct a larger and more representative study of the entire population in the future.

INTRODUZIONE

Brucellosi è il nome generico che indica infezioni causate da diverse specie appartenenti al genere *Brucella* che interessano sia gli animali sia l'uomo. *Brucella abortus, B. melitensis e B. suis* sono le specie di maggior rilievo per la loro elevata patogenicità e per questo contemplate anche dalla a nuova normativa sulla Sanità Animale, in particolare dal Regolamento 429/2016 e dai Regolamenti Delegati, come si evince dalla tabella di cui all'articolo 2 del Regolamento 2018/1882, (Tabella 1).

Nel caso specifico delle popolazioni suine, tale infezione è provocata da *Brucella suis*, la quale si presenta con diversi biotipi. I biotipi 1, 2 e 3 infettano nello specifico maiali e cinghiali, provocando patologie a carico del sistema riproduttivo. Negli individui di sesso maschile vengono intaccati prevalentemente testicoli, prostata, epididimo, vescicole seminali o ghiandole bulbo-uretrali, mentre nelle femmine la patologia riguarda la placenta e il feto con conseguente aborto.

La brucellosi negli animali ha un importante impatto economico, in quanto causa di aborti, natimortalità e diminuzione di fertilità nelle specie allevate; inoltre rappresenta una delle zoonosi maggiormente diffuse a livello mondiale. In Sardegna non esiste attualmente un piano di monitoraggio e sorveglianza per quanto riguarda il settore suinicolo e i dati relativi a questa regione sono scarsi e risalgono per lo più al periodo 2007-2010, fatta eccezione per alcune sporadiche segnalazioni recenti in suini domestici e cinghiali.

Nome della malattia elencata	Categoria della malattia elencata	Specie e gruppi di specie
Infezione da *Brucella abortus, B. melitensis* e *B. suis*	B+D+E	*Bison ssp., Bos ssp., Bubalus ssp., Ovis ssp., Capra ssp.*
	D+E	*Artiodactyla* diversi da *Bison ssp., Bos ssp., Bubalus ssp., Ovis ssp., Capra ssp.*
	E	Perissodactyla, Carnivora, Lagomorpha

Tabella 1. "Malattia di categoria B»: "malattia che deve essere oggetto di controllo in tutti gli Stati membri allo scopo di eradicarla in tutta l'Unione", di cui all'art. 9 del regolamento (UE) 2016/429; «malattia di categoria D»: "malattia per la quale sono necessarie misure per evitarne la diffusione a causa del suo ingresso nell'Unione o dei movimenti tra Stati membri", di cui all'art. 9 del regolamento (UE) 2016/429; «malattia di categoria E»: "malattia elencata per la quale vi è la necessità di sorveglianza all'interno dell'Unione", di cui all'art. 9 del regolamento (UE) 2016/429 – Art. 1 e Art. 2 del Regolamento 2018/1882.

MATERIALI E METODI

Questo lavoro ha previsto il monitoraggio di suini domestici, secondo un definito piano di campionamento che ha incluso tutte le AASSLL del territorio regionale, al fine di valutare la diffusione della brucellosi suina in Sardegna.

I campioni di siero di suino sono stati analizzati utilizzando la tecnica di sieroagglutinazione rapida, SAR; i campioni che hanno dato un esito positivo a questo esame sono stati analizzati con un'altra tecnica che è la fissazione del complemento (FdC).

Il piano di campionamento ha seguito lo schema riportato nella Tabella 2.

Azienda Sanitaria Locale	Numero stabilimenti attesi
ASL Sassari	48
ASL Olbia	48
ASL Nuoro	48
ASL Lanusei	40
ASL Oristano	45
ASL Sanluri	40
ASL Carbonia	40
ASL Cagliari	48

Tabella 2. Suini domestici

RISULTATI

Sono stati campionati 799 stabilimenti di allevamento di suini domestici, appartenenti alle AASSLL di Sassari, Olbia, Nuoro, Lanusei, Oristano, Sanluri, Carbonia, Cagliari, comprendendo, quindi, tutto il territorio regionale.

Su un totale di 3556 campioni di siero analizzati con metodica di Sieroagglutinazione rapida (SAR), 1235 hanno dato esito positivo, con una prevalenza campionaria pari al 34.7% (95% CI = 33.2-36.3%) (Tabella 3).

Azienda Sanitaria Locale	Campioni testati	Campioni SAR +	Prevalenza campioni (95% CI)
ASL Sassari	318	79	24.8 (20.2-30.0)
ASL Olbia	338	74	21.9 (17.6-26.7)
ASL Nuoro	611	287	47.0 (43.0-51.0)
ASL Lanusei	136	42	30.9 (23.3-39.4)
ASL Oristano	379	14	3.7 (2.0-6.1)
ASL Sanluri	762	181	23.8 (20.8-26.9)
ASL Carbonia	37	6	16.2 (6.2-32.0)
ASL Cagliari	975	552	56.6 (53.4-59.8)
TOTALE	**3,556**	**1,235**	**34.7 (33.2-36.3)**

Tabella 3. Prevalenza SAR+ suini domestici

La Fissazione del Complemento (F.d.C.) ha confermato la positività a *Brucella* spp. su 87 sieri, con valori ≥20 UICFT/ml, con una prevalenza riferita agli stabilimenti pari all'1.3% (95% CI = 0.8-2.0) (Tabella 4).

Area Socio-Sanitaria	Stabilimenti testati	Stabilimenti FDC+	Prevalenza di stabilimento
ASL Sassari	83	1	1.2 (0.0-6.5)
ASL Olbia	80	4	5.0 (1.4-12.3)
ASL Nuoro	312	7	2.2 (0.9-4.6)
ASL Lanusei	42	1	2.4 (0.0-12.6)
ASL Oristano	14	0	0.0 (0.0-0.0)
ASL Sanluri	218	1	0.5 (0.0-2.5)
ASL Carbonia	6	0	0.0 (0.0-0.0)
ASL Cagliari	802	6	0.8 (0.3-1.6)
TOTALE	**1557**	**20**	**1.3 (0.8-2.0)**

Tabella 4. Prevalenza stabilimenti FDC+

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I pochi dati presenti in letteratura riguardanti la regione Sardegna hanno permesso di appurare l'importanza della brucellosi suina nell'ambito suinicolo, sia domestico che selvatico, e la sottostima di questa patologia.

Nell'ambito di questo lavoro sono state testate in totale 799 stabilimenti di allevamento di suini, nelle AASSLL di Lanusei e Carbonia non è raggiunto il campione minimo atteso con una rappresentatività del campione totale dell'1 e del 3.7% rispettivamente. Le AASSLL di Sassari e Olbia sono state invece quelle con maggior affluenza di campionamento (27 e 26% del campione totale). Da questi stabilimenti sono stati testati, con la metodica SAR, un totale di 3,556 campioni di cui 1,235 sono risultati positivi al test della SAR, con una prevalenza campionaria pari al 34.7% (95% CI = 33.2-36.3%) (Tabella 3). La prevalenza calcolata facendo riferimento agli stabilimenti mostra un valore medio del 26.7% (95% CI = 23.6-30.0), con altissimi valori nella zona centrale della Sardegna nelle ASSSLL di Nuoro (P = 82.6% (95% CI = 71.6-90.7%) e Lanusei (P = 77.8% (95% CI = 40.0-97.2%), nonostante i bassissimi valori di campionamento in quest'ultima.

Valori di prevalenza osservata decisamente inferiori si sono riscontrati testando i campioni positivi alla SAR con la metodica FDC: di 1557 stabilimenti testati solo 20 sono risultati positivi, con una prevalenza di stabilimento pari all'1.3% (95% CI = 0.8-2.0). Come ci si aspettava, la proporzione di prevalenza osservata tra le varie ASL mantiene in gran parte la proporzione osservata con la metodica SAR; nelle AASSLL del centro Sardegna (Lanusei, Nuoro e Olbia) sono state riscontrate le aree con valori più alti (P = 2.4% (95% CI = 0.0-12.6%), P = 2.2% (95% CI = 0.9-4.6%), P = 5.0% (95% CI = 1.4-12.3%), rispettivamente) (Tabella 4).

Questo studio può essere definito di natura esplorativa, finalizzato a fornire strumenti validi per studi futuri in materia, per i quali, grazie ai risultati ottenuti, si potrà calcolare la numerosità campionaria adeguata a condurre uno studio più ampio e rappresentativo dell'intera popolazione.

Dai dati ottenuti emerge come la *Brucella* spp. continui ad essere presente nel territorio regionale.

Un importante fattore di rischio per la circolazione del patogeno è rappresentato dalle misure di biosicurezza degli allevamenti dei suini, non sempre adeguate e in grado di impedire i contatti con i cinghiali selvatici. Problema non meno importante è stata la presenza di

suini bradi irregolari, per la loro maggiore esposizione al contatto con i cinghiali nei loro spostamenti non controllati, e per il loro potenziale ruolo nella trasmissione di malattie tra cinghiali e suini domestici.
Un aspetto che riteniamo di fondamentale importanza per il futuro è l'approfondimento di questo genere di monitoraggi con lo studio del contesto sociale in cui queste malattie si manifestano; sarebbero di rilievo anche la progettazione e l'implementazione di ulteriori misure di gestione del rischio, oltre alle misure veterinarie ben note, tenendo in considerazione l'ipotesi che anche questa malattia sia fortemente influenzata dalla gestione dell'allevamento, come analizzato da altri autori.

BIBLIOGRAFIA

1. Annamaria Coccollone, Daniela Mandas, Manuele Liciardi (2022) Brucellosi suina: una patologia sottostimata in Sardegna. Bollettino Epidemiologico Nazionale Veterinario (BENV)
3. Bergagna S, Zoppi S, Ferroglio E, Gobetto M, Dondo A, Di Giannatale E, Gennero MS, Grattarola C. (2009) Epidemiologic survey for *Brucella suis* biovar 2 in a wild boar (Sus scrofa) population in northwest Italy. J Wildl Dis. 45(4):1178-81. doi: 10.7589/0090-3558-45.4.1178. PMID: 19901393.
5. De Massis F, Di Provvido A, Di Sabatino D, Di Francesco D, Zilli K, Ancora M, Tittarelli M. (2012) Isolation of *Brucella suis* biovar 2 from a wild boar in the Abruzzo Region of Italy. Vet Ital. 48(4):397-404, 387-95. English, Italian. PMID: 23277120.
7. EFSA European Food Safety Authority (2009). Porcine brucellosis (*Brucella suis*). Scientific opinion of the panel on animal health and welfare. The EFSA Journal, 1144, 2-112.
9. Loi F, Laddomada A, Coccollone A, Marrocu E, Piseddu T, Masala G, et al. (2019) Socio-economic factors as indicators for various animal diseases in Sardinia. PLoS ONE 14(6):e0217367. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217367
11. OIE (2018). Brucellosis (*Brucella abortus, B. melitensis and B. suis*) (infection with *B. abortus, B. melitensis and B. suis*) In OIE Terrestrial Manual Chapter 3.1.4, pp 355-398.
13. Pilo C, Addis G, Deidda M, Tedde MT, Liciardi M. (2015) A Serosurvey for Brucellosis in Wild Boar (Sus scrofa) in Sardinia, Italy. J Wildl Dis. 2015 Oct;51(4):885-8. doi: 10.7589/2014-11-264. PMID: 26267463.
14. Pilo C, Tedde MT, Orrù G, Addis G, Liciardi M. Brucella suis infection in domestic pigs in Sardinia (Italy). (2014) Epidemiol Infect. 143(10):2170-7. doi: 10.1017/S0950268814003513. Epub 2014 Dec 22. PMID: 25530227.

DETERMINAZIONE DEI LIVELLI PLASMATICI DI PROGESTERONE NELLE SCROFE CHE NON RITORNANO IN ESTRO DOPO LO SVEZZAMENTO E L'EFFETTO DEL TRATTAMENTO CON PGF_2ALFA

THE DETERMINATION OF PROGESTERONE PLASMA LEVELS IN SOWS THAT DO NOT RETURN IN ESTRUS AFTER WEANING AND THE EFFECT OF PGF_2ALFA TREATMENT

MAZZONI C.[1], TUMMARUK P.[2, 3,] DE RENSIS F.[4]

[1] Suivet sas, via E. Che Guevara, 55-42123 Reggio Emilia;
[2] Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330, Thailand;
[3] Centre of Excellence in Swine Reproduction, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330, Thailand;
[4] Department of Veterinary Medical Science, University of Parma, Parma 43126, Italy

Parole chiave: scrofa, ovulazione in lattazione, svezzamento
Keywords: sow, ovulation during lactation, weaning

Riassunto
Lo scopo di questo studio è stato quello di determinare i livelli di progesterone plasmatico e l'attività ovarica nelle scrofe che non tornavano in estro entro 6 giorni dallo svezzamento. Inoltre, è stato valutato l'effetto del trattamento con PGF2α per indurre la luteolisi. Sono state selezionate per lo studio 66 scrofe con buoni punteggi di condizione corporea e nessuna patologia, ma che non venivano in estro entro 6 giorni dallo svezzamento. Lo svezzamento è avvenuto tra il 25° e il 28° giorno di lattazione. I livelli sierici di progesterone sono stati inizialmente determinati utilizzando un test a strisce e successivamente rivalutati in laboratorio utilizzando un'ELISA. L'attività ovarica è stata valutata tramite ecografia transrettale in tempo reale B-mode 6 giorni dopo lo svezzamento. I livelli di progesterone sono stati considerati elevati per concentrazioni superiori ai 5,0 ng/ml. Tra le 66 scrofe, il 78% (52/66) aveva livelli di progesterone sierico superiori a 5,0 ng/ml e l'esame ecografico delle ovaie ha rivelato la presenza di corpi lutei. Dopo il trattamento con 10 mg di PGF2α, i livelli di progesterone sono scesi sotto i 5,0 ng/ml in 24 delle 52 scrofe (46%) e l'estro si è verificato in 11 delle 52 scrofe (21%) entro 6 giorni dal trattamento. Tra le 14 scrofe con livelli di progesterone sierico inferiori a 5,0 ng/ml, tutti gli animali erano privi di corpi lutei e presentavano solo piccoli follicoli. Dopo il trattamento con gonadotropina esogena, il 42% (6/14) di queste scrofe aveva livelli di progesterone superiori a 5,0 ng/ml e il 35% (5/14) ha mostrato l'estro entro 6 giorni dal trattamento. I risultati di questo studio indicano che le scrofe moderne con buoni punteggi di condizione corporea e una lattazione superiore ai 25 giorni possono ovulare prima dello svezzamento.

Abstract
The aim of this study was to determine plasma progesterone levels and ovarian activity in sows that did not return to estrus within 6 days after weaning. Additionally, the effect of PGF2α treatment to induce luteolysis was evaluated. A total of 66 sows with good body condition scores and no pathologies, but which did not return to estrus within 6 days after

weaning, were selected for the study. Weaning occurred between days 25 and 28 of lactation. Serum progesterone levels were initially determined using a strip test and subsequently re-evaluated in the laboratory using ELISA. Ovarian activity was assessed through transrectal real-time B-mode ultrasonography 6 days post-weaning. Progesterone levels were considered elevated if concentrations exceeded 5.0 ng/ml. Among the 66 sows, 78% (52/66) had serum progesterone levels above 5.0 ng/ml, and ultrasound examination of the ovaries revealed the presence of *corpora lutea*. Following treatment with 10 mg of PGF2α, progesterone levels decreased below 5.0 ng/ml in 24 of the 52 sows (46%), and estrus occurred in 11 of the 52 sows (21%) within 6 days of treatment. Among the 14 sows with serum progesterone levels below 5.0 ng/ml, all animals lacked *corpora lutea* and exhibited only small follicles. After treatment with exogenous gonadotropin, 42% (6/14) of these sows had progesterone levels above 5.0 ng/ml, and 35% (5/14) displayed estrus within 6 days of treatment. The results of this study indicate that modern sows with good body condition scores and a lactation period of more than 25 days may ovulate before weaning.

INTRODUZIONE

Una delle problematiche più importanti nel settore della riproduzione suina è il numero di scrofe che non riescono a tornare in estro entro 7 giorni dopo lo svezzamento. In genere, ci si aspetta che le scrofe manifestino l'estro entro il sesto giorno dopo lo svezzamento e la ricerca di Tani et al. (2018) ha dimostrato che le scrofe con un intervallo, tra lo svezzamento e la prima inseminazione (WSI) di 7 giorni o più, hanno una maggiore incidenza (+2,2-3,9%) di essere scartate rispetto a quelle con un WSI di 0-6 giorni. Quando le scrofe non riescono a tornare in estro, i costi di produzione aumentano a causa di un aumento dei giorni non produttivi (NPD) che inficiano negativamente sull'interparto delle scrofe (ITP). Inoltre, si assiste ad una riduzione del numero di scrofe disponibili per l'inseminazione del lotto (Banda), influenzando negativamente gli obiettivi legati al teorico delle coperture (Tummaruk et al., 2000b; Bortolozzo et al., 2024). Diversi fattori contribuiscono ad un allungamento del WSI, tra cui la razza della scrofa, l'ordine di parto, il management aziendale, la durata dell'allattamento e la stagione. Anche i fattori nutrizionali durante l'allattamento (Tantasuparuk et al., 2001) e le dimensioni follicolari al momento dello svezzamento (Pearodwong et al., 2020) svolgono un ruolo importante. Per affrontare il problema dell'anaestro post svezzamento o dell'allungamento dell'intervallo svezzamento estro (WEI), sono disponibili varie strategie. La principale rimane quella legata al rilevamento dei calori attraverso lo stress indotto con il verro; sia attraverso lo spostamento delle scrofe al box del verro, ma anche portando direttamente il verro a contatto con le scrofe. Altra via è legata all'impiego di trattamenti ormonali per indurre l'estro (Knox et al., 2021). Tuttavia, nelle scrofe moderne, sotto una buona gestione, non si può escludere che l'assenza di estro allo svezzamento possa essere dovuta all'ovulazione verificatasi prima dello svezzamento. Per quanto ne sappiamo, nessuno studio clinico ha indagato la possibilità che l'ovulazione avvenga prima dello svezzamento misurando i livelli sierici di progesterone.

La prostaglandina F2α (PGF2α) prodotta principalmente dall'endometrio delle scrofe intorno al 15° giorno del ciclo estrale, svolge un ruolo chiave nella regolazione della funzione del corpo luteo, delle contrazioni uterine, dell'ovulazione e dell'impianto (De Rensis et al., 2012). La PGF2α è un fattore regolatore critico nel sistema riproduttivo suino, in particolare nell'indurre la luteolisi che si verifica a partire dal 15° al 16° giorno del ciclo estrale ed ha come effetto la riduzione dei livelli ematici di progesterone. Inoltre, PGF2α è ampiamente utilizzata sulla scrofa per indurre il parto (Boonraungrod et al., 2018; Tospitakkul et al., 2019) e nelle scrofe postpartum per ridurre l'incidenza della sindrome da disgalassia postpartum (PDS) (Maneetong et al., 2021; Romano et al., 2024), per migliorare le contrazioni uterine,

facilitare l'espulsione della placenta, ridurre il rischio di metrite postpartum e accorciare l'intervallo tra lo svezzamento e il parto successivo (Roongsitthichai et al., 2015). Tuttavia, gli effetti di PGF2α possono variare a seconda del dosaggio e di fattori individuali legati alla scrofa (De Rensis et al., 2012).

L'obiettivo principale di questo studio è stato quello di determinare se l'ovulazione possa verificarsi o meno prima dello svezzamento (durante la lattazione) valutando i livelli di progesterone plasmatico attraverso un test a striscia e attraverso l'attività ovarica, tramite ecografia, in scrofe in cui non fosse stato determinato l'estro entro 6 giorni dallo svezzamento. Inoltre, lo studio ha esaminato l'efficacia della somministrazione di PGF2α e delle gonadotropine nell'indurre l'estro su queste scrofe problematiche.

MATERIALI E METODI

Disegno sperimentale

L'esperimento è stato condotto in un allevamento suinicolo commerciale nel nord della Thailandia che ospita 5.000 scrofe, prevalentemente incrociate tra Canadian Landrace × Yorkshire. Da un pool di 344 scrofe con una distribuzione degli ordini di parto media di 2,9 ± 1,3 (intervallo: da 1 a 5), sono state selezionate 66 scrofe che non hanno mostrato l'estro entro 6 giorni dallo svezzamento. Sono state incluse solo scrofe in salute, ovvero in assenza di segni clinici di malattia, e con buona condizione corporea di 2,0-3,0 su una scala da 1 a 5 (Maes et al., 2004) e spessore del grasso dorsale (16,9 ± 3,7 mm). I criteri di esclusione includevano mastite, zoppia, disturbi digestivi, anomalie patologiche del tratto riproduttivo o perdite vaginali. Lo stato di salute delle scrofe è stato monitorato dal veterinario aziendale durante tutto lo studio. Il punteggio di condizione corporea delle scrofe è stato valutato il primo giorno di svezzamento. Lo spessore del grasso dorsale è stato misurato lo stesso giorno per tutte le scrofe utilizzando l'ecografia A-mode (Renco Lean-Meater®, Minneapolis, MN, USA

Stabulazione, management e misurazioni del lardo dorsale.

Durante la gestazione, le scrofe sono state gestite in gruppi statici da 250-280 capi, a partire da 3 giorni dopo l'inseminazione artificiale e suddivise in box gestazione da 40-45 scrofe (9 × 11 metri ciascuno). A 108 ± 2,0 giorni di gestazione, le scrofe sono state spostate nei box parto. Dopo lo svezzamento, a 25-28 giorni di lattazione, sono state trasferite nel reparto di gestazione dove sono state collocate in gabbie individuali di 0,64 × 0,93 × 2,13 metri. Per la determinazione dell'estro, le scrofe sono state esposte al verro per 6 giorni consecutivi così da evidenziarne i segni clinici. I segni di estro osservati includevano il riflesso di stazione e il rossore della vulva (Lewchalermwong et al., 2020). Le condizioni ambientali della gestazione sono state attentamente controllate utilizzando un sistema di raffreddamento con vapore. Durante l'esperimento, la temperatura media nella gestazione era di 29,2 ± 1,8 °C (intervallo: da 25,7 a 32,9 °C) e l'umidità media era del 73,6 ± 8,9% (intervallo: da 38,3 a 90,3%). Durante le diverse fasi della gestazione, alle scrofe sono state fornite quantità variabili di mangime al giorno da 3,0 a 3,5 kg di mangime al giorno. La dieta della gestazione conteneva il 12,7% di proteine grezze, 2700 kcal/kg di energia metabolizzabile, il 5,7% di fibre e lo 0,7% di lisina. Dopo essere state spostate nella sala parto, le scrofe sono state alimentate con una dieta da lattazione. Nei 7 giorni precedenti al parto, il mangime per l'allattamento è stato regolato a 3,0-3,5 kg per scrofa al giorno. Il mangime lattazione era composto dal 17,2% di proteine grezze, 3300 kcal/kg di energia metabolizzabile, 4,3% di fibre e 1,1% di lisina. Il mangime, disponibile per le scrofe in forma di pellet, è stato somministrato quattro volte al giorno alle 06:00, 10:00, 13:00 e 16:00. Dopo il parto, alle scrofe è stato consentito di assumere mangime ad libitum utilizzando un sistema di alimentazione automatico e *ad libitum* che ha portato ad un'assunzione media giornaliera di 5,0-6,0 kg per scrofa. Dopo lo svezzamento,

le scrofe sono state alimentate con una dieta di gestazione da 3,5 a 5,0 kg al giorno fino all'inseminazione. L'acqua è stata fornita ad libitum tramite abbeveratoi a spillo. Durante la gestazione, scrofette e scrofe sono state vaccinate ogni 4 mesi contro la febbre aftosa (AFTOPOR®, Merial SAS, Lione, Francia) e il virus della malattia di Aujeszky (Porcilis® AD Begonia, Merck Animal Health, Madison, USA). Tuttavia, le vaccinazioni sono state sospese per le scrofe 7 giorni prima del parto. Due settimane dopo il parto, le scrofe hanno ricevuto vaccinazioni per la peste suina classica (Ceva-Phylaxia Veterinary Biologicals Co. Ltd., Budapest, Ungheria) e Parvovirus suino-Leptospira-Erisipela (Eryseng®, Laboratorios Hipra, S.A., Amer, Girona, Spagna). I suinetti sono stati vaccinati contro Mycoplasma hyopneumoniae (MHYOSPHERE® PCV ID, Laboratorios Hipra, S.A., Amer, Girona, Spagna) a 18-22 giorni di età.).

Determinazione dei livelli sierici di progesterone ed ecografia transrettale realtime B-mode

I livelli sierici di progesterone sono stati valutati per la prima volta 6 giorni dopo lo svezzamento e di nuovo 12 giorni dopo lo svezzamento (vale a dire, 6 giorni dopo il trattamento con PGF2a) utilizzando un test a strisce del progesterone sierico basato su un immunoassay a flusso laterale (Progesterone Strip Test, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailandia).

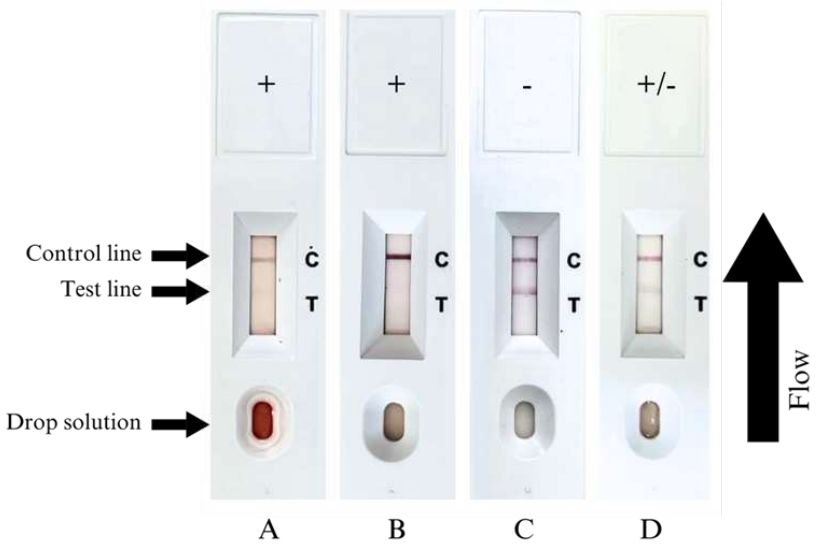


Figura 1: Illustrazione dei risultati del test a striscia. Se la concentrazione di Progesterone del campione di siero supera i 10 ng/ml, il test a striscia produrrà un'indicazione positiva (A, B). Se il campione di concentrazione di progesterone nel siero è inferiore a 5 ng/ml, il test a striscia produrrà un'indicazione negativa (C). Se il campione di concentrazione di progesterone nel siero è compreso tra 5 e 10 ng/ml, il test a striscia produrrà un'indicazione positiva debole (D).

Figure 1*: Illustration of strip test results. If the sample of serum progesterone concentration exceeds 10 ng/ml, the strip test will yield a positive indication (A, B). If the sample of serum progesterone concentration is below 5 ng/ml, the strip test will yield a negative indication (C). If the sample of serum progesterone concentration is between 5-10 ng/ml, the strip test will yield a weak positive indication (D)*

Il test a strisce (Figura 1) ha dimostrato una sensibilità del 94,6% (53 su 56 campioni) e una specificità del 100% (10 su 10 campioni). Inoltre, il siero è stato estratto dai campioni di sangue e conservato a -20°C prima di essere inviato al laboratorio per l'analisi del livello di progesterone utilizzando un saggio immunoenzimatico (ELISA). I livelli di progesterone sono stati classificati come elevati se la concentrazione plasmatica di progesterone superava i 5,0 ng/ml.
L'ecografia transrettale in tempo reale B-mode è stata eseguita utilizzando una sonda lineare a matrice da 5,0 MHz (HS-2200, Honda Electronics Co., Ltd., Toyohashi, Giappone) per determinare la presenza o l'assenza di corpi lutei e follicoli (Figura 2). Le ovaie sono state classificate come cistiche quando erano presenti follicoli con un diametro ≥ 15 mm (Tummaruk e Kesdangsakonwut, 2012).

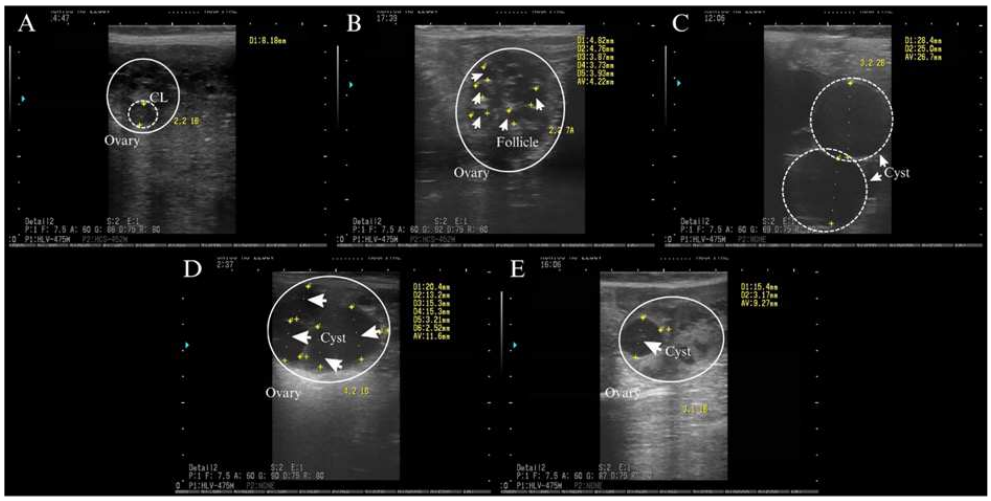


Figura 2*: **Immagini ecografiche delle ovaie di scrofe in vari stadi riproduttivi**. Le immagini ecografiche transrettali in tempo reale B-mode mostrano diversi cambiamenti ovarici. Il segno più (+) indica la misurazione delle strutture in ciascuna immagine. A: Un corpo luteo (CL) nella scrofa, che misura 8,18 mm. B: Follicoli di dimensioni variabili da 3,73 a 4,82 mm. C: Due cisti ovariche di dimensioni comprese tra 25,0 e 28,4 mm. D: Molteplici cisti ovariche di dimensioni variabili, da 13,2 mm a 20,4 mm, con spessori della parete della cisti compresi tra 2,52 e 3,21 mm. E: Una cisti ovarica con un diametro di 15,4 mm e uno spessore della parete della cisti di 3,17 mm.*

***Figure 2: Ultrasonographic images of sow ovaries at various reproductive stages**. The transrectal real-time B-mode ultrasound images display different ovarian changes. The plus sign (+) indicates the measurement of structures in each image. A: A corpus luteum (CL) in the sow, measuring 8.18 mm. B: Follicles ranging in size from 3.73 to 4.82 mm. C: Two ovarian cysts measuring between 25.0 and 28.4 mm. D: Multiple ovarian cysts of varying sizes, from 13.2 mm to 20.4 mm, with cyst wall thicknesses between 2.52 and 3.21 mm. E: An ovarian cyst with a diameter of 15.4 mm and a cyst wall thickness of 3.17 mm.*

Trattamento
Il 6° giorno dopo lo svezzamento, le scrofe non ancora venute in estro, sono state trattate secondo il seguente schema: 1) Se con livelli di progesterone sierico superiori a 5,0 ng/ml

sono state trattate con 10 mg di PGF2α (2 ml di Dinoprost trometamina 5 mg/ml, Enzaprost Vet®, CEVA Animal Health, Libourne, Francia). 2) Le scrofe con livelli di progesterone sierico inferiori a 5,0 ng/ml sono state trattate con gonadotropina esogena (PG600®, Merck Animal Health, Rahway, NJ, USA).

Analisi statistica

Le analisi statistiche sono state condotte utilizzando SAS versione 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). È stata eseguita un'analisi di frequenza per determinare la percentuale di scrofe con livelli di progesterone sierico superiori a 5,0 ng/ml. La sensibilità e la specificità del kit di test del progesterone sono state valutate utilizzando il test ELISA come standard di controllo. La sensibilità è definita come la capacità del test a strisce del progesterone di identificare accuratamente le scrofe con livelli di progesterone sierico ≥ 5 ng/ml, come determinato da ELISA, riflettendo la percentuale di veri positivi. La specificità è definita come la capacità del test a strisce di identificare correttamente le scrofe con livelli di progesterone sierico < 5 ng/ml, riflettendo la percentuale di veri negativi. Sia la sensibilità che la specificità sono state riportate come percentuali. La risposta al trattamento delle scrofe (sì o no) in seguito a trattamento con PGF2*α* o gonadotropina esogena è stata confrontata utilizzando il test del Chi-quadrato. Inoltre, le concentrazioni medie di progesterone sierico nelle scrofe con e senza ovaie cistiche sono state confrontate utilizzando il test t di Student. Un valore p inferiore a 0,05 è stato considerato statisticamente significativo per tutte le analisi.

RISULTATI

Sei giorni dopo lo svezzamento, il 78% (52 su 66) delle scrofe presentava livelli di progesterone sierico superiori a 5,0 ng/ml e mostrava la presenza di corpi lutei durante gli esami ecografici. Dopo il trattamento con 10 mg di PGF2α, i livelli di progesterone sono diminuiti nel 46% (24/52) di queste scrofe e l'estro è stato osservato nel 21% (11/52). Le ovaie cistiche sono state rilevate in 9 delle 66 scrofe (13,6%) che non sono tornate in estro entro 6 giorni dallo svezzamento. In tutte queste scrofe (n=9), i livelli di progesterone sierico superavano i 5,0 ng/ml. La concentrazione media di progesterone sierico nelle scrofe con ovaie cistiche era di 28,8 ± 26,7 ng/ml (intervallo: 6,2–91,6 ng/ml). Tuttavia, questo valore non differiva significativamente da quello delle scrofe senza ovaie cistiche (26,6 ± 20,3 ng/ml, p > 0,05). Di queste scrofe, otto sono state trattate con PGF2α. Sei giorni dopo il trattamento, i livelli di progesterone sierico sono scesi al di sotto di 5,0 ng/ml in quattro scrofe (4/8, 50%) ma sono rimasti elevati nelle altre quattro scrofe. Tuttavia, solo due di queste scrofe (2/8, 25%) hanno mostrato calore entro 6 giorni dal trattamento con PGF2α. Tra le 14 scrofe con livelli di progesterone sierico inferiori a 5,0 ng/ml, tutti gli animali erano privi di corpi lutei e mostravano solo piccoli follicoli. Dopo il trattamento con gonadotropina esogena, il 42% (6/14) di queste scrofe aveva livelli di progesterone superiori a 5,0 ng/ml e il 35% (5/14) ha mostrato estro entro 6 giorni dal trattamento. La percentuale di scrofe che hanno manifestato l'estro entro 6 giorni dal trattamento non era significativamente diversa tra quelle trattate con PGF2α e quelle trattate con gonadotropina esogena (rispettivamente 21% vs. 35%, p = 0,209).

DISCUSSIONE

L'impatto economico delle scrofe che non tornano in estro in modo tempestivo è sostanziale, poiché aumenta il numero di giorni improduttivi, altera la gestione dei flussi di copertura e può in ultima analisi portare a tassi di riforma più elevati. L'estro ritardato influisce negativamente sulla produttività della mandria, poiché le scrofe che non hanno un ciclo corretto non riescono a concepire nei tempi previsti, con conseguenti intervalli prolungati tra i parti e una riduzione della produzione annuale di suinetti (Bortolozzo et al., 2024).

Migliori pratiche di gestione, come l'ottimizzazione della nutrizione durante l'allattamento, la riduzione al minimo dello stress e l'implementazione di trattamenti ormonali per indurre l'estro, possono aiutare a ridurre la percentuale di scrofe con un allungamento dell'intervallo svezzamento estro (Koketsu e Dial, 1997). Inoltre, il monitoraggio delle prestazioni riproduttive e l'esecuzione di controlli sanitari di routine sulle scrofe possono aiutare a rilevare precocemente potenziali problemi e migliorare la fertilità complessiva della mandria.

Uno dei motivi del ritardo della comparsa dell'estro dopo lo svezzamento è la richiesta energetica dovuta alla produzione di latte e delle cure materne, che possono posticipare la ripresa della funzione ovarica. Inoltre, è stato dimostrato che l'allattamento prolungato interrompe l'equilibrio ormonale, inibendo potenzialmente lo sviluppo follicolare e ritardando l'inizio dell'estro (Koketsu e Dial, 1997; Liu et al., 2024). Tuttavia, alcune osservazioni (De Rensis e Tarocco, dati non pubblicati) suggeriscono che nelle scrofe prolifiche, sotto una buona gestione, l'ovulazione può verificarsi in alcuni animali anche prima dello svezzamento, impedendo loro di tornare all'estro entro 6 giorni dallo stesso. Nel presente studio, la valutazione dei livelli sierici di progesterone e delle ovaie per via ecografica, hanno rivelato sia livelli elevati di progesterone che la presenza di corpi lutei in 52 scrofe su 66 (78%) che non sono tornate in estro allo svezzamento. Queste osservazioni suggeriscono che, nelle moderne scrofe prolifiche, con una buona gestione, sia possibile che l'ovulazione si verifichi prima dello svezzamento in un contesto di lattazioni superiori ai 25 giorni. Questa osservazione potrebbe avere importanti implicazioni per le pratiche di gestione dell'allevamento, sottolineando la necessità di ottimizzare il contesto della lattazione. Prolungare la lattazione oltre i 25 giorni nelle moderne scrofe prolifiche può ridurre l'effetto inibitorio dell'allattamento sull'asse ipotalamo-ipofisi-ovaio, facendo sì che alcuni animali ovulino prima dello svezzamento. Sono necessarie ulteriori ricerche per determinare la durata ottimale della lattazione per prevenire questo problema e per sviluppare strategie per mitigare gli effetti di periodi di lattazione prolungati.

Nel presente studio, inoltre, l'ecografia transrettale in tempo reale B-mode ha identificato ovaie cistiche nel 13,6% delle scrofe che non sono tornate in estro entro il 6° giorno dopo lo svezzamento. Queste scrofe hanno mostrato livelli di progesterone plasmatico superiori a 5,0 ng/ml. Dopo il trattamento con PGF2α, i livelli sierici di progesterone sono scesi sotto i 5,0 ng/ml nel 50% degli animali trattati, indicando un tasso di risposta del 50% tra le scrofe con ovaie cistiche. Le ovaie cistiche sono associate ad anaestro, cicli estrali irregolari, alterazioni comportamentali e tassi di gravidanza ridotti (Beek et al., 2011). Uno studio post-mortem su scrofette riformate per disordini riproduttivi ha riportato una prevalenza del 10,5% di ovaie cistiche (Tummaruk et al., 2009). I risultati di questo studio sono coerenti con questi precedenti rapporti in cui le ovaie cistiche sono state osservate nel 15,9% dei casi (Bostedt ed Ebbert, 1999; Szostak et al., 2018).

Il presente studio ha anche esaminato l'efficacia di due trattamenti basati sulla somministrazione di PGF2α o di PG600, in base ai livelli sierici di progesterone e all'esame ecografico delle ovaie. I risultati hanno indicato che, tra le 52 scrofe con livelli di progesterone superiori a 5,0 ng/ml, il trattamento con PGF2α ha avuto un effetto limitato nell'indurre la luteolisi (46%) e l'estro (21%). L'efficacia limitata di PGF2α nell'indurre l'estro nella maggior parte di queste scrofe può essere attribuita al fatto che PGF2α mostra limitati effetti luteolitici nei suini sui corpi lutei prima del 12° giorno di età (De Rensis et al., 2012). In questo studio, le scrofe sono state trattate con PGF2α quando i loro livelli sierici di progesterone superavano i 5,0 ng/ml; tuttavia, l'età esatta dei corpi lutei era sconosciuta di conseguenza, PGF2α potrebbe essere stata somministrata troppo presto rispetto all'età dei corpi lutei, riducendo potenzialmente l'efficacia del trattamento. A questo riguardo la

seconda misurazione dei livelli sierici di progesterone, condotta 6 giorni dopo il trattamento ormonale, ha rivelato che 28 delle 52 scrofe (54%) trattate con PGF2α avevano ancora livelli di progesterone superiori a 5,0 ng/ml, confermando la precedente osservazione.
Futuri studi potrebbero valutare se la somministrazione in doppia dose di PGF2α separata potesse produrre risultati migliori, poiché studi recenti hanno dimostrato che la somministrazione intramuscolare ripetuta di PGF2α aumenta il suo effetto luteolitico nelle scrofette cicliche post-puberali (Alimi et al., 2017) e nelle vacche (Morini et al., 2019). In effetti, uno studio precedente ha dimostrato che una doppia somministrazione di PGF2α per indurre il parto ha aumentato la percentuale di scrofe con una risposta precoce al trattamento. Lo studio ha rilevato che la percentuale di scrofe che hanno partorito entro 32 ore dal parto indotto era più alta nel gruppo con doppia somministrazione rispetto al gruppo con somministrazione singola (100% vs. 84,4%) (Tospitakkul et al., 2019). La determinazione dei livelli sierici di progesterone 6 giorni dopo il trattamento in scrofe con livelli iniziali di progesterone inferiori a 5,0 ng/ml e senza corpi lutei nelle ovaie, trattate con gonadotropina esogena, ha rivelato che 6 scrofe su 14 (42%) avevano livelli di progesterone superiori a 5,0 ng/ml. Tra queste, 5 scrofe (35%) hanno mostrato l'estro entro sei giorni dal trattamento. Sebbene la gonadotropina esogena sembrasse dare un tasso di risposta più elevato rispetto al trattamento con PGF2α, la differenza di risposta tra i due trattamenti non è stata statisticamente significativa. Diversi fattori possono spiegare le risposte limitate osservate con entrambi i trattamenti. Le scrofe che non riescono a tornare in estro dopo lo svezzamento spesso presentano problemi fisiologici sottostanti, come ovaie cistiche o squilibri ormonali (Szostak et al., 2018), che sono difficili da affrontare con singoli interventi ormonali. Inoltre, fattori ambientali e di gestione, come un elevato numero di parti, grasso dorsale eccessivo allo svezzamento o periodi di lattazione prolungati (Chen et al., 2017), possono anche contribuire alla mancanza di reattività ovarica. Questi fattori sono in grado di influenzare i profili endocrini delle scrofe, riducendo di conseguenza anche l'efficacia dei trattamenti ormonali.

CONCLUSIONI

In questo studio, la presenza di livelli di progesterone superiori a 5,0 ng/ml e corpi lutei nelle ovaie di scrofe che non sono tornate in estro entro 6 giorni dallo svezzamento indica che, nelle scrofe moderne con un buon punteggio di condizione corporea e un periodo di lattazione superiore a 25 giorni, l'ovulazione può verificarsi anche prima dello svezzamento. Il trattamento di questi animali con PGF2α ha ridotto i livelli di progesterone al di sotto di 5,0 ng/ml nel 46% dei casi e l'estro si è verificato nel 21% degli animali. Il test su striscia del progesterone sierico utilizzato in questo studio, se confrontato con l'ELISA standard, ha dimostrato una sensibilità del 94,6% e una specificità del 100%, rendendolo uno strumento affidabile per determinare i livelli di progesterone plasmatico nelle scrofe.
Nel complesso, mentre il presente studio offre delle informazioni sulla gestione ormonale delle scrofe non cicliche, i risultati suggeriscono che i trattamenti individuali possono avere un'efficacia limitata a causa di complesse influenze fisiologiche e ambientali. La ricerca futura dovrebbe esplorare ulteriori strategie, tra cui terapie ormonali combinate, modifiche dietetiche o aggiustamenti ambientali, per migliorare i tassi di ritorno dell'estro nelle scrofe svezzate.

BIBLIOGRAFIA

1. Alimi, Y.A., Leigh, O.O., Ajala, O.O. & Abiola, J.O. (2017). Estrus responses and hormonal profile of gilts following treatment with prostaglandin F2α. *Macedonian Veterinary Review, 40(1)*, 13–20. https://doi.org/10.1515/macvetrev-2016-0092

2. Beek, J., De Jong, E., Van Soom, A., De Kruif, A. & Maes, D. (2011). Ovarian cysts in sows: a multifactorial disorder with consequences on the reproductive performance. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift 80(3)*, 215–222.
3. Boonraungrod, N., Sutthiya, N., Kumwan, P., Tossakui, P., Nuntapaitoon, M., Muns, R. & Tummaruk, P. (2018). Control of parturition in swine using PGF2α in combination with carbetocin. *Livestock Science,* 214, 1–8. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.05.012
4. Bortolozzo, F.P., Zanin, G.P., Christ, T.S., Rech, R.D., Ulguim, R.R. & Mellagi, A.P.G. (2024). Artificial insemination and optimization of the use of seminal doses in swine. *Animal Reproduction Science 269(1)*, 107501. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2024.107501
5. Bostedt, H. & Ebbert, W. (1999). Syndrom torbieli jajnikowych umacior hodowlanych. *Nowa Weterynaria, 4,* 14–17.
6. Chen, T.Y., Turpin, D.L., Knight, A.L., Bouwman, E.G., Soede, N.M., Kirkwood, R.N. & Langendijk, P. (2017). Lactational oestrus and reproductive performance following a delayed limited nursing schedule in primiparous sows. *Theriogenology, 96,* 42–48. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.03.026
7. De Rensis, F., Saleria, R., Tummaruk, P., Techakumphu, M. & Kirkwood, R.N. (2012). Prostaglandin F2α and control of reproduction in female swine: A review. *Theriogenology, 77,* 1–11. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.07.035
8. Hallford, D.M., Wettemann, R.P., Turman, E.J. & Omtvedt, I.T. (1975). Luteal function in gilts after prostaglandin F2α. *Journal of Animal Science, 41,* 1706–1710. https://doi.org/10.2527/jas1975.4161706x
9. Knox, R.V., Arend, L.S., Buerkley, A.L., Patterson, J.L. & Foxcroft, G.R. (2021). Effects of physical or fence line boar exposure and exogenous gonadotropins on puberty induction and subsequent fertility in gilts. *Journal of Animal Science, 99(12),* skab348. https://doi.org/10.1093/jas/skab348
10. Koketsu, Y. & Dial, G.D. (1997). Factors influencing the post-weaning reproductive performance of sows on commercial farms. *Theriogenology, 47,* 1445–1461. https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00135-0
11. Lewchalermwong, D., Tummaruk, P. & Knox, R.V. (2020). Investigation into the variation in follicular and endocrine responses of prepubertal gilts treated with exogenous gonadotropins. *Animal Reproduction Science, 223,* 106622. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106622
12. Liu, K., Xu, X., Song, Y., Xiao, L., Wen, J., Ding, H., Zhao, S., Qiao, D., Zhang, B., Niu, A., Bai, J. & Liu, Y. (2024). Effect of altrenogest treatment before weaning on reproductive performance and production efficiency in primiparous and multiparous sows. *Porcine Health Management, 10,* 25. https://doi.org/10.1186/s40813-024-00377-7
13. Maes, D. G. D., Janssens, G. P. J., Delputte, P., Lammertyn, A., & de Kruif, A. (2004). Back fat measurements in sows from three commercial pig herds: Relationship with reproductive efficiency and correlation with visual body condition scores. *Livestock Production Science, 91,* 57–67. https://doi.org/10.1016/j.livpr odsci.2004.06.015
14. Maneetong, P., Srisang, C., Sunanta, N., Muchalintamolee, P., Pearodwong, P., Suwimonteerabutr, J., De Rensis, F. & Tummaruk, P. (2021). Postpartum prostaglandin F2α administration affects colostrum yield, IgG and piglet performance. *Animal Bioscience, 34,* 833–843. https://doi.org/10.5713/ajas.20.0187
15. Morini, G., López-Gatius, F., Garcia-Ispierto, I. & De Rensis, F. (2019). Effect of utilization of single or double prostaglandin administration within an Ovsynch fixed-time artificial insemination protocol during summer season in dairy cows. *Annals of Animal Science, 19,* 725–731. https://doi.org/10.2478/aoas-2019-0022

16. Pearodwong, P., Tretipskul, C., Panyathong, R. & Tummaruk, P. (2020). Factors influencing pre-ovulatory follicle diameter and weaning-to-ovulation interval in spontaneously ovulating sows in tropical environment. *Reproduction in Domestic Animals, 55,* 1756–1763. https://doi.org/10.1111/rda.13836
17. Romano G., Saleri R., De Rensis F., Dall'Olio E., Tummaruk P., Andrani M., & Mazzoni C. (2024) Effects of prostaglandin administration after farrowing on milk output, vaginal discharge, and mastitis during the early postpartum period in sows under field conditions. *Thai Journal of Veterinary Medicine. 54(1):* 19-24.
18. Roongsitthichai, A., Tummaruk, P. & Am-in, N. (2015). Postparturient administration of prostaglandin F2alpha facilitates weaning-to-service interval in primiparous sows facilitates weaning-to-service interval in primiparous sows. *Thai Journal of Veterinary Medicine, 45(2),* 279–282. https://doi.org/10.56808/2985-1130.2646
19. Szostak, B., Stasiak, A., Katsarov, V. & Penev, T. (2018). Ovarian cysts in sows: causes, frequency of occurrence – A review. *Agricultural Science and Technology, 10(2),* 79–84. https://doi.org/10.15547/ast.2018.02.018
20. Tani, S., Piñeiro, C. & Koketsu, Y. (2018). Culling in served females and farrowed sows at consecutive parities in Spanish pig herds. *Porcine Health Management, 4,* 3. https://doi.org/10.1186/s40813-018-0080-y
21. Tantasuparuk, W., Lundeheim, N., Dalin, A.M., Kunavongkrit, A. & Einarsson, S. (2001). Weaning-to-service interval in primiparous sows and its relationship with longevity and piglet production. *Livestock Production Science, 69(2),* 155–162. https://doi.org/10.1016/S0301-6226(00)00256-6
22. Tospitakkul, P., Kraomkaew, K., Thammasin, K., Uttarak, P., Nuntapaitoon, M., De Rensis, F. & Tummaruk, P. (2019). Induction of parturition by double administration of prostaglandin F2alpha in sows reduces the variation of gestation length without affecting the colostrum yield and piglet performance. *Journal of Veterinary Medical Science, 81(9),* 1334–1340. https://doi.org/10.1292/jvms.18-0725
23. Tummaruk, P. & Kesdangsakonwut, S. (2012). Factors affecting the incidence of cystic ovaries in replacement gilts. *Comparative Clinical Pathology, 21,* 1–7. https://doi.org/10.1007/s00580-010-1055-9
24. Tummaruk, P., Kesdangsakonwut, S. & Kunavongkrit, A. (2009). Relationships among specific reasons for culling, reproductive data, and gross morphology of the genital tracts in gilts culled due to reproductive failure in Thailand. *Theriogenology, 71,* 369–375. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.08.003
25. Tummaruk, P., Lundeheim, N., Einarsson, S. & Dalin, A.M. (2000a). Reproductive performance of purebred Swedish Landrace and Swedish Yorkshire sows: I. Seasonal variation and parity influence. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A — Animal Science, 50,* 205–216. https://doi.org/10.1080/090647000750014331
26. Tummaruk, P., Lundeheim, N., Einarsson, S. & Dalin, A.M. (2000b). Reproductive performance of purebred Swedish Landrace and Swedish Yorkshire sows: II. Effect of mating type, weaning-to-first-service interval and lactation length. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A — Animal Science, 50,* 217–224. https://doi.org/10.1080/090647000750014340

PUNTEGGIATURA AUTOMATICA DELLA POLMONITE DEL SUINO: DALLA TEORIA ALLA PRATICA

AUTOMATED SCORING OF PORCINE PNEUMONIA: FROM THEORY TO PRACTICE

ROMANO A.[1], MARRUCHELLA G.[1], SCHIROLI L.[2], MOMENY M.[2], TIBURZI A.[2], D'AGOSTINO D.[2], D'ALTERIO R.[2], CAPOBIANCO DONDONA A.,[2] DEL NEGRO E.[2]

[1]Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Teramo;
[2]Farm4trade s.r.l., Atessa, Chieti

Parole chiave: polmonite, intelligenza artificiale, punteggiatura, macello ad elevata capacità
***Key words*:** pneumonia, artificial intelligence, scoring, high-throughput slaughterhouse

Riassunto

La punteggiatura (*score*) delle lesioni al macello costituisce uno strumento efficiente per stimare l'impatto economico della polmonite enzootica del suino. Tuttavia, il rilievo sistematico delle lesioni non è sostenibile, poiché troppo oneroso in termini di risorse umane impegnate. Al riguardo, l'utilizzo delle tecniche di *computer vision* offre interessanti prospettive. Il nostro studio riporta le esperienze recentemente maturate in un macello ad elevata capacità (800 suini/h) e tecnologicamente avanzato, allo scopo di rendere totalmente automatico lo *score* delle lesioni polmonari riferibili a polmonite enzootica.

Le immagini (8 per suino) sono state acquisite mediante l'installazione di fotocamere fisse e analizzate da una rete neurale artificiale (YOLOv8) appositamente addestrata. Lo *score* assegnato dalla rete neurale a ciascun suino è stato confrontato con quello attribuito da un operatore esperto, che ha applicato la griglia *Madec*. Il test finale, eseguito su un campione di 1618 suini, indica che le prestazioni del sistema automatico di *computer vision* sono nel complesso soddisfacenti, seppure in condizioni molto complesse dal punto di vista logistico, dipendenti dalle dimensioni e dalla capacità produttiva dello stabilimento di macellazione. La specificità complessiva del sistema automatico è risultata pari al 75.55%, la sensibilità ha superato il 96% per le lesioni di maggiori dimensioni (³5 secondo la griglia *Madec*), mentre è stata decisamente inferiore per le lesioni più piccole (54.60% per valori 1-2 della griglia *Madec*).

Nel prossimo futuro, sarà necessario migliorare ulteriormente le prestazioni del sistema, aumentando il *set* di addestramento della rete neurale e bilanciando le diverse categorie da identificare. L'acquisizione di una mole crescente di dati permetterà di sviluppare un metodo statistico idoneo per mettere in relazione i due sistemi di *score* adottati.

Summary

Scoring lesions at slaughter is the most efficient tool for estimating the economic impact of enzootic pneumonia. However, systematic lesion assessment is not feasible, as it is too demanding in terms of human resources. In this regard, the use of computer vision techniques offers interesting prospects. Our study reports recent experiences gained in a high-capacity (800 pigs/hour) and technologically advanced slaughterhouse, aiming to fully automate the scoring of lung lesions by enzootic pneumonia.

Images (8 per pig) were acquired using fixed cameras and analyzed by an ad hoc trained artificial neural network (YOLOv8). The scores assigned to each pig by the neural network were compared with those given by a skilled operator using the Madec grid. The final test, carried out on a sample of 1,618 pigs, indicates that the performance of the automatic computer vision system is overall

satisfactory, despite challenging logistical conditions, due to the size and production capacity of the slaughtering facility.
The overall specificity of the automated system was 75.55%, sensitivity exceeded 96% for large lesions (>5 on the Madec grid), while it was much lower for small lesions (54.60% for values 1-2 on the Madec grid).
Looking ahead, further improvements in system performance will be pursued by expanding and balancing the dataset. The collection of a growing body of data will allow the development of a suitable statistical method to relate the scoring systems adopted herein.

INTRODUZIONE

La polmonite enzootica (PE) del suino è una malattia respiratoria cronica, causata da *Mycoplasma hyopneumoniae* e responsabile di ingenti danni economici. Le lesioni coinvolgono le porzioni cranio-ventrali di entrambi i polmoni, sono ben demarcate, di colore variabile dal rosso al grigiastro e moderatamente aumentate di consistenza (Maes *et al*., 2018). La punteggiatura ("*score*") delle lesioni al macello costituisce lo strumento più efficiente per stimare l'impatto economico della PE. Nel corso degli anni, sono stati messi a punto numerosi sistemi di *score*, tutti accomunati dallo stesso principio fondamentale: più estesa è la lesione, maggiore è l'impatto sulle prestazioni zootecniche (Martelli, 2013; Garcia-Morante *et al*., 2016).
In Italia, trova ampia diffusione la griglia *Madec*, compatibile con la velocità della catena di macellazione e in grado di fornire risultati facilmente interpretabili e comparabili (Madec *et al*., 1982; Martelli, 2013). La griglia *Madec* attribuisce a ciascun lobo polmonare un punteggio da 0 a 4 ed è stata riveduta e corretta nel corso degli anni, considerando il peso specifico di ciascun lobo (Straw *et al*., 1999) e/o omettendo la valutazione del lobo accessorio (Scollo *et al*., 2017). Tra i metodi di *score* alternativi, va menzionato quello proposto da Garcia-Morante *et al*. (2016), che quantifica le lesioni PE-*like* in termini percentuali su immagini digitali.
Per quanto semplificato, lo *score* sistematico delle lesioni pare utopistico, poiché troppo oneroso in termini di risorse umane impegnate. Al riguardo, l'utilizzo delle tecniche di *computer vision* – basate sull'intelligenza artificiale (IA) – offre interessanti prospettive. Bonicelli *et al*. (2021) e Valeris-Chacin *et al*. (2025) hanno addestrato delle reti neurali artificiali ("*convolutional neural networks*", CNNs) allo scopo di identificare e quantificare le lesioni PE-*like* nei suini al macello, seguendo approcci investigativi leggermente differenti. Tuttavia, si tratta di indagini sperimentali, che fino ad ora non hanno trovato applicazione pratica.
Il nostro studio riporta le esperienze recentemente maturate in un macello francese ad elevata capacità, allo scopo di rendere totalmente automatico lo *score* delle lesioni polmonari riferibili a PE.

MATERIALI E METODI

Stabilimento di macellazione

Lo studio è stato condotto presso l'impianto di macellazione *Cooperl* a Montfort-sur-Meu (Francia), che processa circa 800 suini/h per un totale di circa 35000 suini/settimana. Si tratta di un macello di recente costruzione e tecnologicamente avanzato, con sistema di stordimento a CO_2 e riduzione robotizzata della carcassa in mezzene. A seguito dell'eviscerazione, i polmoni vengono posizionati su un gancio, in corrispondenza del legamento polmonare. Per esigenze aziendali, la tecnica di macellazione è rimasta invariata per l'intera durata dello studio.

Acquisizione automatica delle immagini e annotazione

Nelle fasi iniziali, le immagini sono state acquisite da un robot collaborativo (Omron, TM Robot TM5X-700), dotato di sensori e fotocamera a colori ad alta definizione, in grado di trasmettere dati tramite una connessione Gigabit Ethernet e di montare obiettivi intercambiabili con attacco C-Mount (Figura 1). Il robot era in grado di acquisire 4 foto per ciascun suino ed è rimasto attivo

per 6 mesi, collezionando un totale di 130000 immagini. Data l'elevata velocità della catena di macellazione, il robot consentiva la valutazione di un suino ogni tre. Per questo motivo, nell'intento di esaminare tutti i suini e di avere una visione a 360° dei visceri, il robot è stato sostituito da un sistema di fotocamere fisse. In totale, sono state utilizzate 8 fotocamere, montate su due torrette, al fine di garantire l'acquisizione di 4 prospettive diverse, in fase di avvicinamento e di allontanamento (Figura 2). Di fatto, ogni prospettiva ha previsto il posizionamento di due fotocamere, ad altezze diverse, per un totale di 8 immagini/suino.
Le immagini venivano trasferite ad un *server* centrale via API (*Application Programming Interface*) per essere analizzate dalla CNN (vedi oltre); una copia di ciascuna immagine è stata, inoltre, archiviata su AWS *cloud*.

Figura 1. Il robot collaborativo in azione in catena di macellazione (volume di ingombro = $1m^3$).

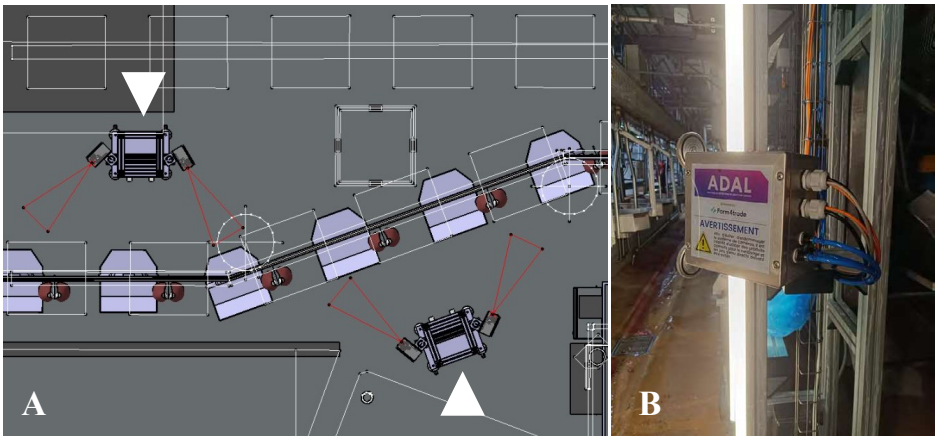


Figura 2. (A) Rappresentazione grafica delle fotocamere, rispetto alla linea di progressione dei visceri. (B) Le fotocamere utilizzate sono ad alta risoluzione, consentono l'acquisizione di immagini da tutti i suini macellati e sono dotate di un sistema ad aria compressa, che mantiene pulite le lenti da vapore, polvere e schizzi di sangue. Ogni postazione è dotata di luci LED, orientate verticalmente e che illuminano l'area di lavoro. Le fotocamere sono collegate a dei sensori induttivi e laser, che rilevano rispettivamente il passaggio dei ganci e dei visceri. L'azione combinata dei sensori consente di attivare le fotocamere nel momento più idoneo.

La rete neurale artificiale – caratteristiche e addestramento

Allo scopo è stata utilizzata la CNN YOLOv8 ("*You Only Look Once*"), un modello all'avanguardia per il rilevamento e la segmentazione di oggetti, noto per la sua velocità e precisione. YOLOv8 sfrutta pesi pre-addestrati per migliorare le prestazioni e l'accuratezza, combinando una solida architettura di *deep learning* con tecniche di *post-processing* euristiche, al fine di garantire un'alta affidabilità in condizioni reali.

La CNN è stata inizialmente addestrata utilizzando un *training set* già disponibile (Bonicelli *et al*., 2021), costituito da oltre 7000 immagini di polmoni suini, annotate da medici veterinari utilizzando un apposito *software* (*Labelme*) e indicando le seguenti classi: i) LUNG = il profilo del polmone; ii) LOBE = il profilo del lobo craniale, nel caso in cui si sovrapponesse al resto del polmone; iii) LESION = il profilo di lesioni PE-*like* (Figura 3A).

L'addestramento della CNN è proseguito utilizzando ulteriori 2000 immagini di polmoni, acquisite presso lo stabilimento di *Cooperl* dalle fotocamere installate sul robot e selezionate in modo del tutto casuale. Anche queste immagini sono state annotate da un medico veterinario, utilizzando *Labelme*. Date le caratteristiche delle immagini e il posizionamento dei polmoni – che spesso non consentiva la piena visualizzazione della superficie laterale degli stessi – l'annotazione ha considerato le seguenti classi: i) LUNG = qualsiasi pozione di parenchima polmonare visibile all'interno dell'immagine; ii) REGION OF INTEREST (ROI) = le porzioni cranio-ventrali dei polmoni, sempre contenute all'interno del LUNG; iii) LESION = focolai PE-*like*, sempre contenuti all'interno della ROI (Figura 3B).

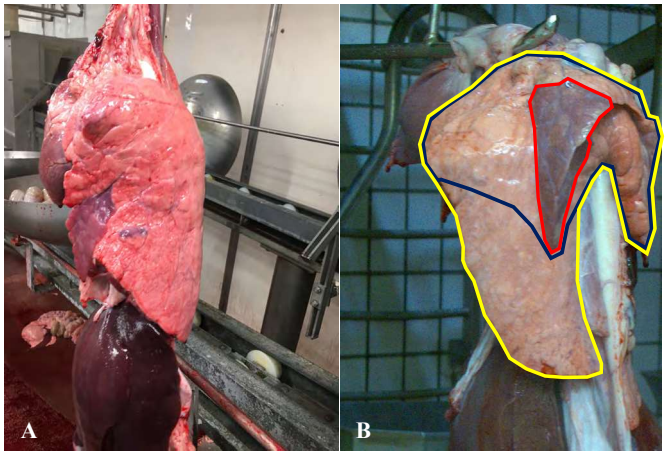


Figura 3. (A) Caratteristiche delle immagini utilizzate per l'addestramento iniziale della CNN (Bonicelli *et al*., 2021). (B) Immagine acquisita c/o lo stabilimento di *Cooperl*. L'annotazione manuale ha preso in considerazione il polmone (linea gialla), la ROI (linea blu) e le lesioni eventualmente presenti (linea rossa).

Infine, l'addestramento della CNN è stato affinato con ulteriori 3000 immagini catturate dalle fotocamere fisse. Queste ultime immagini sono state pre-annotate dalla stessa CNN e corrette da un medico veterinario; 1000 immagini sono state selezionate casualmente, mentre le restanti 2000 riguardavano 500 suini macellati (4 fotografie/suino).

Score delle lesioni PE-like - confronto fra sistema automatico e operatore

Al termine dell'addestramento, le *performance* dell'intero sistema di *score* automatico (qui chiamato "*Automatic Detection of Abattoir Lesions*", ADAL) sono state messe a confronto

con i punteggi assegnati da un operatore esperto, che esegue regolarmente questa attività nello stabilimento di macellazione di *Cooperl*.
L'operatore ha utilizzato la griglia *Madec*, omettendo la punteggiatura del lobo accessorio. Il sistema ADAL ha espresso un giudizio su ciascuna immagine, quantificando le eventuali lesioni in termini percentuali rispetto alla ROI; ADAL ha poi assegnato uno *score* unico per ciascun suino (media ponderata), utilizzando la formula di seguito specificata:

$$\overline{x} = \frac{\sum_{i=1}^{n} x_i p_i}{\sum_{i=1}^{n} p_i}$$

dove x_i rappresenta l'area della lesione in un'immagine e p_i la superficie della ROI nella stessa immagine.

Successivamente, la relazione fra i due sistemi di *score* (ADAL *vs Madec*) è stata ulteriormente analizzata con vari modelli di classificazione, adatti allo studio di variabili numeriche continue: *Decision Tree, Discriminant Analysis, Support Vector Machine, Efficient Linear Models, Ensemble Methods, and Neural Networks*. Per migliorare le prestazioni dei modelli citati, sono stati utilizzati metodi di ottimizzazione bayesiana degli iperparametri e di normalizzazione *Min-Max*. L'affidabilità dei modelli è stata valutata con un processo di *10-fold cross-validation*.

RISULTATI
In totale, il test ha incluso 1618 suini, dei quali 1580 (pari al 97.6% del campione) ritenuti idonei sia dall'operatore sia da ADAL. I restanti 38 suini (2.4%) sono stati esclusi perché non valutabili dall'operatore e/o da ADAL, per le ragioni di seguito sintetizzate: a) assenza dei visceri, staccatisi dai ganci; b) mancata visualizzazione dei polmoni o della ROI, causata da pleuriti croniche adesive estese; c) polmoni nascosti alla fotocamera per sovrapposizione di altri organi (es. cuore e trachea).
Nel 95.2% dei casi, il sistema di fotocamere fisse è stato in grado di acquisire immagini idonee da almeno 3 prospettive differenti (vedi Tabella n. 1).

Numero di prospettive idonee	**Numero di suini esaminati**	**Sensibilità ADAL**	**Specificità ADAL**
Almeno 1	1580	72.87%	75.55%
Almeno 2	1561	72.95%	75.32%
Almeno 3	1505	73.29%	75.39%
4	1249	72.87%	75.55%

Tabella 1. Da ogni prospettiva sono state acquisite due immagini, ad altezze leggermente diverse. I valori di sensibilità e specificità sono stati calcolati rispetto all'osservatore (*gold standard*) e hanno subito solo lievi oscillazioni a seconda del numero di prospettive disponibili.

L'operatore ha identificato lesioni PE-*like* nel 60.5% dei suini esaminati (957/1580), mentre

ha ritenuto sani il restante 39.4% (623/1580). Lo *score* eseguito da ADAL è stato reso disponibile su una applicazione sviluppata *ad hoc* (vedi Figura 4), che consente di tracciare ogni singolo suino e di mettere a confronto i punteggi assegnati da ADAL e dall'operatore. La stessa applicazione consente all'operatore di vedere le immagini originali e di valutare criticamente l'operato di ADAL.

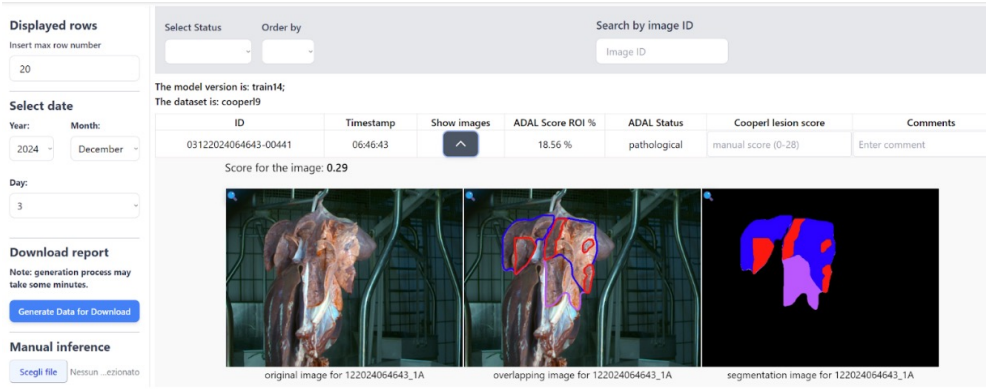


Figura 4. *Screenshot* dell'applicazione che rende fruibili i dati forniti da ADAL, consentendone una valutazione critica da parte di tutti i potenziali *stakeholders*.

In Tabella 2 sono riportati ulteriori dettagli relativi ai punteggi assegnati secondo la griglia *Madec* e al giudizio espresso da ADAL. Di fatto, il sistema ADAL ha mostrato valori di sensibilità estremamente elevati nel caso di lesioni PE-*like* estese (punteggio secondo la griglia *Madec* ³5), valori elevati per le lesioni di media entità (punteggio secondo la griglia *Madec* 3-4) e decisamente inferiori per le lesioni molto piccole (punteggio secondo la griglia *Madec* £2)

	ADAL					
Score* secondo *Madec	**Veri positivi**	**Veri negativi**	**Falsi positivi**	**Falsi negativi**	**Sensibilità**	**Specificità**
0	0	723	234	0	//	75.55%
1-2	172	0	0	143	54.60%	//
3-4	90	0	0	19	82.57%	//
5-8	110	0	0	4	96.49%	//
>8	82	0	0	3	96.47%	//

Tabella 2. Confronto fra gli *score* assegnati dall'operatore in catena di macellazione e le valutazioni espresse da ADAL sui suini oggetto di studio.

La Figura 5 mostra la relazione fra lo *score Madec* e quello assegnato da ADAL (media ponderata dei punteggi espressi sulle singole immagini).

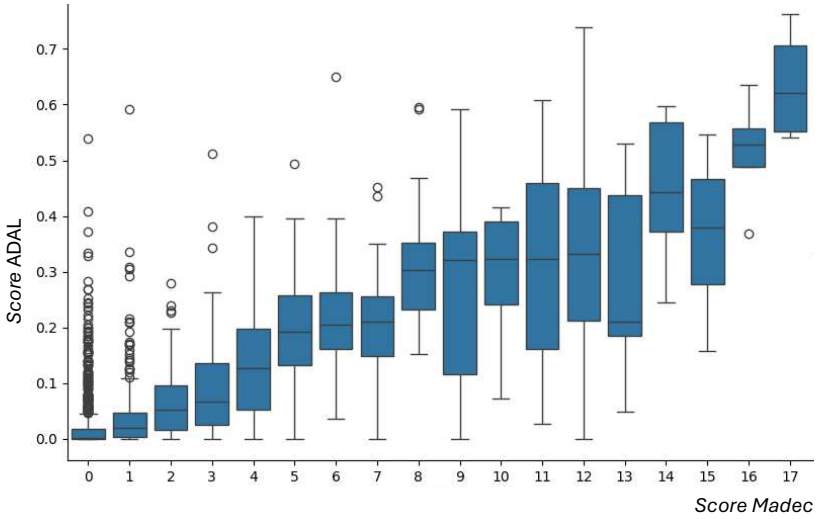


Figura 5. Il grafico box-plot mostra mediane, 25° e 75° percentile, valori minimi e massimi, valori anomali. Risulta evidente che lo *score* assegnato da ADAL aumenta progressivamente all'aumentare del punteggio attribuito dall'operatore. Da notare che i valori anomali si concentrano quasi esclusivamente fra i punteggi 0 e 1 della griglia *Madec*, diventando del tutto sporadici per punteggi >3.

La comparazione dei vari modelli di classificazione evidenzia che *Efficient Linear Models*, *Ensemble Methods,* e *Neural Networks* offrono le migliori previsioni per le etichette numeriche, come rappresentato in Figura 6.

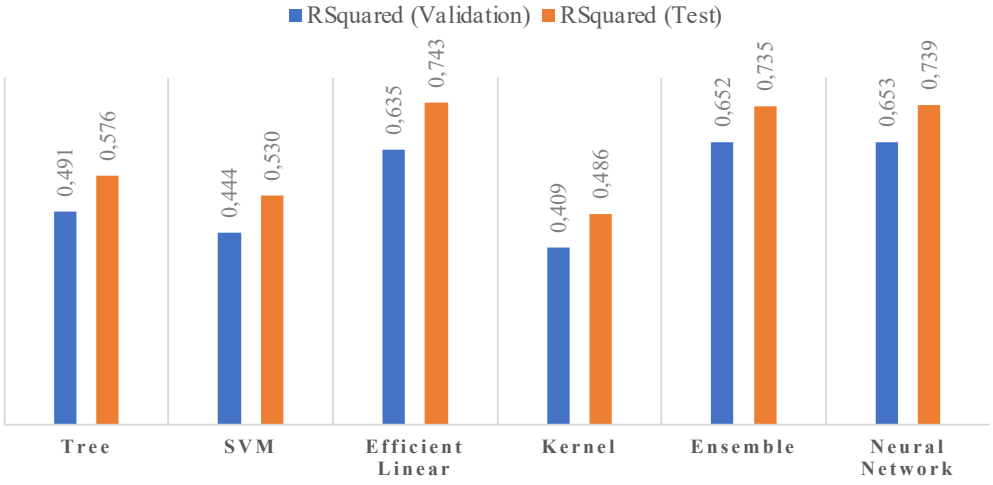


Figura 6. L'istogramma mette a confronto i vari modelli di classificazione utilizzati per valutare la relazione fra lo *score* tradizionale e quello automatico delle lesioni. Il modello *Efficient Linear* mostra le migliori prestazioni. I modelli *Ensemble* e *Neural Network* hanno prestazioni pressoché equivalenti e potrebbero rappresentare valide alternative.

DISCUSSIONE

L'addestramento della CNN costituisce l'elemento qualitativo più importante per sviluppare sistemi di *computer vision* efficaci. D'altra parte, lo *score* automatico delle lesioni in condizioni di campo è operazione ben più complessa, che necessita di soluzioni tecniche integrate e competenze complementari, che devono adattarsi alle peculiarità di ogni stabilimento di macellazione e rispondere alle esigenze specifiche delle singole realtà aziendali.

In altre specie animali, esistono già sistemi validi e formalmente riconosciuti di *computer vision* (es. "VetInspector", a supporto dei Veterinari Ufficiali danesi nell'ispezione *post mortem* dei polli). Per quanto a nostra conoscenza, questo studio rappresenta una delle prime e rare applicazioni pratiche dell'IA per lo *score* delle lesioni nei suini al macello. Le indagini sono state condotte in una realtà particolarmente complessa, il che ha reso necessaria la risoluzione di una serie di problematiche tecniche. Innanzitutto, il robot a disposizione si è dimostrato inadeguato a causa dell'elevata velocità della catena di macellazione, rendendo indispensabile l'utilizzo di fotocamere fisse. Queste ultime si sono rivelate valide e in grado esaminare tutti i suini macellati. Per contro, hanno aumentato notevolmente il carico di lavoro dell'intero sistema (circa 50000 immagini/giorno).

Il posizionamento dei visceri ha rappresentato un'altra criticità importante ed ha sicuramente influito sulle prestazioni finali di ADAL. La CNN precedentemente addestrata (Bonicelli *et al*., 2021) era "abituata" ad analizzare polmoni sospesi al gancio a livello della trachea, con piena visualizzazione della loro superficie laterale. Nello stabilimento *Cooperl*, il personale posiziona i visceri in modo differente e non è stato possibile modificare tale pratica. Ciò ha reso indispensabile un nuovo addestramento della CNN e l'adozione di metriche differenti.

L'adeguata illuminazione dei visceri è stata un'ulteriore criticità, parzialmente risolta. Infatti, le immagini raccolte da alcune prospettive tendono ad essere più scure e hanno causato gli errori più grossolani da parte della CNN, che ha interpretato come lesioni PE-*like* zone d'ombra del polmone.

Nonostante le difficoltà logistiche, le prestazioni di ADAL appaiono nel complesso soddisfacenti. Ovviamente, gli errori più comuni hanno riguardato le lesioni di piccola entità, che l'operatore al macello può apprezzare maneggiando i polmoni, ma che spesso restano nascoste alla sola vista. Questo dato appare scontato, anche nel caso in cui lo *score* venga eseguito visivamente da operatori esperti. Infatti, in accordo con Ghidini *et al*. (2023), lo *score* visivo correla adeguatamente con quello espresso mediante visione/palpazione nel caso di lesioni di entità media/grande, mentre diverge in modo consistente nel caso di polmoni sani o con lesioni di piccole dimensioni.

Il sistema ADAL analizza una serie di immagini/suino (fino a un massimo di 8) e alla fine esprime uno *score* unico complessivo. Per quanto utile e parzialmente funzionale, la media ponderata dei punteggi attribuiti a ciascuna immagine non consente una conversione ottimale dello *score* ADAL in griglia *Madec* (*gold standard* di riferimento) e viceversa. Per risolvere questo limite, sono tuttora in corso indagini più complesse, mettendo a confronto metodi di classificazione potenzialmente utili allo scopo. Ad oggi, considerato il numero relativamente esiguo di dati (1580 suini), i modelli *Efficient Linear*, *Ensemble* e *Neural Network* hanno fornito risultati migliori e pressoché equivalenti. In prospettiva, è probabile che i modelli basati sull'IA (*Neural Network*) si dimostrino vincenti, data la loro capacità di migliorare le prestazioni all'aumentare della mole di dati disponibili.

CONCLUSIONI

Il nostro studio rappresenta il primo *trial* per la punteggiatura automatica della PE nei suini al macello. Nel complesso, il sistema ADAL si è dimostrato capace di assolvere al proprio compito, seppure in condizioni molto complesse dal punto di vista logistico. In particolare,

le prestazioni di ADAL sono state soddisfacenti nel riconoscimento delle lesioni più gravi. In prospettiva, è auspicabile migliorare la specificità del sistema e la punteggiatura delle lesioni più discrete. Questi obiettivi sono perseguibili aumentando il *set* di addestramento della CNN e bilanciando le diverse categorie da identificare. Infine, l'acquisizione di una mole crescente di dati permetterà di identificare e sviluppare il metodo di classificazione più idoneo per mettere in relazione i due sistemi di *score* adottati.

RINGRAZIAMENTI
Tutti i co-autori ringraziano il gruppo *Cooperl* (Francia) per la preziosa collaborazione, nelle persone di Pauline Doussal, Thierry Meslet, Arnaud Buchet, Clément Fonteneau, Jean-Claude Lorgere e Jean-Noël Sialelli.

BIBLIOGRAFIA
1. Bonicelli L., Trachtman A.R., Rosamilia A., Liuzzo G., Hattab J., Mira Alcaraz E., Del Negro E., Vincenzi S., Capobianco Dondona A., Calderara S., Marruchella G. (2021) "Training convolutional neural networks to score pneumonia in slaughtered pigs". Animals (Basel). 11(11):3290.
2. Garcia-Morante B., Segales J., Fraile L., Perez de Rozas A., Maiti H., Coll T., Sibila M. (2016) "Assessment of *Mycoplasma hyopneumoniae*-induced pneumonia using different lung lesion scoring systems: a comparative review". J Comp Pathol. 154(2-3):125-34.
3. Ghidini S., De Luca S., Rinaldi E., Zanardi E., Ianieri A., Guadagno F., Alborali G.L., Meemken D., Conter M., Varrà M.O. (2023) "Comparing visual-only and visual-palpation post-mortem lung scoring systems in slaughtering pigs". Animals (Basel). 13(15):2419.
4. Madec F., Kobisch M. (1982) "Bilan lesionnel des poumons de porcs charcutiers a l'abattoir[Gross lung lesions of pigs at slaughter]". J Rech Porc Fr 14:405-12.
5. Maes D., Sibila M., Kuhnert P., Segales J., Haesebrouck F., Pieters M. (2018) "Update on *Mycoplasma hyopneumoniae* infections in pigs: knowledge gaps for improved disease control". Transbound Emerg Dis. 65(Suppl 1):110-24.
6. Martelli P. (2013) "Le patologie del maiale" Milano, Point Veterinaire Italie.
7. Scollo A., Gottardo F., Contiero B., Mazzoni C., Leneveu P., Edwards S.A. (2017) "Benchmarking of pluck lesions at slaughter as a health monitoring tool for pigs slaughtered at 170kg (heavy pigs)". Prev Vet Med. 144:20-8.
8. Straw B.E., D'Allaire S., Mengeling W.L., Taylor D.J. (1999) "Diseases of Swine" 8th edition, New Jersey USA, Wiley Blackwell.
9. Valeris-Chacin R., Garcia-Morante B., Sibila M., Canturri A., Ballarà Rodriguez I., Bernal Orozco I., Jordà Casadevall R., Muñoz P., Pieters M. (2025) "Scoring of swine lung images: a comparison between a computer vision system and human evaluators". Vet Res. 56(1):9.

ABOLIZIONE DELLA GABBIA PARTO E SALUTE DEI SUINETTI: L'AIUTO ARRIVA DALLA PLF?

BAN OF THE FARROWING CAGE AND PIGLET HEALTH: CAN PLF SORT OUT THE WELFARE DILEMMA?

PUGGIONI A.

Dipartimento di Scienze Veterinarie Università degli Studi di Torino

Parole chiave: etogramma, schiacciamento, computer vision
Keywords: ethogram, crushing events, computer vision

Riassunto
La crescente attenzione al benessere degli animali porta l'allevamento suinicolo a fronteggiare l'abolizione della gabbia parto e quindi il conseguente problema dello schiacciamento dei suinetti, principale causa di mortalità pre-svezzamento. Lo scopo del lavoro è la conoscenza approfondita delle dinamiche comportamentali e sanitarie legate a questi eventi, per contribuire allo sviluppo di un software innovativo in grado di identificare precocemente i suinetti a rischio, consentendone una gestione appropriata. Per fare ciò è stato ideato un etogramma per scrofa, suinetto schiacciato e nidiata, utilizzato per analizzare, con il software *BORIS*, n. 77 video di schiacciamenti fatali in box parto liberi. Successivamente, utilizzando il software *Label Studio,* sono stati estratti ed elaborati 836 fotogrammi e tutti i dati sono stati utilizzati per addestrare modelli all'avanguardia di *computer vision* a riconoscere in autonomia questi eventi. Dal punto di vista dell'analisi comportamentale, i principali cambiamenti di postura fatali evidenziati sono stati il rotolamento della scrofa (60,5%) e il passaggio dalla stazione alla posizione sdraiata piegando prima gli arti anteriori (33,7%). Nel 36,4% dei casi la scrofa ha reagito alla presenza dei suinetti, attuando però pochi salvataggi. Nel 51,5% i suinetti dormivano fuori dal nido e l'8% erano stati classificati come malati. Per ridurre gli schiacciamenti si reputa necessaria la valorizzazione del nido e la selezione genetica della scrofa verso un miglior comportamento materno, nell'attesa che l'evoluzione tecnologica finisca di mettere a punto il software ideato nel presente lavoro.

Abstract
Increasing attention to animal welfare brings pig farming to face the abolition of the farrowing cage and thus the consequent problem of piglet crushing, the main cause of pre-weaning mortality. The aim of this work is to gain an in-depth knowledge of the behavioural and health dynamics linked to these events, in order to contribute to the development of an innovative software capable of identifying in advance piglets at risk, allowing them to be managed appropriately. To do this, an ethogram was devised for sow, crushed piglet and litter and used to analyse 77 videos of fatal crushing events in free farrowing system using *BORIS* software. Then, using *Label Studio* software, 836 frames were extracted and processed and all data were used to train state-of-the-art computer vision models to recognise these events independently. From the point of view of behavioural analysis, the main fatal posture changes highlighted were the rolling of the sow (60.5%) and the transition from stationary to lying position by first bending the forelimbs (33.7%). In 36.4% of the cases the sow reacted to the presence of the piglets, but made few rescues. In 51.5% of the cases the piglets slept outside the nest and 8% of them were classified as sick. In order to reduce crushings it is considered necessary, while waiting for technological development to finish developing the software

devised in this paper, the nest enhancement and the genetic selection of the sow towards better maternal behaviour.

INTRODUZIONE

Dagli anni '60 le scrofe durante il parto e l'allattamento sono confinate nelle gabbie parto, al fine di limitarne i movimenti e ridurre così lo schiacciamento dei suinetti fino al 2,5% (Jarvis et al., 2005; Ostovic et al., 2012). Oggi, in un periodo storico in cui l'opinione pubblica mette sempre più in primo piano i diritti degli animali e richiede che venga garantito loro il benessere, questo sistema desta forti preoccupazioni: presenta infatti evidenti limitazioni fisiche ed etologiche per la scrofa come l'impossibilità di girarsi o assumere posizioni diverse da quella sdraiata/in piedi e la mancata espressione dei comportamenti parentali tipici della specie, quali la creazione del nido e l'interazione con la prole (KilBride et al., 2012). I movimenti di sensibilizzazione partiti dall'iniziativa *"End the cage age"* (www.endthecageage.eu), hanno portato al dibattito sul futuro dei sistemi di stabulazione, rendendo obbligatoria per l'allevamento suinicolo, non appena verrà pubblicata la nuova Direttiva europea (European Parliament, 2021), la transizione verso l'abolizione delle gabbie e quindi del non confinamento della scrofa durante il parto e la lattazione. Questa nuova prospettiva crea preoccupazione tra gli allevatori per quanto riguarda l'aumento della mortalità dei suinetti a causa dello schiacciamento, principale causa di mortalità pre-svezzamento, con il 55% di morti durante il periodo di lattazione (Liu et al., 2022).

Per affrontare al meglio la situazione e far sì che gli allevatori si allineino a questa richiesta, risulta necessario individuare strumenti e protocolli specifici al fine di trovare il miglior compromesso tra necessità etologiche materne, rischio di schiacciamento e sostenibilità economica aziendale. Sebbene siano già state esaminate in letteratura le cause e i fattori principali implicati nella mortalità sotto-scrofa e negli schiacciamenti (Muns et al., 2016; Liu et al., 2022), manca ancora una conoscenza approfondita delle dinamiche comportamentali e sanitarie legate a questi eventi in un contesto in cui sono presenti scrofe iper-prolifiche.

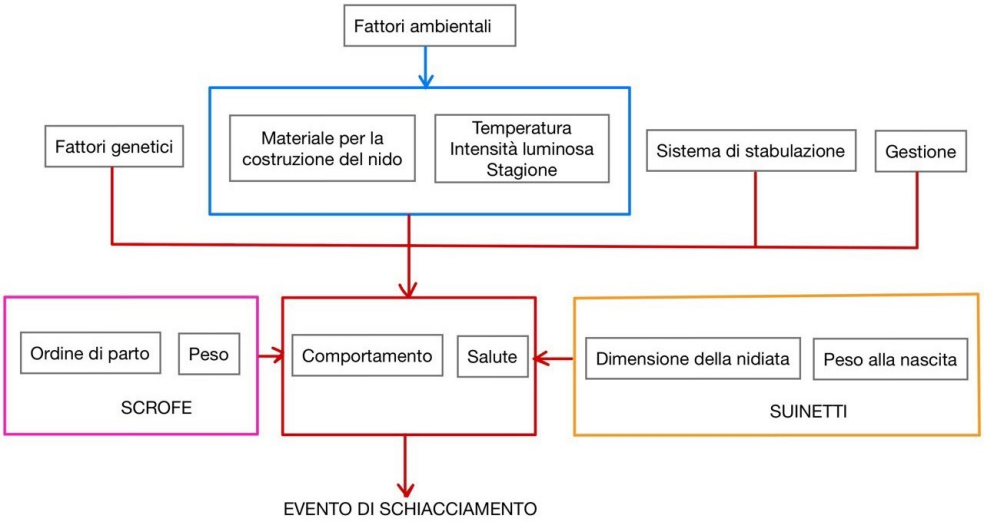


Figura 1: Schema che mostra i numerosi fattori che possono favorire l'evento di schiacciamento.

***Figure 1*:** Diagram showing the many factors of crushing events.

Data la molteplicità dei fattori di rischio degli schiacciamenti, la presenza di un metodo automatico che li analizzi potrebbe aiutare gli allevatori a intervenire tempestivamente in modo da ridurli. Finora, tra le tecniche di zootecnia di precisione (PLF) utilizzate, vi sono diversi strumenti. Alcuni esempi sono gli accelerometri triassiali per il rilevamento di cambi di postura delle scrofe (Cornou et al, 2011) e lo *STREMODO*, uno strumento di rete neurale artificiale per il rilevamento automatico dello stress basato sull'analisi delle vocalizzazioni dei suinetti (Illmann et al., 2013; Tzanidakis et al, 2021).
Tuttavia, queste applicazioni sono state affiancate dall'arrivo della *computer vision* e della segmentazione amodale delle istanze. La *computer vision* è un metodo senza contatto e ad alta efficienza, sempre più utilizzato nel rilevamento automatico del comportamento dei suini (An et al., 2023; Larsen et al., 2023; Li et al., 2023; Yang et al., 2023). Questa tecnologia di intelligenza artificiale, alimentata da reti neurali convoluzionali, consente ai computer di ricavare informazioni significative da immagini, video e altri input visivi, per poi intraprendere l'azione appropriata o formulare delle segnalazioni sulla base di tali informazioni (www.ibm.com). A differenza di altri comportamenti interattivi tra suinetti e scrofe, già riportati in letteratura, gli eventi di schiacciamento, data la difficoltà e mancanza di precisione nell'identificare l'occlusione dei soggetti, non sono ancora stati rilevati con i mezzi classici della *computer vision* (Chen et al., 2021; Manteuffel et al., 2017). La più specifica segmentazione amodale delle istanze presenta invece potenziali applicazioni nell'analisi quantitativa di queste specifiche dinamiche, permettendo di identificare la sovrapposizione tra la scrofa e i suinetti schiacciati. Diversamente da quanto si ottiene con l'utilizzo della semplice tecnologia di individuazione degli oggetti utilizzata finora, questo strumento offre informazioni spaziali più dettagliate sulle dimensioni dell'oggetto e sulle caratteristiche del contorno, facilitandone ulteriori analisi. Questi sistemi all'avanguardia possono potenzialmente essere impiegati per identificare e persino prevedere gli eventi di schiacciamento e aiutare così allevatori e veterinari a intraprendere azioni efficaci per ridurne l'incidenza.
Lo scopo primario del presente lavoro era quello di descrivere le dinamiche comportamentali e sanitarie legate agli eventi di schiacciamento dei suinetti in un contesto in cui sono presenti scrofe non confinate da gabbie durante la lattazione e di genetica iper-prolifica. Lo scopo ultimo è invece l'utilizzo dei dati comportamentali raccolti per contribuire ad un primo sviluppo di un software in grado di identificare precocemente i suinetti a rischio di schiacciamento, agendo preventivamente e consentendone una gestione appropriata.

MATERIALI E METODI

Lo studio è stato condotto in un allevamento intensivo di scrofe in provincia di Brescia, tra luglio 2023 e marzo 2024 e ha visto coinvolte 96 scrofe pluripare e relative nidiate, per un totale di 1632 suinetti nati vivi. La scrofaia è organizzata in banda trisettimanale e alloggia circa 750 scrofe di genetica danese (Danish Genetics®). Vaccinazioni, accasamento, pulizia, rifiuti e misure di biosicurezza vengono gestite in accordo con le procedure operative standard (SOPs). La temperatura delle sale parto è mantenuta tra i 24 °C (il giorno del parto) ed i 18 °C (raggiunti gradualmente a 7 giorni dopo il parto) ed è presente un sistema di ventilazione a pressione positiva; i nidi presentano una superficie metallica riscaldata con acqua con temperatura di ingresso di 40 °C. Al momento del parto, nel nido è distribuito uno strato di paglia tagliata corta. Le scrofe sono temporaneamente tenute in gabbie parto individuali (1,9 m x 0,7 m) da 4 giorni prima del parto a 5-7 giorni dopo il parto; successivamente la gabbia parto viene aperta e le scrofe sono libere di muoversi nel box insieme alla loro nidiata. Ogni recinto misura circa 2,5 m × 2,8 m, comprende un nido di 1,9 m x 0,7 m e il pavimento è costituito per il 70% da cemento pieno e per il 30% da grigliato di plastica. I

sensori dell'allevamento registrano continuamente i parametri ambientali quali: temperatura esterna, temperatura del recinto e del nido, NH3, CO2. Nei box parto usati per lo studio (12 per ciascuna delle 8 bande di scrofe coinvolte) è stata fissata una telecamera (DH-IPC-HFW3441E-SA, Dahua) a un angolo del box stesso, a un'altezza di 2 m e con un angolo di ripresa di 70° dal suolo. I video sono stati registrati con una frequenza di 30 fps e una risoluzione di 1920 × 1080 pixel, a partire da una registrazione continua 24h su 24 dal giorno precedente il parto, fino allo svezzamento.

Sviluppo dell'etogramma

Sulla base dei fattori di rischio riportati in letteratura (Kobek-Kjeldager et al., 2023; Baude et al., 2023; Nicolaisen et al., 2019) è stato creato un etogramma (Tabella 1) per analizzare il comportamento di scrofa, suinetto coinvolto nello schiacciamento e gli altri suinetti della nidiata.

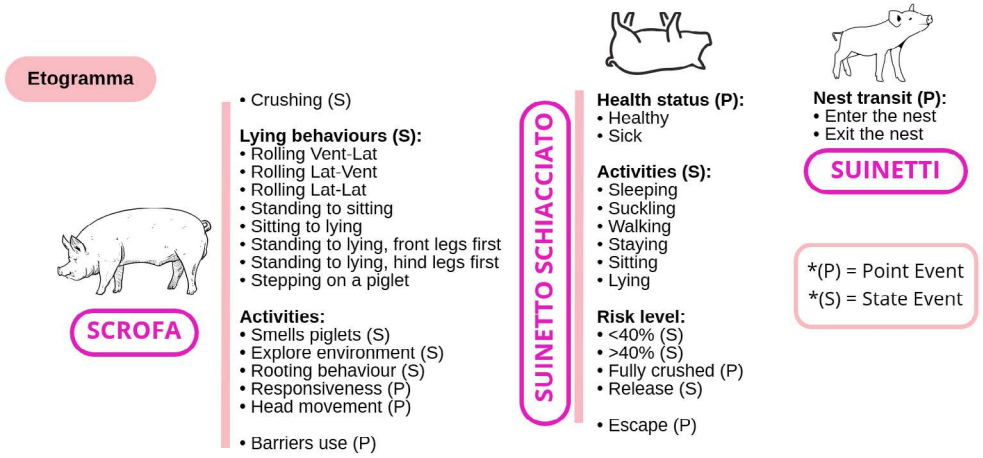


Figura 2: Immagine riassuntiva dell'etogramma di ogni soggetto. I comportamenti sono divisi in categorie e possono essere eventi con una durata nel tempo (State event) oppure azioni puntuali (Point event).

***Figure 2*:** Summary image of the ethogram of each subject. Behaviours are divided into categories and can be either time-duration events (State events) or punctual actions (Point events).

Identificazione e ritaglio video – *SmartPSS*

Con il programma *SmartPSS* (*Smart Professional Surveillance System*) sono stati identificati (tramite numero della scrofa, data e ora) e tagliati 77 video ritraenti eventi di schiacciamento fatali da 2 min prima dello schiacciamento fino al momento del *release* del suinetto, ovvero il momento in cui il suinetto schiacciato torna visibile in seguito allo spostamento della scrofa. I video sono stati scaricati in formato AVI (Audio Video Interleave).

Studio del comportamento - *BORIS*

Per studiare il comportamento e comprendere meglio le dinamiche e i fattori di rischio di schiacciamento è stato utilizzato *BORIS* (*Behavioral Observation Research Interactive Software*) (Friard & Gamba, 2016), un software open-source per l'annotazione di eventi e osservazioni su file video. In particolare, è stato ideato un progetto in cui sono stati inseriti l'etogramma descritto precedentemente, l'identificativo dei vari soggetti e uno per volta i 77 video. Per ogni video, tutti i comportamenti inclusi nell'etogramma sono stati annotati per

ciascun soggetto, ottenendo un'analisi della frequenza e della durata delle attività e degli eventi svolti durante i 2 minuti di registrazione precedenti all'evento di schiacciamento. Sono stati inoltre identificati i suinetti con problemi sanitari evidenti, quali sottopeso e problemi locomotori. L'analisi è stata effettuata da due operatori tramite l'osservazione indiretta dei video, segnalando tutti gli *state events* (eventi con una durata nel tempo in cui è stato identificato il momento iniziale e quello finale) e *point events* (azioni puntuali di svolgimento istantaneo) dell'etogramma ogni qualvolta venivano osservati. La concordanza tra le valutazioni dei due operatori, determinata tramite il calcolo del coefficiente di Cohen, conferma l'appropriatezza dell'etogramma e la praticità del suo utilizzo per studiare i fattori di rischio e possibili soluzioni per prevenire gli schiacciamenti.
È stata inoltre annotata la posizione specifica del suinetto nel recinto al momento dello schiacciamento secondo una divisione visiva in 7 quadranti numerati in senso orario a partire dalla porta del box.

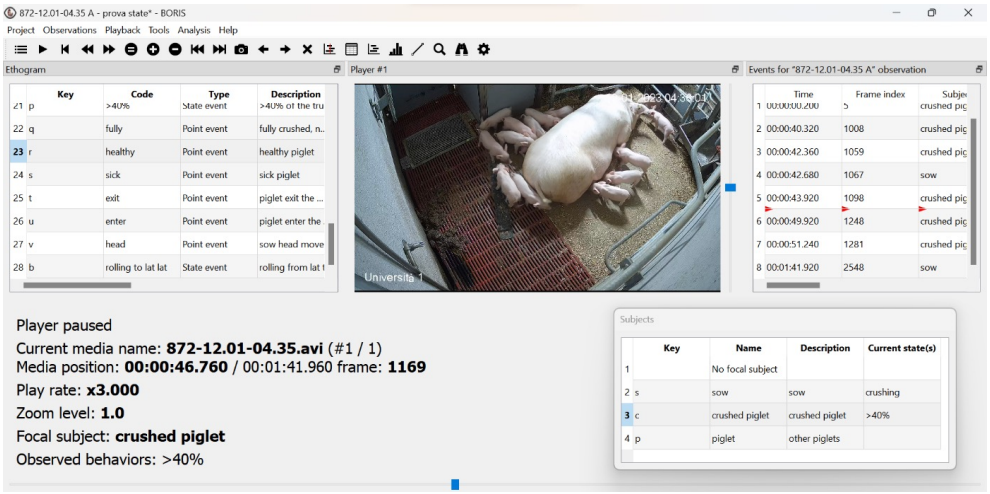


Figura 3: Schermata di analisi del software *BORIS*.
Figure 3*: *BORIS software analysis screen.

Segmentazione manuale delle istanze - *Label Studio*
Label Studio è uno strumento di annotazione dati che consente di creare etichette per vari compiti di apprendimento automatico, inclusa la segmentazione delle istanze (*Label Studio Documentation — Interactive annotation in Label Studio*). In questo studio è stato utilizzato per eseguire la segmentazione manuale delle istanze di 836 fotogrammi estrapolati dai 77 video di eventi di schiacciamento ad opera di vari operatori e successivamente supervisionata da altri due annotatori esterni. Le varie maschere di segmentazione sono state costruite seguendo il profilo di ogni singolo animale (scrofa e suinetti) e posizionando tanti punti consecutivi uniti automaticamente tra loro da segmenti; nei casi di sovrapposizione la parte non visibile è stata immaginata e ricostruita. Per ogni frame selezionato si è ottenuta quindi la segmentazione amodale delle istanze, che oltre alla distinzione classica tra oggetti, è innovativa in quanto tiene conto anche delle informazioni di contesto e delle relazioni tra gli oggetti stessi, affrontando così anche il problema dell'occlusione, specifica degli eventi di schiacciamento, e permettendo il riconoscimento preciso dei profili e dell'area dei singoli suinetti e della scrofa anche se sovrapposti (labelstud.io).

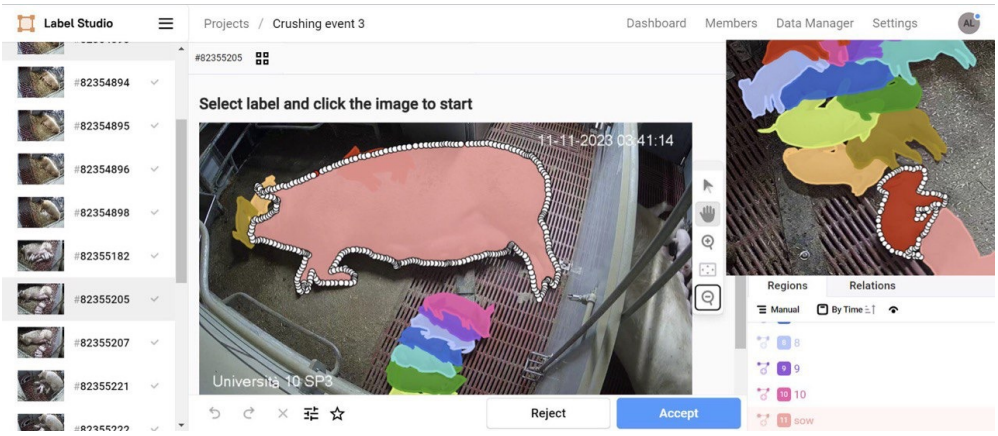
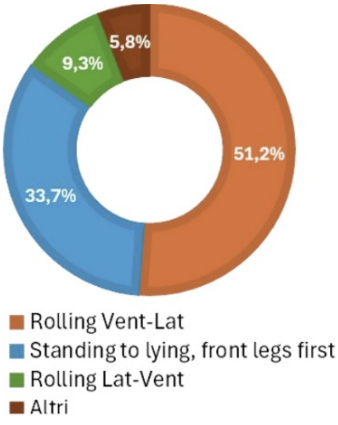


Figura 4: Schermata del programma *Label Studio* con segmentazione di scrofa e suinetti.
Figure 4: Screen of the *Label Studio* programme with sow and piglet segmentation.

Analisi statistica
I risultati relativi al comportamento degli animali sono presentati con una statistica descrittiva elaborata con il programma XLSTAT 2022.2.1 (Addinson, TX, USA, 2022).

RISULTATI
In seguito all'analisi dei video è stato riscontrato lo schiacciamento di 120 suinetti totali, di cui solo 17 (14,2%) sono riusciti a salvarsi. In 44 eventi di schiacciamento (57,1%), la scrofa ha schiacciato un solo suinetto, poi deceduto nel 100% dei casi. Nei rimanenti 33 eventi di schiacciamento (42,9%), la scrofa ha schiacciato più di un suinetto. Tutti i 17 casi di fuga con conseguente salvezza del suinetto rientrano in questa casistica.
Dall'analisi comportamentale sono stati raccolti i seguenti dati:
Scrofa



I cambi di posizione della scrofa che più frequentemente hanno portato a eventi di schiacciamento sono stati il rotolamento dalla posizione di decubito ventrale a quella laterale (*rolling Vent-Lat*; 51,2%; durata media dello state event = 9,4 ± 8,0 secondi), il passaggio dalla stazione alla posizione sdraiata piegando prima gli arti anteriori (*Standing to lying*, front legs first; 33,7%; durata media = 11,0 ± 7,2 secondi) e il rotolamento dalla posizione laterale al decubito ventrale (*Rolling Lat-Vent*; 9,3%; durata media = 5,1 ± 1,3 secondi).

Figura 5: Diagramma a ciambella delle frequenze dei cambi di posizione della scrofa.
Figure 5: Donut diagram of the frequency of sow position changes.

Prima degli eventi di schiacciamento, l'attività più frequente delle scrofe è quella di guardarsi attorno e annusare l'ambiente (34,4%). Altre attività, quali odorare il suinetto (19,5%) e grufolare l'area prima di coricarsi (1,3%), sono state osservate in percentuali più basse.
Nel 36,4% dei casi, la scrofa sembra percepire il suinetto sotto di sé e compie azioni di "aggiustamento" (*responsiveness*), che hanno portato quest'ultimo alla salvezza solo in 6 casi.
Nell'8,4% dei casi, l'inizio di un'attività di cambio di posizione della scrofa è preceduta da un evidente movimento basculante della testa.
La scrofa non ha mai utilizzato le strutture anti-schiacciamento del box parto per appoggiarsi prima di scendere in decubito.

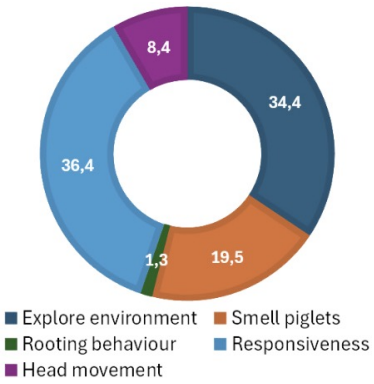


Figura 6: diagramma a ciambella delle attività della scrofa.
***Figure 6*:** Donut diagram of sow activities.

Suinetto schiacciato
Nel 70,9% dei casi di schiacciamento con esito infausto il suinetto era interamente coperto dalla scrofa, mentre nel 5,8% e nel 23,3% erano rispettivamente schiacciati per meno e per più del 40% della loro superficie.
Nel 51,5% dei casi, il suinetto è stato schiacciato mentre dormiva fuori dal nido, nel 25,2% durante l'allattamento e nel 18,2% mentre camminava nell'area di gabbia condivisa con la scrofa. Inoltre, l'8% dei suinetti morti schiacciati erano stati classificati come malati, in particolare sono stati riscontrati problemi locomotori o sottopeso.
Suinetti
A seguito di un evento di schiacciamento, per il 67,6% dei casi i restanti suinetti della nidiata uscivano dal nido invece che rientrarvi percependo il pericolo (32,4%).
Localizzazione nel box parto
La maggior parte degli eventi di schiacciamento è avvenuta nel quadrante n. 3 (parte di pavimento solido vicino al nido; 36,4% dei casi) e nel quadrante n. 6 (zona di pavimento pieno vicino alle sbarre opposte al nido; 30,7%).
Segmentazione manuale delle istanze - *Label Studio*
Questa procedura si è rivelata molto laboriosa e dispendiosa in tempo, ma indispensabile per l'utilizzo dei dati nella fase successiva di apprendimento da parte del software per la formazione di modelli di segmentazione adeguati. Infatti, gli algoritmi di apprendimento automatico, compresi quelli di *deep learning* utilizzati per la segmentazione amodale delle istanze, per funzionare ed essere efficienti, devono essere addestrati con la retropropagazione, un procedimento attraverso cui i modelli invertono le immagini di addestramento annotate per apprendere i pesi e le polarizzazioni appropriate per il compito da svolgere. L'annotazione dei dati di addestramento è stata molto accurata per massimizzare il corretto apprendimento automatico e servire come "verità di base" di riferimento, rispetto alla quale i modelli addestrati sono stati valutati e ottimizzati, ottenendo infine un modello di *computer vision* in grado di identificare gli schiacciamenti in modo automatico a partire da video. I dati di segmentazione sono stati utilizzati per la successiva pubblicazione di Gan et al. (2024) in cui viene spiegato nel dettaglio lo sviluppo del software qui presentato.

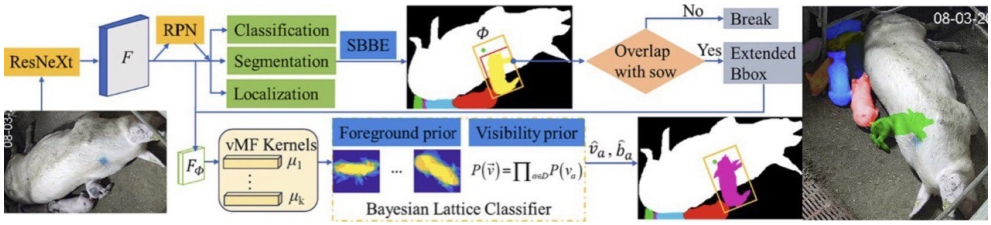


Figura 7: Pipeline del metodo proposto (Gan et al., 2024).
Figure 7: Pipeline of the proposed method (Gan et al., 2024).

DISCUSSIONE

In assenza di confinamento si è riscontrato un cambio delle dinamiche di schiacciamento più frequenti, a prevalere sono il rotolamento, osservato anche da altri studi presenti in letteratura (Weary et al., 1996; Bradshaw e Broom, 1999; Johnson et al., 2007; Danholt et al., 2011; Nicolaisen et al., 2019), in particolare dalla posizione ventrale a quella laterale e il passaggio dalla stazione alla posizione sdraiata piegando prima gli arti anteriori. Questo risultato suggerisce che quando la scrofa è libera, avendo la possibilità di espletare i movimenti a lei più graditi, presenta con frequenza minore certi movimenti invece comuni nella gabbia parto, quali la transizione di discesa con il posteriore o il passaggio dalla posizione seduta a quella sdraiata scivolando con gli arti anteriori (Edwards et al., 1986). Il confinamento delle scrofe era stato infatti introdotto per ridurre il rischio di comportamenti pericolosi, come movimenti rapidi dalla posizione sdraiata e il rotolamento (Damm et al., 2005; Danholt et al., 2011; Weary et al., 1996), che invece si ripresentano in caso di gabbia aperta. Per ovviare a ciò risulta dunque necessario trovare nuove strategie rispettose del benessere e capire come meglio sfruttare le strutture del box per rallentare i cambiamenti di postura, in modo che i suinetti nella zona di pericolo abbiano il tempo di allontanarsi, ma evitando allo stesso tempo di creare un'ulteriore fonte di frustrazione e disagio per la scrofa. I rapidi cambi di postura, probabilmente dovuti all'incapacità fisica di controllare completamente il movimento e alla scarsa attitudine materna, possono infatti portare a spostamenti pericolosi della scrofa, con successivo schiacciamento dei lattonzoli (Weary et al., 1996). Lo sdraiarsi più lentamente da parte della madre, è dunque vantaggioso per la sopravvivenza dei suinetti, in particolare di quelli meno vitali. Nello studio svolto e in altri testi (Free Farrowing, 2021), non è stato mai riscontrato l'utilizzo delle barre antischiacciamento presenti nel box, si dovrebbero dunque prendere in considerazione e studiare nuove tipologie di strutture diverse da quelle attuali.

Il fatto che più della metà dei suinetti coinvolti in eventi di schiacciamento stavano precedentemente dormendo mostra che non riposano nel luogo loro adibito, il nido. Passando la maggior parte del tempo lontano da questa zona, aumenta la probabilità di eventi traumatici. Dal momento che il futuro della suinicoltura vede l'abolizione delle gabbie, non è più possibile tralasciare in secondo piano l'importanza del nido che ricopre un ruolo centrale in quanto non ha solo più funzione di fornire calore come in passato, ma anche di evitare gli schiacciamenti. La ricerca deve quindi andare nella direzione di rivalutare e valorizzare questo spazio che prima nessuno considerava. Per far fronte alla motivazione dei suinetti di stare vicino alla scrofa, e al minor utilizzo del nido nei box parto rispetto alle gabbie parto (Blackshaw et al., 1994; Vasdal et al., 2009), è necessario trovare delle soluzioni che rendano più attrattiva questa zona, affinché venga utilizzata maggiormente dai suinetti (Morrison et al., 1983; Lay et al., 1999). L'area di riposo deve essere calda, asciutta e morbida (Ziron e Hoy, 2003), senza correnti d'aria e facilmente accessibile (Zhang e Xin, 2001). I fattori che

possono contribuire all'aumento di utilizzo sono: la temperatura, il miglior comfort si ha con temperature del pavimento di 34°C, 27°C e 25°C rispettivamente alla prima, seconda e terza settimana di vita; la luce; le dimensioni adeguate, un'area di 0,9 mq per una nidiata di 14 suinetti fino a tre settimane di età e quindi almeno 0,06 mq per suinetto (Meyer, 2012); il tipo di pavimentazione con preferenza per il pavimento pieno in cemento (Vasdal et al., 2009), riscaldato e con presenza di lettiera in piccole quantità (FreeFarrowing.org); la posizione specifica all'interno del box, meglio se il più vicino possibile al luogo di riposo usato dalla scrofa (Zhang e Xin, 2001); e la presenza dell'odore della madre.
Inoltre, l'8% degli schiacciati presentava delle problematiche di natura infettiva, quali sottopeso e problemi locomotori, che per quanto rappresentino solo una piccola parte delle cause di mortalità in lattazione, non possono essere trascurate. Infatti, per la buona gestione della sala parto moderna risulta imprescindibile un approccio sempre più di terapia (Reg. di Esecuzione UE 2021/1281) e anche gestione individuale. Sarà dunque necessario implementare ulteriormente le pratiche di assistenza manuale al parto, lo *split nursing*, l'integrazione orale di colostro, il *cross fostering* e l'allevamento artificiale.
I risultati ottenuti per quanto riguarda il numero di schiacciamenti e le basse percentuali di attività materne riferite in letteratura quali odorare il suinetto, grufolare l'area prima di coricarsi per accertarsi dell'assenza di lattonzoli e la scarsa reattività al vocalizzo d'allarme dei suinetti rimasti schiacciati (Held et al., 2006), suggeriscono che la genetica utilizzata, estremamente iperprolifica, in realtà non presenta comportamenti materni che possano giustificare una prole così numerosa, determinando l'aumento della problematica degli schiacciamenti in condizioni di assenza di confinamento (Bresciani et al., 2017). La selezione genetica per decenni incentrata sulla produttività dell'animale non è andata verosimilmente di pari passo con la selezione dell'atteggiamento materno, di minor importanza in presenza delle gabbie parto. La combo assenza di confinamento e scrofa iperprolifica può quindi determinare perdite significative per l'allevamento. Un ulteriore allontanamento dalle forti caratteristiche materne può essere dovuto alla selezione per scrofe di grandi dimensioni, che tendono a essere meno agili, e per scrofe docili, che potrebbero essere meno reattive ai richiami di soccorso dei suinetti (Wechsler et al., 1997). Inoltre, l'uso delle gabbie parto potrebbe aver favorito il successo riproduttivo di scrofe che avrebbero avuto problemi di schiacciamento in sistemi di stabulazione libera. Il buon istinto materno comprende alcuni comportamenti specifici quali la costruzione del nido prima del parto (Wischner et al., 2009), la maggior calma durante il parto (Andersen et al., 2005), la reattività alle vocalizzazioni dei suinetti (Illmann et al., 2008), la maggiore frequenza del contatto grugno a grugno con i lattonzoli durante i cambi di posizione (Andersen et al., 2005), la protezione di questi ultimi (Hellbrügge et al., 2008a) e una velocità controllata nel movimento di coricamento. Tutte azioni che evitano o comunque riducono il rischio di schiacciamento (Damm et al., 2005; Andersen et al., 2005; Ocepek e Andersen, 2017). Infatti, le scrofe che mostrano un maggior numero di comportamenti pre-coricamento, tra i quali l'annusare, il grufolare e lo scalpitare, sono correlate a una minore probabilità di causare eventi traumatici (Marchant et al., 2001; Andersen et al., 2005; Wischner et al., 2010). Poiché la sopravvivenza dei suinetti in condizioni di parto libero dipende in misura molto maggiore dalle cure materne della scrofa, nei prossimi anni ci sarà la necessità di orientare di più la selezione genetica verso i comportamenti di maternità, per far sì che le genetiche del futuro vengano selezionate anche in base a queste caratteristiche.
Le zone protagoniste del 67,1% degli eventi traumatici sono quelle centrali di pavimento pieno in cemento. Questo risultato era parzialmente prevedibile in quanto, essendo una zona centrale, è quasi sempre occupata dalla scrofa ed è anche l'area in cui più frequentemente i suinetti si alimentano, sia quando la madre è sdraiata che in stazione. In questo studio non

è stata analizzata la correlazione tra zona di pericolo all'interno del box e ordine di parto della scrofa né con l'eventuale raggruppamento dei suinetti, aspetti di interesse per un futuro studio più approfondito.
La segmentazione manuale delle istanze svolta nello studio ha reso possibile lo sviluppo di un modello di *computer vision* all'avanguardia in grado di identificare gli schiacciamenti in modo automatico a partire da video (Gan et al., 2024). Per fare ciò è stato impiegato un algoritmo ibrido che combina *deep learning* (reti neurali) e *traditional machine learning* (apprendimento statistico), il modello ideato si è dimostrato in grado di svolgere la segmentazione automatica con un elevato livello di precisione ottenendo risultati promettenti rispetto ai metodi ad oggi disponibili. Si apre così una nuova frontiera nella gestione degli eventi di schiacciamento. Al momento attuale i risultati dell'analisi dei video tramite BORIS accompagnati da dati ambientali, produttivi e gestionali stanno allenando ulteriormente il software a trarre informazioni da ciò che vede, e a imparare a valutare i video autonomamente seguendo gli stessi criteri utilizzati dagli operatori. Ciò permetterà, in un futuro non troppo lontano, di valutare automaticamente e in tempo reale i fattori di rischio tramite telecamere, di elaborare uno score di rischio per ogni suinetto e attivare un allarme una volta superati i valori soglia. In questo modo l'operatore potrà intervenire tempestivamente. La novità è che non si andrà ad agire a schiacciamento avvenuto, come tutte le strategie presenti in letteratura utilizzate finora, ma si potrà agire preventivamente. Il software, se applicato in allevamento, potrà svolgere un controllo 24h su 24 e l'allevatore verrà avvisato quando vengono evidenziati comportamenti sospetti o score di rischio fuori dai range accettabili. Questa tecnologia costituirà dunque un ulteriore strumento nelle mani dell'operatore suinicolo evoluto, per proporre protocolli gestionali, modifiche strutturali, soluzioni migliorative e per dare indicazioni su come agire in base ad ogni specifica situazione analizzata. Un altro possibile utilizzo del software potrebbe essere la sua applicazione dalle case di genetica nella selezione delle scrofe anche per il loro comportamento materno.

CONCLUSIONI

Dalle conoscenze acquisite in questo studio emerge che nel futuro, quando verrà richiesto di stabulare le scrofe in box liberi, il settore dovrà giocoforza relazionarsi con delle problematiche nuove. Risulterà dunque vantaggiosa, al fine di ridurre gli schiacciamenti, l'ottimizzazione di alcuni aspetti quali una maggior valorizzazione del nido; nuove tipologie di strutture per rallentare i cambiamenti di postura della scrofa; la cura individuale degli animali deboli o con patologie e la selezione genetica della scrofa per ottenere un comportamento materno più attento. Inoltre, una possibilità di aiuto si spera possa essere fornita dall'utilizzo di software simili a quello che ha avuto il suo avviamento con il presente studio, già capace di riconoscere gli eventi di schiacciamento in autonomia e con ampio margine di miglioramento per poter anche prevedere e prevenire queste situazioni, oltre alla possibilità di svolgere ulteriori compiti. Sarà dunque uno strumento all'avanguardia per l'operatore suinicolo che permetterà di gestire al meglio la transizione verso l'abolizione della gabbia parto e la riduzione degli schiacciamenti, rafforzando ulteriormente il rapporto allevatore-veterinario.

RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia la prof.ssa Annalisa Scollo del Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università di Torino per aver reso possibile questo progetto, il professor Tomas Norton dell'Università cattolica di Leuven (Faculty of Bioscience Engineering), e il ricercatore Haiming Gan del Centro Nazionale di Ricerca ingegneristica della Cina del Sud (National Engineering Research Center for Breeding Swine Industry, College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangdong) per le conoscenze ingegneristiche e informatiche

indispensabili allo sviluppo del software. Si ringraziano inoltre la dott.ssa Francesca Menegon ed il dottor Guido Di Martino dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie per la collaborazione nella pianificazione dello studio e nell'analisi dei video, l'azienda e tutto il personale dell'allevamento.

BIBLIOGRAFIA

1. An, L., Ren, J., Yu, T., Hai, T., Jia, Y., & Liu, Y. (2023). Three-dimensional surface motion capture of multiple freely moving pigs using MAMMAL. Nature Communications, 14(1), 7727.
2. Andersen, I. L., Berg, S., & Bøe, K. E. (2005). Crushing of piglets by the mother sow (Sus scrofa)—purely accidental or a poor mother?. Applied Animal Behaviour Science, 93(3-4), 229-243.
3. Baude, B. M., Krugmann, K., Diers, S., & Krieter, J. (2023). Sows' pre-and post-crate opening behaviour in farrowing pens with different opening times. Livestock Science, 269, 105187.
4. Blackshaw, J. K., Blackshaw, A. W., Thomas, F. J., & Newman, F. W. (1994). Comparison of behaviour patterns of sows and litters in a farrowing crate and a farrowing pen. Applied Animal Behaviour Science, 39(3-4), 281-295.
5. Bradshaw, R. H., & Broom, D. M. (1999). A comparison of the behaviour and performance of sows and piglets in crates and oval pens. Animal Science, 69(2), 327-333.
6. Bresciani, C., Bianchera, A., Bettini, R., Buschini, A., Marchi, L., Cabassi, C. S., ... & Parmigiani, E. (2017). Long-term liquid storage and reproductive evaluation of an innovative boar semen extender (Formula12®) containing a non-reducing disaccharide and an enzymatic agent. Animal reproduction science, 180, 10-16.
7. Chen, W.E., Lin, Y.B., Chen, L.X., (2021). PigTalk: an AI-based IoT platform for piglet crushing mitigation. IEEE Trans. Ind. Inf. 17 (6), 4345–4355.
8. Cornou, C., Lundbye-Christensen, S., & Kristensen, A. R. (2011). Modelling and monitoring sows' activity types in farrowing house using acceleration data. Computers and electronics in agriculture, 76(2), 316-324.
9. Damm, B. I., Forkman, B., & Pedersen, L. J. (2005). Lying down and rolling behaviour in sows in relation to piglet crushing. Applied Animal Behaviour Science, 90(1), 3-20.
10. Danholt L., Moustsen V. A., Nielsen M. B. F., Kristensen A. R. (2011) "Rolling behaviour of sows in relation to piglet crushing on sloped versus level ß oor pens". Livest Sci. 141:59–68.
11. Edwards, S. A., Malkin, S. J., & Spechter, H. H. (1986). An analysis of piglet mortality with behavioural observations. Proceedings of the British Society of Animal Production (1972), 1986, 126-126.
12. European Parliament. (2021). End the cage age (1st ed.) Routledge. doi:10.4324/9781315203324
13. Friard, O., & Gamba, M. (2016). BORIS: A free, versatile open-source event logging software for video/audio coding and live observations. Methods in Ecology and Evolution, 7(11), 1325-1330.
14. Gan, H., Menegon, F., Sun, A., Scollo, A., Jiang, Q., Xue, Y., & Norton, T. (2024). Peeking into the unseen: Occlusion-resistant segmentation for preweaning piglets under crushing events. Computers and Electronics in Agriculture, 219, 108683.
15. Held, S., Mason, G., & Mendl, M. (2006). Maternal responsiveness of outdoor sows from first to fourth parities. Applied Animal Behaviour Science, 98(3-4), 216-233.
16. Hellbrügge, B., Tölle, K. H., Bennewitz, J., Henze, C., Presuhn, U., & Krieter, J. (2008a). Genetic aspects regarding piglet losses and the maternal behaviour of sows. Part 1.

Genetic analysis of piglet mortality and fertility traits in pigs. Animal, 2(9), 1273-1280.
17. Illmann, G., Neuhauserová, K., Pokorná, Z., Chaloupková, H., & Šimečková, M. (2008). Maternal responsiveness of sows towards piglet's screams during the first 24 h postpartum. Applied Animal Behaviour Science, 112(3-4), 248-259.
18. Illmann, G., Hammerschmidt, K., Špinka, M., & Tallet, C. (2013). Calling by domestic piglets during simulated crushing and isolation: A signal of need?. PLoS One, 8(12), e83529.
19. Jarvis S., D'Eath R. B., Fujita K. (2005) "Consistency of piglet crushing by sows". Anim Welfare. 14:43–51.
20. Johnson, A. K., Morrow, J. L., Dailey, J. W., & McGlone, J. J. (2007). Preweaning mortality in loose-housed lactating sows: Behavioral and performance differences between sows who crush or do not crush piglets. Applied Animal Behaviour Science, 105(1-3), 59-74.
21. Kilbride, A. L., Mendl, M., Statham, P., Held, S., Harris, M., Cooper, S., & Green, L. E. (2012). A cohort study of preweaning piglet mortality and farrowing accommodation on 112 commercial pig farms in England. Preventive veterinary medicine, 104(3-4), 281-291.
22. Kobek-Kjeldager, C., Pedersen, L. J., & Larsen, M. L. V. (2023). Behavioural characteristics of fatal piglet crushing events under outdoor conditions. Livestock Science, 268, 105164.
23. Larsen, M. L., Wang, M., Willems, S., Liu, D., & Norton, T. (2023). Automatic detection of locomotor play in young pigs: A proof of concept. Biosystems Engineering, 229, 154-166.
24. Lay Jr, D. C., Haussmann, M. F., Buchanan, H. S., & Daniels, M. J. (1999). Danger to pigs due to crushing can be reduced by the use of a simulated udder. Journal of animal science, 77(8), 2060-2064.
25. Li, B., Xu, W., Chen, T., Cheng, J., & Shen, M. (2023). Recognition of fine-grained sow nursing behavior based on the SlowFast and hidden Markov models. Computers and Electronics in Agriculture, 210, 107938.
26. Liu, T., Kong, N., Liu, Z., Xi, L., Hui, X., Ma, W., Li, X., Cheng, P., Ji, Z., Yang, Z., & Yang, X. (2022). New insights into factors affecting piglet crushing and anti-crushing techniques. *Livestock Science*.
27. Manteuffel, C., Hartung, E., Schmidt, M., Hoffmann, G., & Schön, P. C. (2017). Online detection and localisation of piglet crushing using vocalisation analysis and context data. Computers and electronics in agriculture, 135, 108-114.
28. Marchant, J. N., Broom, D. M., & Corning, S. (2001). The influence of sow behaviour on piglet mortality due to crushing in an open farrowing system. Animal science, 72(1), 19-28.
29. Meyer, E., Vogel, M., & Wähner, M. (2012). Investigations on acceptance and size of piglet nests. Landtechnik, 67(5), 362-365.
30. Morrison, V., English, P. R., & Lodge, G. A. (1983). The effect of alternative creep heating arrangements at two house temperatures on piglet lying behaviour and mortality in the neonatal period. Summary of paper 110 presented at the Winter Meeting of the British Society of Animal Production, March 21-23, 1983.
31. Muns, R., Nuntapaitoon, M., & Tummaruk, P. (2016). Non-infectious causes of pre-weaning mortality in piglets. Livestock Science, 184, 46-57.
32. Nicolaisen, T., Lühken, E., Volkmann, N., Rohn, K., Kemper, N., & Fels, M. (2019). The effect of sows' and piglets' behaviour on piglet crushing patterns in two different farrowing pen systems. Animals, 9(8), 538.

33. Ocepek, M., & Andersen, I. L. (2017). What makes a good mother? Maternal behavioural traits important for piglet survival. Applied animal behaviour science, 193, 29-36.
34. Ostovic M., Pavicic Z., Tofant A., Kabalin A. E., Mencik S., Potocnjak D., Antunovic B. (2012) "Sow parity, body length, postural changes and piglet crushing". Veterinarski Archiv. 82:319–326.
35. Tzanidakis, C., Simitzis, P., Arvanitis, K., & Panagakis, P. (2021). An overview of the current trends in precision pig farming technologies. Livestock Science, 249, 104530.
36. Vasdal, G., Andersen, I. L., & Pedersen, L. J. (2009). Piglet use of the creep area—Effects of breeding value and farrowing environment. Applied animal behaviour science, 120(1-2), 62-67.
37. Weary, D. M., Pajor, E. A., Fraser, D., & Honkanen, A. M. (1996). Sow body movements that crush piglets: a comparison between two types of farrowing accommodation. Applied Animal Behaviour Science, 49(2), 149-158.
38. Wechsler, B., & Hegglin, D. (1997). Individual differences in the behaviour of sows at the nest-site and the crushing of piglets. Applied Animal Behaviour Science, 51(1-2), 39-49.
39. Wischner, D., Kemper, N., Stamer, E., Hellbruegge, B., Presuhn, U., & Krieter, J. (2009). Characterisation of sows' postures and posture changes with regard to crushing piglets. Applied animal behaviour science, 119(1-2), 49-55.
40. Wischner, D., Kemper, N., Stamer, E., Hellbrügge, B., Presuhn, U., & Krieter, J. (2010). Pre-lying behaviour patterns in confined sows and their effects on crushing of piglets. Applied animal behaviour science, 122(1), 21-27.
41. Yang, R., Chen, Z., Xu, H., Shen, M., Li, P., Norton, T., & Lu, M. (2023). Recognizing the rooting action of prepartum sow in free-farrowing pen using computer vision. Computers and Electronics in Agriculture, 213, 108167.
42. Zhang, Q., & Xin, H. (2001). Responses of piglets to creep heat type and location in farrowing crate. Applied Engineering in Agriculture, 17(4), 515.
43. Ziron, M., & Hoy, S. (2003). Effect of a warm and flexible piglet nest heating system—the warm water bed—on piglet behaviour, live weight management and skin lesions. Applied Animal Behaviour Science, 80(1), 9-18.

SITOGRAFIA

1. BORIS website - BORIS (unito.it) (Accessed on: 23 July 2024)
2. End the Cage Age | Available at: https://www.endthecageage.eu/ (Accessed on: 15 June 2024).
3. Free Farrowing, 2021. Free Farrowing (Accessed on: 10 July 2024)
4. Label Studio Documentation — Interactive annotation in Label Studio with Segment Anything Model (SAM) (Accessed on: 23 July 2024)
5. Label Studio — Semantic Segmentation with Masks Data Labeling Template (Accessed on: 10 July 2024)
6. What Is Instance Segmentation? | IBM (Accessed on: 10 July 2024).

PESTE SUINA AFRICANA: ANALISI DELLA SITUAZIONE EPIDEMIOLOGICA IN ITALIA

AFRICAN SWINE FEVER: AN ANALYSIS OF THE EPIDEMIOLOGICAL SITUATION IN ITALY

ISCARO C.[1], DI SABATINO D.[2], CRESCI M.[2], CAPPAI S.[3], SALA M.[4], RUOCCO L.[5], SORDILLI M.[5], PLASMATI F.[5], PACELLI F.[5], FELIZIANI F.[1]

[1] Laboratorio Nazionale di Referenza per le Pesti Suine, Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche Togo Rosati, Via G. Salvemini 1, 06132, Perugia, Italy;
[2] Centro Nazionale di Referenza per l'Epidemiologia Veterinaria, la Programmazione, l'Informazione e l'Analisi del Rischio, Istituto Zooprofilattico Sperimentale Abruzzo e Molise Giuseppe Caporale, Campo Boario, 64100, Teramo, Italy;
[3] Centro di Sorveglianza Epidemiologica, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna G. Pegreffi, Via XX Settembre 9, 09125, Cagliari, Italy;
[4] Epidemiologia applicata, salute unica e cooperazione allo sviluppo,Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lazio e Toscana M. Aleandri, Via Appia Nuova 1411, 00178, Roma, Italy;
[5] Ex Direzione Generale della Sanità Animale e del Farmaco Veterinario, Ufficio III, Sanità Animale e Gestione Operativa del Centro Nazionale di Lotta ed Emergenza Contro le Malattie Animali e Unità Centrale di Crisi, Ministry of Health, Via G. Ribotta 5, 00146, Roma, Italy.

Parole chiave: Peste Suina Africana, Sorveglianza, Eradicazione.
Keywords: African Swine Fever, Surveillance, Eradication.

Riassunto

Dal 1978 al 2024, l'Italia è stata colpita dalla peste suina africana (PSA) di genotipo I, che ha coinvolto suini domestici, suini allevati illegalmente e cinghiali in Sardegna. Nel 2022, l'Italia continentale ha notificato la malattia causata dal genotipo II. Attualmente la PSA coinvolge 3 cluster in 8 regioni e 21 province. L'infezione è ancora presente nella popolazione di cinghiali in alcune di queste aree ed è periodicamente notificata negli allevamenti di suini domestici. In Italia, dal 2020 è in vigore un piano nazionale di sorveglianza passiva per l'individuazione precoce della popolazione di cinghiali e degli allevamenti di suini domestici nella zona indenne da PSA. Nei territori colpiti, i piani di eradicazione richiedono una maggiore sorveglianza passiva, il miglioramento della biosicurezza e la gestione della popolazione di cinghiali. Un sistema informativo nazionale (VETINFO) consente di tenere traccia sul portale di tutti i dati relativi alla sorveglianza e all'eradicazione della PSA a livello centrale/regionale/locale. Lo scenario epidemiologico italiano appare decisamente sfidante, considerando la continua estensione delle aree di infezione, la vicinanza della malattia al maggiore distretto produttivo suinicolo, le caratteristiche orografiche dei territori coinvolti. Di contro, l'eradicazione della PSA è un obiettivo raggiunto dopo alcuni decenni di endemia in Sardegna e dopo circa un triennio nel Lazio.

Abstract

From 1978 to 2024, Italy was affected by African swine fever (ASF) genotype I, involving domestic pigs, illegally free-range pigs and wild boars in Sardinia. In 2022, mainland Italy notified the disease caused by genotype II. Currently, ASF involves 3 clusters in 8 regions and 21 provinces. The infection is still present in wild boar population in some of

these areas and is periodically notified in domestic pig farms. In Italy, a national passive surveillance plan for early detection of the wild boar population and domestic pig farms in the ASF-free area has been in place since 2020. In affected areas, eradication plans require increased passive surveillance, improved biosecurity, and management of the wild boar population. A national information system (VETINFO) allows tracking on the portal of all data related to surveillance and eradication of ASF at the central/regional/local level. The Italian epidemiological scenario appears to be definitively challenging, considering the continuous extension of the areas of infection, the proximity of the disease to the major pig production district, and the orographic characteristics of the territories involved. In contrast, the eradication of ASF is a goal achieved after several decades of endemicity in Sardinia and after about a three-year period in Lazio.

INTRODUZIONE

La Peste Suina Africana (PSA) rappresenta una delle più gravi minacce alla salute animale a livello globale. La malattia provocata dal genotipo I del virus ha raggiunto la Sardegna nel 1978, coinvolgendo tre popolazioni diverse (suini domestici, suini allevati illegalmente e cinghiali). Nel 2024, la regione ha riacquisito lo status di indenne da PSA. Nel 2022, l'Italia ha notificato la malattia provocata dal genotipo II per la prima volta in Piemonte e Liguria. Nel corso dello stesso anno, il virus è stato individuato nel Lazio. Nel 2023, sono state registrate 2 introduzioni puntiformi del virus in Calabria e in Campania, al confine con la Basilicata, mentre si è evidenziato l'avanzamento del fronte epidemico nel nord-ovest e il coinvolgimento di altre regioni (Lombardia ed Emilia Romagna). La Toscana si è unita all'elenco delle regioni infette nel 2024. La malattia, nel 2024, ha fatto registrare quattro cluster di infezione tra loro indipendenti: il cluster del nord-ovest, che comprende un'ampia area di infezione in espansione nelle regioni nord-occidentali; il cluster Lazio, che ha alternato fasi di apparente silenzio epidemiologico con periodi di riemersione; il cluster Campania/Basilicata, che pur rimanendo limitato ad un area ristretta ha continuato ad evidenziare nuovi casi; il cluster Calabria apparentemente silente. A gennaio 2025 il cluster nel Lazio è stato dichiarato risolto. Attualmente, la presenza della malattia riguarda pertanto 8 regioni (Piemonte, Liguria, Lombardia, Emilia Romagna, Toscana, Campania, Basilicata, Calabria) e 21 province. La malattia è presente nelle popolazioni di cinghiali di tutti i cluster: in alcuni territori infetti, si alternano momenti di silenzio epidemiologico a momenti di recrudescenza, mentre in altri il rinvenimento dei casi è piuttosto costante nel tempo. La malattia, inoltre, viene periodicamente notificata negli allevamenti di suini domestici, facendo ad oggi registrare almeno due ondate epidemiche nel corso dei mesi estivi negli anni 2023 e 2024, con epifenomeni successivi (l'ultimo focolaio notificato risale a gennaio 2025, in provincia di Piacenza).

MATERIALI E METODI

A fronte della situazione epidemiologica globale e della necessità di fronteggiare eventuali incursioni del virus sul territorio continentale, nel 2020 è stato adottato il primo Piano Nazionale di Sorveglianza per la *early detection* della PSA, che comprendeva anche le misure di eradicazione attuate in Sardegna (a norma del Piano di Eradicazione regionale). Il Piano Nazionale è stato rimodulato annualmente e ha subito una notevole modifica a seguito dell'ingresso del virus sul territorio continentale (Piano Nazionale di Sorveglianza ed Eradicazione 2023). Ad oggi, vige la versione 2025 del Piano, che dispone misure di sorveglianza passiva sul territorio indenne, inclusa la Sardegna (1). In generale, il Piano Nazionale si fonda sullo svolgimento di attività di sorveglianza passiva nella popolazione di cinghiali e negli allevamenti di suini domestici, la verifica dell'attuazione delle misure di

biosicurezza, l'applicazione di misure di gestione della popolazione di cinghiali e l'esecuzione di una campagna di sensibilizzazione. Contestualmente, nei territori colpiti, le regioni dispongono ed attuano specifici Piani di eradicazione, che richiedono il rafforzamento della sorveglianza passiva attraverso la ricerca attiva delle carcasse, la verifica delle misure di biosicurezza presenti negli allevamenti suinicoli e un costante processo di miglioramento del sistema, la gestione della popolazione di cinghiali allo scopo di eradicare la malattia. Nella fase finale del processo di eradicazione, al fine di dimostrare l'assenza della circolazione del virus nelle popolazioni di cinghiali sul proprio territorio e riottenere lo status di indenne per PSA, le regioni applicano l'exit strategy (2), che si basa fondamentalmente sui dati di sorveglianza passiva e passiva rafforzata. L'exit strategy inizia dall'ultimo caso rilevato e prevede due fasi in successione (fase di screening e fase di conferma) nelle quali l'accuratezza della strategia aumenta con l'aumentare del numero di carcasse raccolte e analizzate. L'intero processo di gestione della malattia in Italia è supportato dai sistemi informativi presenti sul portale VETINFO (3). Alcuni, già esistenti nel 2020, sono stati adattati alle esigenze del primo Piano nazionale per PSA; altri hanno visto la luce in seguito alla notifica della malattia in Italia continentale, quando è stato necessario implementare ulteriormente i flussi informativi, allo scopo di permettere alle autorità competenti di monitorare i risultati delle attività svolte per il controllo della malattia e applicare misure adeguate a seconda dell'andamento dei dati. Il Piano Nazionale si avvale del sistema SINVSA, che raccoglie i dati di sorveglianza inseriti sia dai Servizi Veterinari (campionamenti) sia dagli Istituti Zooprofilattici Sperimentali (esiti diagnostici). Il CRUSCOTTO Pesti Suine consente di avere un costante aggiornamento sullo stato di avanzamento delle attività del piano su base regionale, attraverso il monitoraggio dei dati di sorveglianza e la evidenziazione di eventuali criticità. La DASHBOARD PSA visualizza in tempo reale i dati relativi alle attività di sorveglianza ed eradicazione sul territorio nazionale (numero di prelievi, numero di casi e focolai, entrambi per domestici e selvatici, visibili per regione), sia in formato tabellare che su mappa. Il BOLLETTINO EPIDEMIOLOGICO PSA riunisce, in uno strumento agile e di pronta consultazione, le principali informazioni relative alla situazione epidemiologica della malattia, alle attività condotte nelle zone soggette a restrizione e nelle zone indenni, agli approfondimenti con il rimando ai siti delle istituzioni nazionali e comunitarie. I piani di eradicazione della PSA nelle regioni coinvolte, come anche ogni caso sospetto nel territorio indenne, sono gestiti attraverso il sistema SIMAN. A supporto del proprio piano di eradicazione e del processo decisionale, la Sardegna ha sviluppato un datawarehouse nel quale le attività di monitoraggio dei suini bradi illegali sono state riassunte mensilmente e per provincia al fine di descrivere e comunicare in modo efficace il fenomeno in termini non solo di numeratore (avvistamenti di bradi), ma anche di denominatore (sopralluoghi effettuati). Il datawarehouse ha rappresentato il sistema dedicato al costante monitoraggio e alla validazione dei dati di eradicazione sull'intero territorio regionale, alla verifica periodica dell'andamento delle attività, alla valutazione del rischio. Nell'ultima fase del processo di eradicazione, infine, la Sardegna ha avviato il processo di utilizzo anche dei sistemi informativi SINVSA e SIMAN, per allinearsi al territorio continentale, in vista del completo passaggio al sistema di sorveglianza nazionale.

RISULTATI

Dati di sorveglianza ed eradicazione sul territorio nazionale (estrazione dati SINVSA 20-02-2025)

Sull'intero territorio nazionale, nel triennio 2022-2024 si evidenzia un trend decisamente in aumento per quanto riguarda la sorveglianza passiva del domestico; le segnalazioni nel selvatico, invece, dopo un aumento evidente tra il 2022 e il 2023, non solo si attestano su un numero piuttosto stabile negli anni 2023-2024, ma per almeno la metà del totale, sono rappresentate da animali incidentati. Nelle regioni infette, è evidente un aumento dei numeri di

carcasse rinvenute e ricercate attivamente, nonché di cinghiali abbattuti; questo trend, peraltro atteso, è influenzato anche dal progressivo allargamento dei territori infetti. Ad ogni modo, nel 2024, la quota di cinghiali abbattuti/cacciati è circa 4 volte maggiore rispetto al numero di carcasse rinvenute in ricerca attiva.

Strategia di eradicazione della PSA in Sardegna

In Sardegna, i suini bradi allevati illegalmente hanno rappresentato il serbatoio virale e fonte continua di infezione per cinghiali e suini domestici e, pertanto, sono stati destinatari delle misure di eradicazione che si sono succedute nel tempo. Nel periodo 2014-2017 è stato intrapreso un percorso di sensibilizzazione sugli allevatori dei suini bradi illegali e, parallelamente, sono state eseguite costanti attività di controllo sulla biosicurezza e sulla conformità delle procedure di identificazione/registrazione dei suini. Nel periodo 2017-2020 sono state eseguite massicce azioni di abbattimento dei suini liberi. Il diradamento dei bradi illegali ha avuto un impatto favorevole: rapida riduzione della circolazione virale in quelli ancora presenti e nei cinghiali con i quali questi venivano a contatto, e riduzione progressiva delle sieroprevalenze. L'ultimo rilevamento del virus risale al 2018 nei suini domestici e al 2019 nei cinghiali. L'applicazione della exit strategy è iniziata nel 2021 e si è conclusa nel 2024. In particolare, è stata implementata un›interpretazione pratica della strategia, basata su due approcci diversi (uso della densità dei cinghiali e uso del numero di cinghiali cacciati per stimare il numero di carcasse necessarie) e sulla più bassa probabilità di fallimento di un'errata dichiarazione di indennità nel caso in cui la malattia fosse ancora presente ma non rilevata. L'esito favorevole della strategia ha portato dapprima alla eradicazione della PSA nel selvatico in tutto il territorio sardo (2023), con eliminazione della ZR II, e successivamente alla definitiva dichiarazione di indennità da PSA, rimuovendo anche le ZR I e III (settembre 2024).

Strategia di eradicazione della PSA nel Lazio

Nel Lazio il cluster PSA ha interessato l'area metropolitana di Roma, coinvolgendo un territorio urbano e periurbano di estensione limitata, in cui la massima distanza tra i casi più lontani tra loro non ha mai superato gli 11 Km. L'ingresso del virus nella popolazione selvatica è stato verosimilmente legato al fattore umano (abbandono e conseguente ingestione di rifiuti alimentari infetti). Il primo caso è stato notificato a maggio 2022 nel parco dell'Insugherata in assenza di connessione epidemiologica con il cluster del Nord-Italia, mentre l'ultimo caso è stato confermato ad agosto 2023. Un unico focolaio è stato notificato e subito estinto nel giugno 2022, in piena zona infetta del cinghiale. Le ininterrotte misure di eradicazione attuate si sono basate sulla sorveglianza passiva rafforzata, con battute di ricerca attiva delle carcasse periodicamente e costantemente ripetute, e sulla attività di depopolamento in ZR II attraverso tecniche a basso impatto (catture con trappole mobili e telenarcosi). La barriera artificiale del Grande Raccordo Autostradale, rafforzata dal posizionamento di recinzioni in corrispondenza dei varchi di passaggio, ha costituito un ostacolo efficace all'espansione centrifuga del virus. L'applicazione della exit strategy ha riguardato il periodo dicembre 2023-dicenbre 2024. Per il calcolo della popolazione è stato impiegato il numero dei cinghiali prelevati attivamente (cacciati, catturati e incidentati in ZR I e II); per la stima delle carcasse necessarie è stata impiegata la numerosità assoluta annuale attesa di morti; per la durata delle fasi è stata ammessa una probabilità di errore del 10%. In entrambe le ZR, il numero di carcasse ritrovate e testate è maggiore del numero di carcasse attese, in entrambe le fasi, e le carcasse campionate sono risultate distribuite in maniera uniforme nel tempo e nello spazio. La Commissione Europea ha ratificato l'eradicazione della PSA nel Lazio a gennaio 2025.

DISCUSSIONE

Negli ultimi anni, il livello di consapevolezza circa le misure di sorveglianza passiva per PSA è aumentato. Lo dimostrano i dati relativi all'incremento delle attività di segnalazione

dei morti, sia domestici che selvatici, e la maggiore attenzione ai casi sospetti, soprattutto nei domestici. Questo potrebbe derivare dalla aumentata sensibilizzazione degli allevatori suinicoli, e dalla maggiore attuazione ed efficacia delle campagne di informazione sul territorio per quanto riguarda i selvatici. Alcune criticità persistono, come la quota di cinghiali incidentati tra quelli segnalati come morti, specialmente nelle zone indenni, e il rapporto di cinghiali abbattuti/cacciati vs ricercati a favore dei primi, nelle ZR. Attualmente, il cluster più preoccupante è quello nord-occidentale. L'area di espansione della malattia non solo è almeno triplicata dall'inizio dell'epidemia ad oggi, ma continua inesorabilmente ad allargarsi in diverse direzioni. La diffusione dell'infezione nella popolazione di cinghiali è in corso verso sud (territori montuosi dell'Appennino centrale, Toscana); verso sud-est (territorio che si affaccia sulla Pianura Padana, Emilia Romagna) e verso nord, a partire dal Parco del Ticino. Nella prima fase della epidemia, le caratteristiche del territorio (montuoso) e la presenza di parchi naturali, corsi d'acqua e corridoi ecologici importanti per i cinghiali, hanno molto probabilmente favorito la diffusione dell'infezione per contiguità. Da aprile 2024 alcuni casi positivi sono stati notificati in un territorio orograficamente diverso, corrispondente al declivio degli Appennini che si affaccia sulla Pianura Padana. Di fatto, l'infezione si avvicina pericolosamente al principale distretto suinicolo produttivo nazionale, aumentando il rischio di introduzione del virus nel settore domestico. D'altra parte, l'elevata contaminazione ambientale, provocata dalla presenza ormai endemica della malattia nel selvatico, ha rappresentato la causa prima delle due ondate epidemiche verificatesi nei suini domestici nel 2023 (Lombardia) e nel 2024 (Piemonte, Lombardia, Emilia Romagna). In entrambi i casi, per i focolai primari è stata ampiamente sospettata una diffusione dell'infezione dai cinghiali ai suini allevati, tramite contatto diretto o indiretto. Successivamente, le pratiche agricole, le scarse o inefficaci misure di biosicurezza, come l'ingresso di automezzi e persone contaminate, e la promiscuità tra le attività zootecniche ed altre attività sono i principali fattori di rischio individuati che hanno permesso la diffusione del virus tra gli allevamenti (focolai secondari). Per tutti questi, infatti, sono state fortemente ipotizzate violazioni nei sistemi di biosicurezza, dovute a una mancanza/carenza di consapevolezza nelle misure strutturali, funzionali e gestionali negli allevamenti. In Campania, la dinamica epidemica nella popolazione selvatica ha alternato momenti di silenzio epidemiologico con recrudescenze dell'infezione, che tuttavia è rimasta piuttosto confinata in un'area relativamente poco estesa. Dopo la prima fase di gestione dell'emergenza, gli sforzi profusi hanno permesso di evitare la diffusione dell'infezione su tre lati del cluster, mentre la presenza di un massiccio montuoso sull'altro lato ha funto da barriera naturale ai movimenti della popolazione selvatica. La strategia di eradicazione si basa su costanti attività di ricerca attiva delle carcasse, con il coinvolgimento di Enti sia pubblici che privati e stakeholder locali, e uso di cani da detection; contenimento della popolazione selvatica attraverso il rafforzamento delle reti anti-fauna sulle autostrade dell'intero territorio regionale; depopolamento del cinghiale attraverso l'impiego di tecniche a basso impatto, come le catture, principalmente in ZR I, in modo da isolare la ZR II; rigoroso controllo delle biosicurezze negli allevamenti suini familiari e commerciali nelle ZR; azioni di sensibilizzazione della cittadinanza e coinvolgimento degli amministratori locali. In questo cluster, resta singolare il riscontro che, ad oggi, nessun caso di positività sia stato rinvenuto in territorio lucano. D'altra parte, le esigue attività di sorveglianza passiva rafforzata su quel territorio non permettono di avere dati sufficientemente robusti per valutare la presenza o meno dell'infezione. In Calabria l'infezione ha coinvolto la popolazione selvatica e quasi contestualmente quella domestica, in particolare allevamenti da riproduzione all'aperto, a testimonianza della persistenza di infezione del selvatico e dell'elevata contaminazione ambientale. D'altra parte, se l'infezione nel domestico è stata circoscritta tanto da ottenere la revoca della ZRIII, nel selvatico il silenzio epidemiologico riscontrato potrebbe essere solo

apparente, considerando la insufficienza dei dati di sorveglianza. Le misure di ricerca attiva carcasse non sono mai pienamente state avviate, mentre le attività di depopolamento sono state attuate al di fuori di una strategia di eradicazione coordinata. Il processo di eradicazione della PSA, notoriamente complesso e sfidante in termini di impiego di risorse, tempistiche e strategia, richiede sforzi costanti, con obiettivi a medio e lungo termine, nonché misure non sempre accettate a livello sociale. Ne è esempio concreto la Sardegna che, dopo un periodo lunghissimo di inattività, ha dimostrato la volontà politica di attuare un piano di eradicazione che, nel giro di un decennio circa, ha permesso di ottenere il risultato previsto. Di fatto, è stato profuso un enorme sforzo per coniugare una più efficace applicazione delle misure sanitarie con lo sviluppo di politiche utili a migliorare le tecniche di allevamento, la biosicurezza nelle aziende suinicole, la formazione per tutti gli stakeholders. Tuttavia, la misura di maggiore impatto è stata la lotta all'allevamento illegale di suini bradi, che rappresenta il primo fattore limitante dei precedenti tentativi di eradicazione. Nel Lazio, in maniera analoga, il successo della strategia di eradicazione è consistito nella programmazione sul medio e lungo periodo e nella attuazione rigorosa delle misure individuate come efficaci, quali la ricerca attiva delle carcasse e il contenimento della popolazione selvatica infetta attraverso il trappolaggio. Il notevole impegno organizzativo ed operativo per mantenere nel tempo la sorveglianza passiva rafforzata, congiuntamente alle attività di depopolamento con tecniche a basso impatto, in un ambiente quantomai unico nel suo genere, unito alla limitata estensione del territorio infetto, hanno permesso di ottenere nuovamente lo status di indenne per PSA in un triennio.

CONCLUSIONI

Sebbene in Italia le criticità nella gestione della malattia siano diverse, alcuni elementi di forza non possono essere ignorati. Uno di questi è rappresentato dai sistemi informativi nazionali, che consentono di collezionare e monitorare tutti i dati relativi alla gestione della PSA a livello centrale/regionale/locale e, quindi, di stabilire la strategia più appropriata. Inoltre, gli esempi di eradicazione italiani dimostrano che la capacità di mantenere l'infezione confinata in un territorio poco esteso e l'attuazione costante e continua nel tempo delle attività di sorveglianza passiva previste sono la chiave nella lotta alla malattia. Infine, la piena consapevolezza delle sfide legate all'attuale scenario epidemiologico italiano per PSA dovrebbe sostenere gli sforzi di eradicazione attuati dai diversi attori coinvolti.

BIBLIOGRAFIA

1. https://www.izsum.it/download/allegati/329/2520942251O__Oasf_programme_template_2025-2027_integrazionenov242.pdf
2. https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/6419
3. https://www.vetinfo.it/

PESTE SUINA AFRICANA (PSA) NEL NORD ITALIA: MAPPATURA DEGLI HABITAT IDEALI PER IL CINGHIALE E DEI CORRIDOI DI DIFFUSIONE PER PREVEDERE LA DIFFUSIONE DELLA PSA

AFRICAN SWINE FEVER (AFS) IN NORTHERN ITALY: MAPPING SUITABLE HABITATS FOR WILD BOAR PRESENCE AND PREFERENTIAL CORRIDORS TO PREDICT AFRICAN SWINE FEVER SPREAD

FAUSTINI G.[1], SORET M. [2], DEFOSSEZ A. [2], BOSCH J. [3,4], CONTE A. [5], TRAN A. [6,7]

[1]Dipartimento di Medicina Animale, Produzione e Salute (MAPS), Università di Padova, Legnaro, Padova, Italy;
[2]National Research Institute for Agriculture, Food and Environment (INRAE), Montpellier, France;
[3] VISAVET Health Surveillance Center, Complutense University of Madrid, Madrid, Spain.;
[4] Department of Animal Health, Faculty of Veterinary, Complutense University of Madrid, Madrid, Spain;
[5] Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise, Teramo, Italy;
[6] French Agricultural Research Centre for International Development (CIRAD), Montpellier, France;
[7] AgroParisTech, French Agricultural Research Centre for International Development (CIRAD), French National Center for Scientific Research (CNRS), National Research Institute for Agriculture, Food and Environment (INRAE), University of Montpellier, Montpellier, France

Parole chiave: Peste suina africana, corridoi di diffusione, identificazione delle carcasse.
Key Words: African swine fever, corridors of spreading, carcass detection.

RIASSUNTO

La peste suina africana (PSA) è una grave malattia altamente contagiosa, ad alta mortalità, che colpisce suini selvatici e domestici. Originariamente confinato nell'Africa subsahariana, il genotipo II del virus della PSA si è diffuso in Europa dal 2014, colpendo principalmente l'Europa orientale e progredendo principalmente attraverso le migrazioni dei cinghiali e l'azione umana. Nel gennaio 2022 è stato segnalato il primo caso di PSA, genotipo II, in Piemonte, in una carcassa di cinghiale. Successivamente, sono stati identificati numerosi cinghiali positivi, suggerendo come la malattia sia in espansione nella popolazione selvatica del Nord Italia. Ciò minaccia gravemente l'allevamento e il commercio dei suini italiani. Questo studio si è concentrato sulla mappatura degli habitat idonei ai cinghiali e dei loro potenziali corridoi di dispersione nel Nord Italia, utilizzando modelli di machine learning e analizzando la connettività del paesaggio. Le mappe risultanti hanno identificato le aree con maggiore probabilità di presenza di cinghiali, evidenziandone i percorsi preferenziali di migrazione nel Nord Italia. La distribuzione dei casi di PSA lungo i principali corridoi individuati suggerisce come le mappe ottenute in questo studio rappresentino un valido supporto ai servizi veterinari per accelerare il controllo della diffusione della PSA e puntare all'eradicazione. L'approccio adottato può essere replicato in altre regioni.

ABSTRACT
African swine fever (ASF) is a serious, highly contagious, high-mortality disease, affecting wild and domestic pigs. Originally confined to Sub-Saharan Africa, ASF virus genotype II has spread to Europe since 2014, mainly affecting Eastern Europe, and progressing through wild boar migrations and human action. . In January 2022, the first case of ASF, genotype II, was reported in Piedmont in a wild boar carcass. Thereafter, several positive wild boars were identified, demonstrating the disease expansion in the wild population in Northern Italy. The presence of ASF seriously threatens Italian pig husbandry and trade. This study focused on mapping suitable habitats for wild boars and their potential dispersal corridors in Northern Italy, using machine learning models and analysing landscape connectivity. The resulting maps identified areas with the highest probability of wild boar presence, highlighting their preferential migration routes in Northern Italy. The distribution of ASF cases along major corridors suggests how the maps obtained in this study represent a valuable support to veterinary services to accelerate the control of ASF spread and aim for eradication. The applied framework can be easily replicated in other regions.

INTRODUZIONE
La peste suina africana (PSA) è una grave malattia, altamente contagiosa e ad alta mortalità, che colpisce suini selvatici e domestici. Essa determina massicce perdite economiche, sia a causa della morte diretta o dell'abbattimento di un gran numero di animali, che del divieto di commercio di carne suina (Brown et al., 2021).

Tra i 24 genotipi noti del virus della PSA, solo i genotipi I e II si sono diffusi storicamente in Europa (Boshoff et al., 2007). In particolare, il genotipo I, che circolava in Sardegna dal 1978, è stato eradicato nell'isola nel settembre 2024, mentre il genotipo II, dopo una prima introduzione nella Federazione Russa nel 2007, è quello che attualmente colpisce l'Europa orientale (Sauter-Louis et al., 2021).
Per motivi legati all'ecologia del virus e al sistema di allevamento prevalente, questi due genotipi hanno dimostrato una dinamica diversa in Sardegna e in Europa, che ha influenzato la loro diffusione e persistenza nella popolazione di cinghiali, e quindi l'efficacia delle strategie di controllo ed eradicazione. In Sardegna, il mantenimento del genotipo I nei cinghiali è sembrato dipendere dai loro contatti ripetuti con i suini domestici infetti, allevati principalmente all'aperto/allo stato brado (Jurado et al., 2018). Al contrario, in Europa il genotipo II sembra persistere nel ciclo selvatico anche senza continue reintroduzioni dal ciclo domestico. Sebbene lentamente, la PSA si è diffusa a macchia d'olio nell'Europa orientale, dalla Bielorussia alla Germania orientale, principalmente attraverso le migrazioni della popolazione di cinghiali, anche in assenza di focolai domestici, con una velocità di diffusione verosimilmente influenzata dalla densità territoriale dei cinghiali (Pepin et al., 2020).

La PSA ha fatto irruzione anche in Paesi europei (es., in Belgio) non confinanti con nazioni già infette, sotto forma di casi puntuali, probabilmente a seguito dello smaltimento improprio di alimenti contaminati (Sauter-Louis et al., 2021). L'introduzione della PSA nell'Italia nord-occidentale nel 2022 sembra compatibile con questo scenario. Mentre la PSA si stava espandendo in Europa orientale e si prevedeva la sua introduzione dal confine con la Slovenia, le autorità veterinarie italiane hanno confermato nel gennaio 2022 il primo caso di PSA nel nord-ovest, nel comune di Ovada, in Piemonte (Iscaro et al., 2022). Dopo questo primo ritrovamento, sono state individuate diverse carcasse positive in Liguria e più di un anno dopo sono stati trovati cinghiali positivi alla PSA in Lombardia, e in Emilia-Romagna (Figura 1).

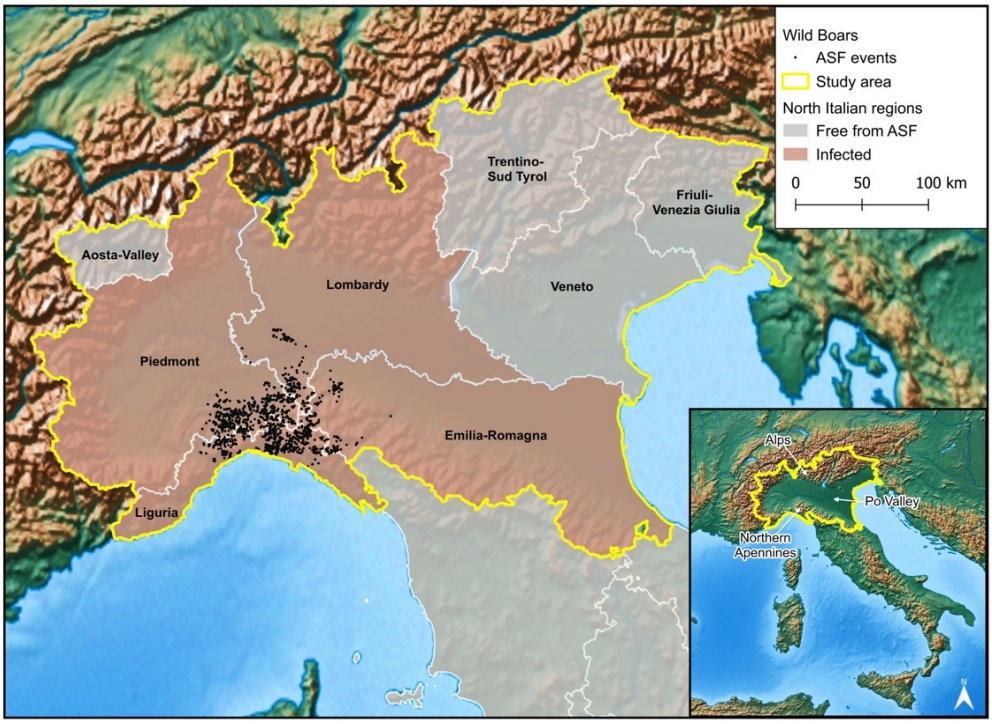


Figura 1. Mappa del Nord Italia che mostra le regioni colpite dalla Peste suina africana (PSA), in data 18 Aprile 2024. Sono visualizzati anche le località in cui sono state identificate le carcasse di cinghiali positivi alla PSA.

Il Nord Italia è l'area dove si concentra la maggior parte della produzione suinicola intensiva italiana (https://www.istat.it/), e un ulteriore coinvolgimento degli allevamenti commerciali nell'epidemia di PSA impatterebbe gravemente sul relativo sistema socio-economico. L'esperienza della persistenza e della diffusione della PSA nell'Europa dell'Est, apparentemente attribuibile alla sola popolazione di cinghiali, e la sua eradicazione attraverso efficaci campagne di caccia, suggeriscono come il controllo tempestivo di questa popolazione ospite sia imperativo per arrestare o almeno frenare la dispersione della malattia. Il modo in cui la malattia potrebbe espandersi nella popolazione di cinghiali del territorio è incerto, poiché la sua diffusione può variare notevolmente tra i diversi habitat presenti nel Nord Italia (Alpi, Prealpi, Pianure) (Iscaro et al., 2022). Questo studio si propone di mappare localmente gli habitat idonei alla presenza del cinghiale e i loro potenziali corridoi di dispersione nel Nord Italia, per supportare i servizi veterinari nell'applicazione di piani di controllo della PSA basati sulle caratteristiche territoriali.

MATERIALI E METODI

Area di studio e dati di presenza del cinghiale

Lo studio è stato condotto sul Nord Italia, che comprende Valle d'Aosta, Piemonte, Lombardia, Trentino-Alto Adige, Veneto, Friuli-Venezia Giulia, Liguria ed Emilia-Romagna. Il Nord Italia è caratterizzato da paesaggi molto diversi, tra cui le Alpi, gli Appennini settentrionali e la Pianura Padana. La Pianura Padana è un'area altamente industrializzata, densamente abitata, altamente dedita all'agricoltura e all'allevamento intensivo.

I dati sulla presenza dei cinghiali sono stati ricavati principalmente da su https://www.gbif.org (accesso il 15 Febbraio 2024, GBIF Occurrence Download https://doi.org/10.15468/dl.cgjtsj), filtrati considerando l'area di studio, ed elaborati secondo le linee guida di GBIF. Inoltre, sono stati inclusi i record provenienti da campagne ufficiali di abbattimento, in particolare condotte nel Parco Regionale dei Colli Euganei in Veneto e nella provincia di Varese in Lombardia. Sono stati esclusi i record per cui la precisione era inferiore a 100 metri e al di fuori dell'arco temporale 2014-2024. Per ridurre i bias di campionamento e l'autocorrelazione spaziale (Boria et al., 2014), le presenze sono state ridotte in densità, considerando una distanza minima di 100 metri, rimuovendo i duplicati. L'elaborazione dei dati è stata condotta con R.

Variabili ambientali

Le variabili ambientali sono state selezionate sulla base dell'ecologia del cinghiale e di modelli presenti in letterature (ENETwild consortium et al., 2018), considerando la topografia (altitudine, pendenza, aspetto, diversità e posizione topologica), il clima (precipitazioni, temperatura), il disturbo antropico (densità di popolazione, distanze da autostrade, aree urbane, densità di strade) e la copertura del suolo (l'indice vegetazionale differenziale normalizzato (NDVI), la copertura del terreno nudo, erbacea, arborea, la distanza da aree coltivate, foreste, laghi, fiumi, parchi della rete Natura 2000). Le variabili sono state ottenute da database pubblici, standardizzate a una risoluzione spaziale di 100m x 100m ed elaborate con QGIS e Python.

Le variabili con dimensioni temporali sono state mediate sul periodo 2014-2023 e su base stagionale. La collinearità è stata ridotta testando l'autocorrelazione fra i predittori utilizzando un albero di correlazione e selezionando le variabili con un cut-off del nodo di 0,5 e un VIF massimo di 5 (Brun et al., 2020).

Modelli di distribuzione di specie (SDM)

L'idoneità degli habitat al cinghiale nell'Italia settentrionale è stata modellata utilizzando modelli di distribuzione delle specie (SDM) sia per uno scenario complessivo che per stagione (Elith & Leathwick, 2009). Lo scenario complessivo comprendeva tutte le presenze e le variabili ambientali medie nel tempo, mentre gli scenari stagionali utilizzavano i record e le variabili specifiche di ogni stagione.

A causa della mancanza di dati reali di assenza del cinghiale, sono state generate pseudoassenze (PsA), imitando il bias di campionamento dei dati di presenza per evitare di sovrastimare i fattori legati all'uomo. Le PsA sono state campionate utilizzando una superficie di densità kernel, che corrisponde al numero di record di presenza (Dubos et al., 2022).

L'idoneità dell'habitat è stata modellata utilizzando diversi algoritmi del pacchetto Biomod2 in R. Ogni algoritmo è stato eseguito 50 volte, con il 70% dei dati per l'addestramento e il 30% per il test. L'algoritmo migliore è stato selezionato in base alla statistica True Skills Statistics (TSS) e alla Relative Operating Characteristic (ROC), escludendo quelli che mostravano un overfitting dai dati. È stato creato un modello ensemble (complessivo) di modelli con ROC > 0,8, valutato in base a ROC, TSS e Kappa di Cohen (Préau et al., 2022). La mappa di idoneità dell'habitat finale variava da 0 a 1.

Le differenze tra le mappe di idoneità sono state analizzate con il test di Kruskal-Wallis e i confronti a coppie sono stati effettuati con il test di Dunn. Il test di Mann-Whitney ha confrontato i valori di idoneità dei dati di presenza con quelli dei record non utilizzati.

Analisi della connettività del paesaggio

La connettività è stata valutata per lo scenario complessivo utilizzando il software

Circuitscape, che modella la connettività del paesaggio sulla base della teoria dei circuiti (Anantharaman et al., 2020). Da una sorgente di corrente, Circuitscape stima il flusso di corrente tra i nodi focali, simulando i movimenti degli animali. La mappa di idoneità dello scenario complessiva è stata utilizzata per creare i file di input, tra cui un file di localizzazione dei nodi focali (punti sorgente della corrente), e una mappa di resistenza.
I nodi focali sono stati generati convertendo la mappa di idoneità in una mappa binaria e selezionando patch di dimensioni superiori a 4,4 km² (ENETWILD-consortium et al., 2022). I punti casuali sono stati quindi selezionati all'interno di queste patch in base alla densità del cinghiale (Pittiglio et al., 2018), garantendo una distanza minima di 12 km tra di esse.
La mappa della resistenza, che rappresenta l'inverso dell'idoneità dell'habitat, è stata creata utilizzando una funzione esponenziale negativa.
L'analisi della connettività è stata eseguita per 10 dataset di punti casuali. La presenza di differenze significative tra le 10 mappe di connettività è stata valutata utilizzando il test di Kruskal-Wallis. Una mappa di connettività finale è stata creata calcolando la mediana delle 10 mappe.

Analisi spaziale e valutazione della connettività dei focolai di PSA
I dati sui focolai di PSA nei cinghiali del Nord Italia sono stati ottenuti dal World Animal Health Information System (WAHIS). La distribuzione spaziale dei focolai è stata analizzata utilizzando vari test geostatistici, tra cui il metodo della quadratura, la nearest-neighbour distance e i test di trasformazione K(d) function/L(d), con 999 simulazioni che hanno confrontato i focolai con una distribuzione casuale (Ripley, 1977).
Per valutare l'associazione tra i focolai di PSA e i valori di connettività, un test di Mann-Whitney ha confrontato i valori di connettività nei luoghi dei focolai con quelli di punti casuali. I punti casuali sono stati generati 100 volte in un numero pari a quello dei focolai. I valori di connettività sono stati estratti dalla mappa mediana della connettività.

Valutazione del modello
Per ciascuno dei 100 set di punti casuali, sono state analizzate le curve ROC (Robin et al., 2011). Sono stati calcolati l'area media sotto la curva (AUC), la soglia massimizzante contemporaneamente sensibilità e specificità, e la soglia corrispondente a 0,9 di sensibilità. In base a queste soglie sono state create mappe binarie delle mappe di connettività mediane ed è stato calcolato il tasso di veri focolai positivi, ovvero degli outbreak classificati correttamente. Il potere predittivo delle mappe di rischio è stato confrontato con la percentuale di focolai classificati correttamente dalle classi di copertura del suolo.

RISULTATI

Dati di presenza e variabili ambientali
Nel modello complessivo, sono stati inclusi 1306 dati di presenza, per il periodo dal 2014 al 2024 (Figura 2A). Per gli scenari stagionali, le presenze incluse sono state 293 per l'inverno, 312 per la primavera, 434 per l'estate e 451 per l'autunno. Delle 20 variabili originariamente considerate, 13 sono state selezionate per i modelli di idoneità globale e stagionale (Tabella 1).

Variables	Overall	Winter	Spring	Summer	Autumn
Altitude	x	x	x	x	x
Slope	x	x	x		x
Precipitation		x	x		x
Temperature					
NDVI[a]					
Bare Coverage	x	x	x	x	x
Herbaceous Coverage					
Tree Coverage	x			x	
Population Density	x	x	x	x	x
Dist. from Crop Areas				x	
Dist. from Forest	x	x	x	x	x
Dist. from Highways	x	x	x	x	x
Dist. from Lakes	x	x	x	x	x
Dist. from Rivers	x	x	x	x	x
Dist. from Parks	x	x	x	x	x
Dist. from Urban Areas					
Road Density	x	x	x	x	x
Top. Aspect	x	x	x	x	x
Top. Diversity					
Top. Position	x	x	x	x	x
Total variables	**13**	**13**	**13**	**13**	**13**

[a] Normalized Difference Vegetation Index

Tabella 1. Variabili ambientali incluse nei modelli di distribuzione di specie (SDM) per ogni scenario, dopo aver testato la collinearità (in base all'albero di correlazione) e la multicollinearità (in base al fattore di inflazione della varianza (VIF)). Le variabili che tengono conto della distanza dalle caratteristiche ambientali sono abbreviate con "Dist. da". *Indice di vegetazione differenziale normalizzato

Mappa degli habitat ideali per il cinghiale

Tra gli algoritmi disponibili nel pacchetto *Biomod2*, il gradient boosted machine (GBM) ha mostrato buone prestazioni per tutti gli scenari considerati (stime annuali e stagionali). Complessivamente, la media e la deviazione standard (sd) delle metriche di valutazione sono state ROC pari a 0,95 (sd=0,00), TSS pari a 0,77 (sd=0,02) per GBM. Gli altri algoritmi hanno dato luogo a prestazioni inferiori (valori medi: ROC < 0,89; TSS < 0,62) o a overfitting. Il modello ensemble basato su GBM è stato valutato accettabile per tutte le metriche di prestazione considerate, in tutti gli scenari. I valori medi ottenuti sono stati TSS=0,73 (sd=0,08), ROC=0,94 (sd=0,03), KAPPA=0,73 (sd=0,08).

La prima variabile per importanza è stata la distanza dalle foreste, in tutti gli scenari, mentre la seconda è stata l'altitudine, tranne che per lo scenario invernale, più influenzato dalle precipitazioni stagionali. Visivamente, tutte le mappe di idoneità hanno mostrato le

aree montane e collinari con una buona copertura forestale come aree privilegiate per la presenza del cinghiale (Figura 2B, 2C). Con poche eccezioni, la vocazionalità più bassa è stata descritta nell'area della Pianura Padana, e nelle Alpi più settentrionali. Le celle con valore di vocazionalità superiore a 0,6 sono state localizzate principalmente nelle Prealpi, nell'Appennino settentrionale, nel Piemonte centrale in provincia di Asti, nell'area del Parco del Ticino, lungo il fiume Po nella Pianura Padana, nei parchi regionali della Lessinia, dei Colli Berici e dei Colli Euganei in Veneto, e nelle province di Gorizia e Trieste al confine con la Slovenia.

Il valore medio di idoneità del Nord Italia, nello scenario generale, è di 0,38 (0,12-0,91). In media, la stagione con la maggiore idoneità è stata la primavera (0,40, 0,10-0,89), seguita dall'autunno (0,35, 0,08-0,92), dall'estate (0,35, 0,08-0,92) e dall'inverno (0,33, 0,07-0,93). I valori di idoneità riportati sono arrotondati alla seconda cifra decimale. È stata osservata una differenza significativa nell'idoneità dell'area di studio in base ai diversi scenari. In particolare, tutte e cinque le mappe di idoneità sono risultate significativamente diverse tra loro (valore $p < 0,05$).
Non è stata rilevata alcuna differenza significativa tra le distribuzioni dei valori di idoneità complessiva dei dati di presenza inclusi nel modello e dei record non utilizzati, esclusi durante la riduzione della densità (p-value > 0,05).

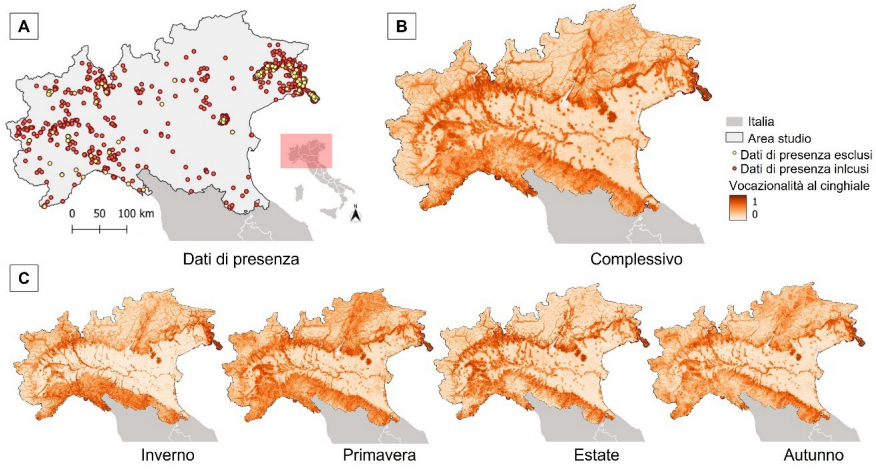


Figura 2. A) Distribuzione dei dati di presenza nell'area di studio. I record di presenza inclusi nel modello finale sono visualizzati come punti rossi, mentre quelli rimossi per soddisfare l'ipotesi di indipendenza sono mostrati come punti gialli. B) Mappa che descrive l'idoneità degli habitat per la presenza del cinghiale nel Nord Italia in uno scenario complessivo. C) Mappa che descrive l'idoneità degli habitat per la presenza del cinghiale nell'Italia settentrionale riferita alle condizioni ambientali per stagionalità.

Mappa di connettività e distribuzione spaziale dei focolai di PSA nel cinghiale
Poiché le dieci mappe di connettività ottenute dai dieci diversi set di dati di punti casuali erano statisticamente comparabili (p-value> 0,05), è stata calcolata una mappa di connettività finale attraverso la mediana (Figura 3A). Nella mappa mediana, il valore medio della connettività era di $0,53x10^{-2}$ (0,00 - $74,83x10^{-2}$). Il valore di connettività descrive la permeabilità di una cella della griglia al movimento dei cinghiali.

In totale, sono stati inclusi nello studio 1755 focolai di PSA nel cinghiale.
Tutte le analisi geostatistiche effettuate hanno descritto una distribuzione aggregata dei focolai di PSA. Le località dei focolai erano associate a valori di connettività più elevati rispetto a quelli estratti da punti di sfondo casuali, per tutte le 100 simulazioni (valore $p < 0,05$).

Mappe di rischio di nuovi focolai di PSA nel cinghiale in base alla connettività
La mappa di connettività mediana ha dimostrato una capacità buona/accettabile di classificare in modo binario i record di focolaio come luoghi vuoti (punto casuale) o come luoghi con presenza di una carcassa. L'AUC media per i 100 set di dati di punti casuali e focolai è stata di 0,69 (0,67 - 0,71). La soglia del valore di connettività corrispondente al 0,9 di sensibilità era $0,45x10^{-2}$. In base a questa soglia, le mappe binarie derivate hanno portato a un tasso di veri positivi del 90,02% (1580/1755), che rappresenta la percentuale di focolai di PSA classificati correttamente come punti di identificazione della carcassa (Figura 3B). La soglia massimizzante contemporaneamente sensibilità e specificità era $1,14x10^{-2}$ e la mappa binaria corrispondente ha riportato un tasso di veri positivi del 65,41% (1148/1755) (Figura 3C). La classe di copertura del suolo con il più alto tasso di positività è stata la classe "foresta" (55,44%, 973/1755), seguita da "coltivazioni" (36,98%, 649/1755), "zone urbane" (7,29%, 128/1755) e "acqua" (0,28%, 5/1755).

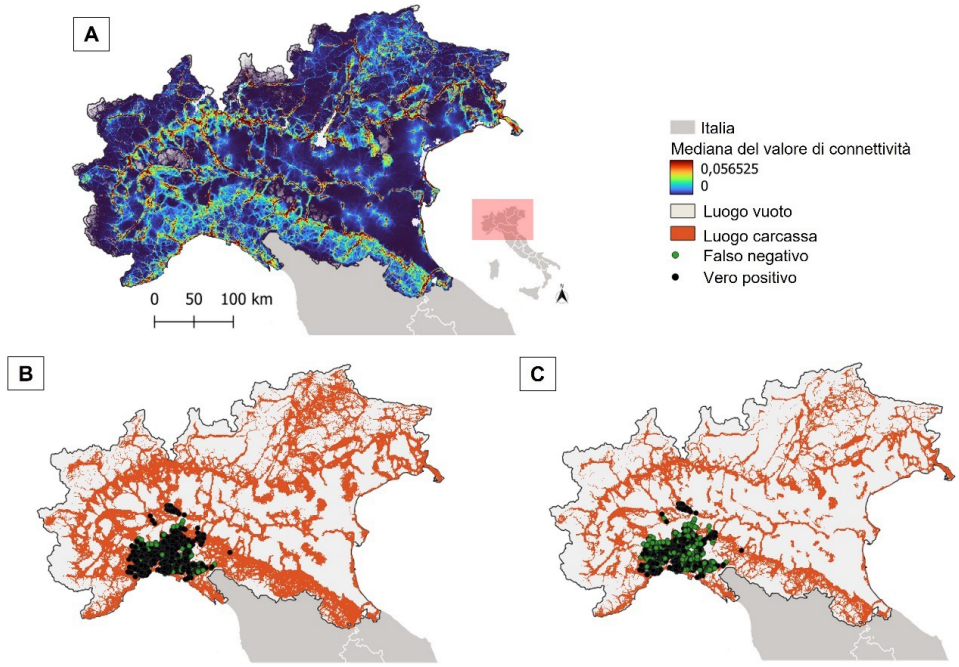


Figura 3. A) Mappa che descrive la connettività del paesaggio nel Nord Italia, in base all'ecologia del cinghiale, evidenziando i principali corridoi di dispersione. Il valore di connettività descrive la permeabilità alla migrazione dei cinghiali. In base a diverse soglie del valore di connettività, si possono ottenere diverse mappe di rischio binarie: B) mappa binaria di rischio con un tasso di veri positivi del 90,2%, che massimizza la sensibilità della mappa nel classificare correttamente i focolai di peste suina africana (PSA); C) mappa binaria di rischio con un tasso di veri positivi del 65,41%, che rispetta il miglior compromesso tra sensibilità e specificità nel classificare i focolai di PSA.

DISCUSSIONE

Questo studio ha permesso di stimare l'idoneità del Nord Italia alla presenza del cinghiale e i principali corridoi di dispersione, prendendo in considerazione diversi aspetti ambientali che influenzano il comportamento dei cinghiali, delineando e riassumendo la complessità dell'ecologia di questi animali in un unico indice.

Utilizzando dati di input provenienti principalmente da banche dati open-source, le mappe di idoneità sviluppate assomigliano visivamente al modello già descritto in studi precedenti (Alexander et al., 2016; Bosch et al., 2017), mostrando stime ad alta risoluzione, anche per stagione (Figura 2B, 2C).

I bassi valori medi di idoneità riportati per il Nord Italia sono influenzati principalmente dalla vasta area della Pianura Padana, che risulta poco adatta alla presenza del cinghiale ad eccezione di singole zone puntuali nei parchi regionali, e della striscia che segue il percorso del fiume Po. L'area dell'Appennino settentrionale e delle Prealpi crea una cornice di aree idonee che circonda quasi ininterrottamente l'intera Pianura Padana (Figura 2B, 2C). La forte antropizzazione e la scarsa copertura vegetale della Pianura Padana potrebbero essere i fattori limitanti per la distribuzione del cinghiale in quest'area. Al contrario, la vegetazione più rigogliosa presente nei parchi regionali, così come nell'area appenninica e prealpina, potrebbe fornire cibo e riparo ai cinghiali, favorendone la presenza. Inoltre, essendo queste aree caratterizzate anche da attività agricole e commerciali che si interfacciano o si intervallano con aree più boscose (ad esempio, vigneti e oliveti, frutteti, castagneti), animali opportunisti e altamente adattabili come i cinghiali potrebbero essere avvantaggiati (Calosi et al., 2024).

Come ogni modello, le mappe di idoneità rappresentano una semplificazione della realtà e sono il risultato delle variabili e dei dati di presenza inclusi nello studio. Le stime di idoneità descritte sono state influenzate dai record di presenza disponibili, che inevitabilmente risultato almeno in parte falsati da un campionamento sbilanciato, in quanto legato all'attività disomogenea di naturalisti, ricercatori, cacciatori, etc. (Figura 2A) (Dubos et al., 2022). Anche differenze tra le stagioni sono dipese probabilmente più dalle diverse numerosità e dalla distribuzione delle presenze, piuttosto che dalle variabili incluse. L'aumento del numero di record di presenza, raccolti in modo omogeneo e diffuso su tutta l'area di studio, potrebbe migliorare l'accuratezza delle previsioni.

La minimizzazione del bias di campionamento, la riduzione della densità delle presenze e la scelta finale di un modello (GBM) con una minore tendenza all'overfitting e ottime capacità predittive anche a partire da dati di sola presenza, hanno comunque portato a prestazioni di stima ottimali per tutti gli scenari considerati (De'ath, 2007). Le mappe di idoneità ottenute contribuiscono quindi a una più approfondita comprensione della reale distribuzione del cinghiale nel territorio. Inoltre, le differenze stagionali osservate sembrano essere parzialmente supportate anche dall'andamento dei casi confermati di PSA nei suini selvatici (Bollettino epidemiologico nazionale italiano, https://storymaps.arcgis.com/stories/7f16f51731654a4ea7ec54d6bc1f90d4), che finora è stato crescente da ottobre a maggio e decrescente da maggio a settembre. È necessario verificare se questo andamento dei casi sia spiegato dall'effettiva maggiore idoneità nelle stagioni intermedie (primavera e autunno), piuttosto che da altri fattori che tengono conto anche del ricambio della popolazione e dei tempi di latenza tra l'infezione e la morte (Schulz et al., 2019).

Il modello di idoneità è ricalcato dalla mappa di connettività, evidenziando le potenziali

rotte preferenziali di diffusione della PSA nel Nord Italia (Figura 3A). Questo approccio restituisce una stima continua dei principali corridoi di dispersione che tiene conto della complessità degli spostamenti degli animali, mostrando la connessione tra le zone più idonee. La presenza di corridoi ad alta percorrenza che attraversano tutto il Nord Italia, in connessione con aree attualmente infette, rappresenta una preoccupante minaccia di diffusione della PSA alla popolazione suina selvatica e domestica. Un rapido miglioramento delle strategie di controllo, sorveglianza e biosicurezza è quindi necessario.

La mappa di connettività ha dimostrato una forte capacità di identificare con precisione i luoghi in cui si sono verificati i focolai di PSA (Figure 3B e 3C). I focolai erano più frequenti nelle aree con una maggiore connettività e il tasso di veri positivi delle mappe binarie del rischio era superiore a quello ottenuto utilizzando solo le classi di copertura del suolo. Le mappe binarie qui fornite sono solo un esempio dei possibili risultati che si possono ottenere. L'approccio implementato rende possibile modificare i cut-off, variando quindi sensibilità e specificità del metodo, e permettendo quindi di calibrare le aree da attenzionare, in funzione anche ì del momento epidemiologico e delle risorse disponibili.

Nonostante i limiti legati principalmente alla natura dei dati di input, sia la mappa di idoneità che la mappa di connettività sviluppate in questo studio potrebbero servire come strumenti di supporto da integrare nelle attuali strategie di gestione delle epidemie di PSA. In breve, quando viene confermato un focolaio di PSA in un cinghiale sul territorio, vengono definite una zona infetta (successivamente definita zona di restrizione II) e una zona di sorveglianza circostante (zona di restrizione I), seguendo i confini amministrativi. In queste aree viene effettuata una ricerca attiva delle carcasse di cinghiale (Guberti et al., 2022.).
Attualmente non esistono regole definite su dove cercare le carcasse per aumentare i tassi di rilevamento. Inoltre, le persone disponibili per la ricerca attiva delle carcasse sono spesso insufficienti, per cui la ricerca si concentra nelle aree in pendenza, dove si stimano alte densità di cinghiali, e nelle aree declivi (Morelle et al., 2019). Tuttavia, spesso non è disponibile una stima aggiornata e accurata della densità dei cinghiali.
Insieme alla ricerca attiva delle carcasse, vengono rinforzate/costruite delle barriere fisiche (naturali o artificiali) per contenere la progressione del fronte epidemico. Tuttavia, ciò richiede tempi burocratici spesso incompatibili con la rapidità del fenomeno (Pavone et al., 2023). In questo contesto, è evidente come le risorse umane, economiche, e la disponibilità di dati sulla densità e movimentazione dei cinghiali siano punti critici per un efficace controllo della diffusione della PSA. Sia la mappa di idoneità che la mappa di connettività potrebbero fornire un valido supporto per utilizzare in modo efficiente le risorse, massimizzare l'individuazione precoce del fronte epidemico e controllare la popolazione di cinghiali e la diffusione della malattia. Il punteggio di idoneità potrebbe infatti fornire un'indicazione indiretta della probabile densità dei cinghiali, quando i dati non sono disponibili. L'attività venatoria dovrebbe concentrarsi sulle aree più idonee, per ridurre preventivamente la popolazione di cinghiali nelle aree non ancora infette.
Dall'altro lato, la mappa della connettività consiglierebbe su quali zone/percorsi dare priorità per la ricerca delle carcasse e la costruzione di barriere. L'interruzione primaria dei corridoi con maggiore probabilità di passaggio (valore di connettività più alto) attraverso la costruzione e il rafforzamento di barriere artificiali (ad esempio, recinti, autostrade) o naturali (ad esempio, fiumi) aiuterebbero ad arginare la diffusione della malattia sul territorio.

CONCLUSIONI

Le mappe degli habitat idonei e dei principali corridoi di diffusione del cinghiale rese

disponibili in questo studio rappresentano un significativo passo avanti nella comprensione e nel controllo della PSA nel Nord Italia. La replicazione dell'approccio qui adottato in altre regioni italiane, già infette o confinanti con aree infette, rappresenta necessariamente una prospettiva futura da perseguire per agire in prevenzione, soprattutto considerando la densità della popolazione di cinghiali e il relativo mercato alimentare/turistico di alcune regioni.

BIBLIOGRAFIA

1. Alexander, N. S., Massei, G., & Wint, W. (2016). The European Distribution of Sus Scrofa. Model Outputs from the Project Described within the Poster – Where are All the Boars? An Attempt to Gain a Continental Perspective. *Open Health Data*, *4*(1). https://doi.org/10.5334/OHD.24
2. Anantharaman, R., Hall, K., Shah, V. B., & Edelman, A. (2020). Circuitscape in Julia: High Performance Connectivity Modelling to Support Conservation Decisions. *JuliaCon Proceedings*, *1*(1), 58. https://doi.org/10.21105/JCON.00058/STATUS.SVG)
3. Boria, R. A., Olson, L. E., Goodman, S. M., & Anderson, R. P. (2014). Spatial filtering to reduce sampling bias can improve the performance of ecological niche models. *Ecological Modelling*, *275*, 73–77. https://doi.org/10.1016/J.ECOLMODEL.2013.12.012
4. Bosch, J., Iglesias, I., Muñoz, M. J., & de la Torre, A. (2017). A Cartographic Tool for Managing African Swine Fever in Eurasia: Mapping Wild Boar Distribution Based on the Quality of Available Habitats. *Transboundary and Emerging Diseases*, *64*(6), 1720–1733. https://doi.org/10.1111/TBED.12559
5. Boshoff, C. I., Bastos, A. D. S., Gerber, L. J., & Vosloo, W. (2007). Genetic characterisation of African swine fever viruses from outbreaks in southern Africa (1973-1999). *Veterinary Microbiology*, *121*(1–2), 45–55. https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2006.11.007
6. Brown, V. R., Miller, R. S., McKee, S. C., Ernst, K. H., Didero, N. M., Maison, R. M., Grady, M. J., & Shwiff, S. A. (2021). Risks of introduction and economic consequences associated with African swine fever, classical swine fever and foot-and-mouth disease: A review of the literature. *Transboundary and Emerging Diseases*, *68*(4), 1910–1965. https://doi.org/10.1111/TBED.13919
7. Brun, P., Thuiller, W., Chauvier, Y., Pellissier, L., Wüest, R. O., Wang, Z., & Zimmermann, N. E. (2020). Model complexity affects species distribution projections under climate change. *Journal of Biogeography*, *47*(1), 130–142. https://doi.org/10.1111/JBI.13734
8. Calosi, M., Gabbrielli, C., Lazzeri, L., Fattorini, N., Cesaretti, G., Burrini, L., Petrillo, O., & Ferretti, F. (2024). Seasonal and Ecological Determinants of Wild Boar Rooting on Priority Protected Grasslands. *Environmental Management*. https://doi.org/10.1007/S00267-024-01952-Y
9. ENETwild consortium, Croft, S., Smith, G., Acevedo, P., & Vicente, J. (2018). Wild boar in focus: Review of existing models on spatial distribution and density of wild boar and proposal for next steps. *EFSA Supporting Publications*, *15*(10). https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2018.en-1490
10. De'ath, G. (2007). Boosted trees for ecological modeling and prediction. *Ecology*, *88*(1), 243–251. https://doi.org/10.1890/0012-9658(2007)88[243:BTFEMA]2.0.CO;2
11. Dubos, N., Préau, C., Lenormand, M., Papuga, G., Monsarrat, S., Denelle, P., Louarn, M. Le, Heremans, S., May, R., Roche, P., & Luque, S. (2022). Assessing the effect of sample bias correction in species distribution models. *Ecological Indicators*, *145*. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.109487
12. Elith, J., & Leathwick, J. R. (2009). Species distribution models: Ecological explanation and prediction across space and time. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *40*(Volume 40, 2009), 677–697. https://doi.org/10.1146/ANNUREV.ECOLSYS.110308.120159/1

13. Guberti, Khomenko, Masiulis, & Kerba. (n.d.). African swine fever in wild boar - Ecology and biosecurity Second edition. *FAO Animal Production and Health Manual No. 28. Rome, FAO, World Organisation for Animal Health and European Commission.* Retrieved June 24, 2024, from https://doi.org/10.4060/cc0785
14. Iscaro, C., Dondo, A., Ruocco, L., Masoero, L., Giammarioli, M., Zoppi, S., Guberti, V., & Feliziani, F. (2022). January 2022: Index case of new African Swine Fever incursion in mainland Italy. *Transboundary and Emerging Diseases*, *69*(4), 1707. https://doi.org/10.1111/TBED.14584
15. Jurado, C., Fernández-Carrión, E., Mur, L., Rolesu, S., Laddomada, A., & Sánchez-Vizcaíno, J. M. (2018). Why is African swine fever still present in Sardinia? *Transboundary and Emerging Diseases*, *65*(2), 557–566. https://doi.org/10.1111/TBED.12740
16. Morelle, K., Jezek, M., Licoppe, A., & Podgorski, T. (2019). Deathbed choice by ASF-infected wild boar can help find carcasses. *Transboundary and Emerging Diseases*, *66*(5), 1821–1826. https://doi.org/10.1111/TBED.13267
17. Pavone, S., Iscaro, C., Dettori, A., & Feliziani, F. (2023). African Swine Fever: The State of the Art in Italy. *Animals 2023, Vol. 13, Page 2998*, *13*(19), 2998. https://doi.org/10.3390/ANI13192998
18. Pepin, K. M., Golnar, A. J., Abdo, Z., & Podgórski, T. (2020). Ecological drivers of African swine fever virus persistence in wild boar populations: Insight for control. *Ecology and Evolution*, *10*(6), 2846–2859. https://doi.org/10.1002/ECE3.6100
19. Pittiglio, C., Khomenko, S., & Beltran-Alcrudo, D. (2018). Wild boar mapping using population-density statistics: From polygons to high resolution raster maps. *PLoS ONE*, *13*(5). https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0193295
20. Préau, C., Dubos, N., Lenormand, M., Denelle, P., Le Louarn, M., Alleaume, S., & Luque, S. (2022). Dispersal-based species pools as sources of connectivity area mismatches. *Landscape Ecology*, *37*(3), 729–743. https://doi.org/10.1007/s10980-021-01371-y
21. ENETWILD-consortium, Pascual-Rico, R., Acevedo, P., Apollonio, M., Blanco-Aguiar, J., Body, G., del Rio. L, Ferroglio. E, Gomez, A., Keuling, O., Plis, K., Podgórski, T., Preite, L., Ruiz- Rodriguez, C., Scandura, M., Sebastian, M., Soriguer, R., Smith, G., Vada, R., … Carpio, A. (2022). Wild boar ecology: a review of wild boar ecological and demographic parameters by bioregion all over Europe. *EFSA Supporting Publications*, *19*(3). https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2022.EN-7211
22. Ripley, B. D. (1977). Modelling Spatial Patterns. *Journal of the Royal Statistical Society Series B: Statistical Methodology*, *39*(2), 172–192. https://doi.org/10.1111/J.2517-6161.1977.TB01615.X
23. Robin, X., Turck, N., Hainard, A., Tiberti, N., Lisacek, F., Sanchez, J. C., & Müller, M. (2011). pROC: An open-source package for R and S+ to analyze and compare ROC curves. *BMC Bioinformatics*, *12*(1), 1–8. https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-77/TABLES/3
24. Sauter-Louis, C., Conraths, F. J., Probst, C., Blohm, U., Schulz, K., Sehl, J., Fischer, M., Forth, J. H., Zani, L., Depner, K., Mettenleiter, T. C., Beer, M., & Blome, S. (2021). African Swine Fever in Wild Boar in Europe—A Review. *Viruses 2021, Vol. 13, Page 1717*, *13*(9), 1717. https://doi.org/10.3390/V13091717
25. Schulz, K., Conraths, F. J., Blome, S., Staubach, C., & Sauter-Louis, C. (2019). African Swine Fever: Fast and Furious or Slow and Steady? *Viruses*, *11*(9). https://doi.org/10.3390/V11090866

PESTE SUINA AFRICANA E PRODOTTI DI SALUMERIA ITALIANI: VALUTAZIONE DELLA LORO SICUREZZA PER L'EXPORT - RISULTATI PRELIMINARI

ASFREE M.E.A.T. (MEET EXPORT AGREEMENT ON TRADING): SAFEGUARDING THE ITALIAN CURED PIG PRODUCTS FROM AFRICAN SWINE FEVER

BEATO M.S.[1]; COSTANTINO G.[1]; FULMINI A.[1]; PAVONE S. [1]; MONTAGNIN C. [1]; FALCITELLI G.[2]; MERIALDI G.[3]; CERESER A.[4]; DANZETTA M.L.[5]; BRUTTI A.[6]; ORTENZI R.[7]; VALIANI A.[7]; CASCIARI C.[1]; CATARCI P.F.[8]; FELIZIANI F.[1]

[1]*Centro di Referenza Nazionale Pesti Suine (CEREP), Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche (IZSUM), Via G. Salvemini 1, 06126, Perugia, Italia*
[2] *Gruppo Alimentare Valtiberino, Pistrino (PG)*
[3] *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna (IZSLER)*
[4] *Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe)*
[5] *Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e Molise (IZSAM)*
[6] *Stazione Sperimentale per l'Industria delle Conserve Alimentari - Fondazione di Ricerca (SSICA)*
[7] *Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche (IZSUM)*
[8] *Ministero della Salute*

Parole chiave: Peste suina africana, salumi, pascalizzazione, resistenza virale
Key words: ASFV, cured pig product, virus survival

Riassunto
L'esportazione italiana di carni lavorate rappresenta circa il 56% di tutte le esportazioni italiane di carne suina. La commercializzazione di prodotti a base di carne di origine suina sicuri ("*safe commodities*") contribuisce alla gestione del rischio di diffusione delle malattie. La resistenza del virus della Peste Suina Africana (PSA) e le condizioni alle quali rimane vitale nel tempo nei prodotti stagionati di origine suina risalgono alla fine degli anni '80. Questi studi hanno valutato la presenza del virus della PSA appartenente al genotipo I, non più circolante fuori dal continente Africano, utilizzando metodi di rilevamento meno sensibili rispetto a quelli oggi disponibili. Il progetto ASFree M.e.a.t. (Meet Export Agreement on Trading) ha l'obiettivo di aggiornare le conoscenze esistenti sulla persistenza del virus della PSA nei prodotti di origine suina stagionati e di indagare sull'efficacia del trattamento ad alta pressione (HPP) nell'inattivazione del virus, per fornire garanzie sanitarie ai Paesi importatori riguardo l'assenza di virus della PSA nei prodotti stagionati italiani. Il consorzio ASFree M.e.a.t. è costituito da 4 Istituti Zooprofilattici Sperimentali (IZS) e produrrà prodotti a base di carne suina stagionati, inclusi i prosciutti, sia mediante contaminazione artificiale che tramite infezioni sperimentali in vivo. Sei tipi di salami italiani sono stati selezionati come rappresentativi dei prodotti esportati. Due lotti di salame Milano di 26 salami ciascuno sono stati contaminati sperimentalmente secondo le linee guida FSIS, con l'1% in peso/volume di virus della PSA e stagionati secondo il processo produttivo previsto per il prodotto commercializzabile. Ad 1/3, 2/3 e alla fine della stagionatura, sono stati prelevati 3 salami per la rilevazione del virus della PSA tramite qPCR e isolamento del virus infettante tramite isolamento virale. Alla fine della stagionatura, i salami positivi al virus sono stati trattati con HPP e sono stati generati e confrontati i dati qPCR pre/post trattamento HPP. I dati preliminari hanno mostrato che i salami Milano prelevati a fine stagionatura erano positivi,

con valori Ct compresi tra 30 e 35. Un terzo lotto di salame Milano è in fase di stagionatura per valutare l'efficacia dell'HPP. Questo progetto è fondamentale per fornire informazioni aggiornate sul rischio di diffusione e introduzione del virus della PSA nei prodotti a base di carne suina stagionati a seguito del trattamento HPP.

Abstract
The Italian export of processed meats represents about 56% of all Italian pork meat exports. The marketing of safe pork products ("safe commodities") contributes to managing the risk of disease spread. The ASFV tenacity and the conditions under which it remains viable over time in aged pork products dated back to the late 80s. These studies assessed the presence of genotype I that is no longer circulating outside the African continent, using detection methods less sensitive than those available today. The ASFree M.e.a.t.(meet export agreement on trading) project aims at updating the existing knowledge on ASFV persistence in aged pork products and investigate the efficacy of High Pressure Processing (HPP) in ASFV inactivation to provide health guarantees to importing countries regarding the absence of ASFV in Italian aged products. ASFree M.e.a.t. consortium is constituted by 4 Italian institutes and will produce cured pig products including ham either by artificial contamination and by in vivo experimental infections of pigs. Six types of Italian Salami were selected as representatives of the exported products. Two batches of 26 Milano salami each were experimentally contaminated according to the FSIS guidelines, with 1% w/v with a BA71/V and cured for two months. At 1/3, 2/3 and the end of aging, 3 salami were sampled for ASFV detection by qPCR and virus isolation. At the end of curing, positive ASFV salami have been treated with HPP and pre/post-HPP treatment qPCR data have been generated and compared. Preliminary data showed that Milano salami sampled at 2/3 of aging were ASFV positive, with Ct values ranging between 30 and 35. A third batch of Milano salami is aging for HPP efficacy. This project is pivotal to provide updated information on the risk of ASF spread and introduction of cured pig products following HPP treatment.

INTRODUZIONE
Ad oggi la produzione di prodotti Di Origine Protetta (DOP) e di Indicazione Geografica Tipica (IGP) del settore suinicolo italiano rappresenta il 22% della produzione DOP e IGP dei 27 Paesi dell'Unione Europea (UE 27). In particolare, la produzione DOP del settore suinicolo rappresenta oltre il 50% della produzione UE 27. L'export italiano di carni lavorate rappresenta circa il 56% di tutte le esportazioni italiane di carni suine, di cui la maggior parte è distribuita sui mercati tedesco e francese. Il comparto suinicolo italiano ha subito dal 2019 ad oggi delle tensioni sul mercato internazionale legate alla diffusione della Peste Suina Africana (PSA) in Europa e Nord America, dalla pandemia da SARS-CoV-2, causa del calo della domanda interna, e dall'introduzione e diffusione della PSA nel nostro Paese dal 2022. In particolare, nel 2019, il diffondersi della PSA in Cina ha comportato un aumento dell'export italiano con oltre 17mila tonnellate esportate nel 2020. Tale situazione ha subito un ribaltamento dal 2022 con un calo circa del 7,3% delle esportazioni italiane di carni suine per l'attuale situazione epidemiologica della PSA in Italia. La PSA è trasmessa per contatto diretto e indiretto con suini domestici e selvatici infetti, ingestione di prodotti di origine a base di carne suina infetti e/o contaminati, anche sotto forma di scarti alimentari, contatto con superfici contaminate e fomiti che costituiscono carrier meccanici. La capacità della malattia di persistere e diffondere è pertanto funzione della resistenza del virus a fattori di natura fisica (temperatura), chimica (pH) e alla tipologia di matrice, biologica e non, in cui esso è veicolato. La commercializzazione di prodotti a base di carne suina sicuri (*safe commodities*) contribuisce alla gestione del rischio di diffusione della malattia. Le caratteristiche di tenacità

e le condizioni alle quali la vitalità del virus è mantenuta in funzione del tempo nei prodotti a base di carne di origine suina stagionati risalgono a fine anni '80-'90. Seppur condotti con approcci sperimentali validi, questi studi hanno verificato la resistenza di virus di un genotipo non più circolante fuori dall'Africa (genotipo I) e con metodi di rilevazione meno sensibili rispetto a quelli oggi disponibili, che perciò necessitano di essere attualizzati per offrire garanzie sanitarie ai Paesi importatori circa l'assenza del virus della PSA nei prodotti stagionati italiani. Il trattamento alle Alte Pressioni (High Pressure Processing - HPP), anche definito pascalizzazione, è una tecnica di conservazione non termica che si applica ad alimenti solidi e liquidi già confezionati, quindi non passibili di successiva contaminazione. Il processo HPP è una tecnologia innovativa basata sull'applicazione di pressioni idrostatiche nettamente superiori a quella atmosferica (fino a 6.000 bar) raggiungendo l'inattivazione dei microrganismi presenti. Tale trattamento rende pertanto i prodotti alimentari stabili, conservabili e sicuri. Ad oggi non vi sono dati disponibili circa l'efficacia di un trattamento HPP su prodotti di salumeria italiani nel devitalizzare il virus della PSA, e quindi renderli *safe commodities* da commercializzare. Nel presente studio, ancora in corso, è stato applicato un modello sperimentale *in vitro* basato sulla contaminazione artificiale (spike di laboratorio) di due prodotti di salumeria a breve stagionatura, ritenuti idonei dall'analisi preliminare dei dati di export. Sono state sviluppate tecniche di coltivazione su linee cellulari continue in grado di valutare quantitativamente il titolo di contaminazione dei prodotti contaminati, nonché tecniche biomolecolari per l'identificazione del genoma virale in essi contenuto, entrambe applicate a fine stagionatura e post trattamento con HPP. Questo al fine di valutare l'efficacia devitalizzante del metodo nei confronti del virus della PSA. L'obiettivo a lungo termine è il mantenimento dei flussi commerciali dei prodotti di salumeria italiani nonostante la presenza del virus della PSA sul territorio nazionale, condividendo le metodiche utilizzate, basate sull'analisi e quantificazione del rischio, ed armonizzando i sistemi di raccolta e stoccaggio dati uniformemente agli interessi dei paesi coinvolti.

MATERIALI E METODI

Lo studio è stato condotto da un consorzio di 4 Istituti Zooprofilattici Sperimentali (II. ZZ.SS.): il Centro di Referenza Nazionale per la PSA (CEREP, presso IZS Umbria e Marche (IZSUM), IZS Lombardia e Emilia Romagna (IZSLER), IZS delle Venezie (IZSVe), IZS Abruzzo e Molise (IZSAM). I prodotti a breve stagionatura da includere nello studio sono stati identificati con il supporto di stakeholder privati, i quali hanno indicato di selezionare 6 tipologie di salame maggiormente esportate e più rappresentative dei processi e della varietà dei prodotti italiani, ovvero: Salame Felino tipo 1 e 2 (con e senza starter), Salame Milano, Spianata, Cacciatore e Salame Napoli. Al CEREP sono stati assegnati il Salame Milano e la Spianata, mentre i restanti sono stati ripartiti tra IZSLER ed IZSVe.

Il protocollo sperimentale per la contaminazione artificiale dei salami con virus della PSA ha preso come metodo di riferimento quello descritto nello Standard internazionale ISO 20976-2 ("Microbiology of the food chain – Requirements and guidelines for conducting challenge tests of food and feed products – Part 2: Challenge tests to study inactivation potential and kinetic parameters") e dalle linee guida della Food Safety and Inspection Service (FSIS). Le fasi previste nel protocollo sono tre e prevedono: la preparazione dell'inoculo, la produzione delle unità (numero) di salame, la contaminazione e le prese di saggio, in tempi definiti, per la ricerca e la titolazione del virus della PSA. La prima fase dello studio è stata orientata allo sviluppo di un protocollo per l'isolamento e coltura del virus della PSA al fine di ottenere titoli virali idonei per procedere alla contaminazione artificiale dei prodotti stagionati. La titolazione del ceppo virale BA71/V, adattato alle cellule in linea continua VERO, è stata eseguita nel Laboratorio BSL-3 del CEREP. Questa è stata accompagnata

da prove di citotossicità su colture di cellule VERO (ATCC-CL81) con impasto di carne di suino condito per la produzione di Salame Milano ed omogenato in terreno Minimum Essential Medium (MEM) addizionato al 2% con streptomicina 10 mg/ml e penicillina G 10.000 U/ml (Euroclone S.p.a., Milano, Italia). Ulteriori prove di tossicità e di sensibilità rispetto ai macrofagi primari di suino sono state eseguite su cellule *Immortalized Porcine Kidney Macrophage* (IPKM). In aggiunta, è stato sviluppato e validato un metodo di biologia molecolare qualitativo di Real-Time PCR per la rilevazione del virus nei prodotti stagionati, attraverso la determinazione della *limit of detection* (LOD) e prove di interferenza eseguite mediante spike di laboratorio su impasto di Salame Milano.
Nella seconda fase dello studio è stata realizzata la produzione e contaminazione del Salame Milano e della Spianata, presso il Laboratorio BSL-3 del CEREP, in base ai parametri forniti dal Salumificio Valtiberino sito presso Pistrino (Perugia, Italia). La scheda tecnica del Salame Milano è mostrata in Tabella 1.

Tabella 1. Scheda tecnica del Salame Milano.

Denominazione prodotto/ ***Product name***	**Salame Milano/*Milano salami***
Ingredienti	Carne di suino, sale, destrosio, aromi naturali, spezie. Antiossidante: ascorbato di sodio (E301). Conservanti: nitrato di potassio (E252), nitrito di sodio (E250).
Budello	Collagene
Peso indicativo salume fresco	Grana 3, diametro 100 mm, peso circa 4 kg
Peso indicativo a fine stagionatura	Perdita di peso pari a circa il 20-25% (a seconda del peso fresco)
Fasi di processo (in sintesi)	Refrigerazione: dei tagli magri (0°C) e del grasso (-2°C) fino al momento dell'utilizzo. Macinatura: componente magra (spalle) e grassa macinate con una piastra con fori da 3 mm. Asciugatura: 5-7 giorni. Stagionatura: generalmente mantenuta a T= 13-14°C e UR= 75-80% dai 45 ai 60 giorni.
Caratteristiche del prodotto a fine stagionatura	Aw: 0,93, diametro: 100mm
Condizioni di conservazione	Salume a vista ed intero sottovuoto o in ATP: conservare in luogo fresco. Trancio sottovuoto o in ATP: conservare a T° ≤ 10°C.
Termine minimo di conservazione	Salume a vista: 12 mesi dalla data di produzione. Salume intero sottovuoto o in ATP: 6 mesi dalla data di confezionamento. Trancio sottovuoto o in ATP: 4 mesi dalla data di confezionamento.
Caratteristiche nutrizionali	100 g: Valore energetico (calorie) 414 kcal, Grassi 35 g, Proteine 24 g, Sale 4 g Carboidrati 0.9 g

Il calcolo degli ml di virus BA71/V necessari per la contaminazione dei sei lotti di ciascuna tipologia di salame è stato fatto per un volume dell'1% (p/v) di virus su chilo di impasto.
Nella terza fase dello studio, la stagionatura è stata seguita attraverso il monitoraggio calendarizzato del calo peso e di parametri tecnologici di processo (determinazione dell'attività dell'acqua e del pH) e microbiologici (conta dei batteri lattici mesofili). Sono stati stabiliti sette tempi di prelievo: produzione e contaminazione del salame (T0), 54 ore di asciugatura (T3), fine asciugatura (T4), settimo giorno di stagionatura (T5), 22esimo giorno di stagionatura (T6), 37esimo giorno di stagionatura (T7) e 55esimo giorno di stagionatura (T8). Al T3 e al T5 sono stati misurati i soli parametri chimico-fisici e microbiologici su un solo campione per lotto, mentre per i restanti tempi sono state eseguite anche 10 prese di saggio da 10 gr, da tre salami per lotto, per successive prove biomolecolari. Un salame per ciascuna tipologia di campione è stato utilizzato per la valutazione del calo peso ad ogni tempo di campionamento. La numerazione di batteri lattici mesofili è stata eseguita mediante conteggio delle colonie cresciute in terreno solido selettivo secondo il metodo normato ISO 15214:1998. Per ogni salame è stato prelevato un campione rappresentativo di 10 gr che è stato omogeneizzato in 90 ml di acqua peptonata mediante l'uso dello strumento Stomacher (Flapping Homogenizer ST HG-400, Steroglass). Sono state poi eseguite delle diluizioni decimali successive in soluzione in sale peptone: per il primo campionamento sono state seminate le diluizioni da 10^{-4} a 10^{-6}, invece, per i campionamenti successivi sono state seminate le diluizioni da 10^{-7} a 10^{-9}. La semina di 1 ml di ciascun campione è avvenuta secondo il protocollo per la semina per inclusione utilizzando terreno Man-Rogosa-Sharpe (MRS), incubato a 30 °C ± 1 °C per 72 h ± 3 h. Tutti i campioni sono stati testati in triplicato. La determinazione di Aw è stata effettuata in triplicato mediante l'utilizzo della tecnica del punto di rugiada a specchio raffreddato secondo il metodo normato ISO 18787: 2017, utilizzando lo strumento AQUA LAB 4TE Dew Point Water Activity Meter. Per ogni campione è stato misurato in triplicato il valore del pH mediante l'utilizzo del pHmetro WTW pH 330i/SET. Parallelamente alla stagionatura sperimentale di salami contaminati, sono state eseguite prove in bianco allo scopo di verificare la riproducibilità del processo di stagionatura in ambiente controllato e l'influenza dell'aggiunta del terreno MEM antibiotato sui parametri tecnologici di processo e sul comportamento della flora lattica. A tal fine sono stati destinati 11 salami TAL QUALE (TQ) prodotti e stagionati presso il Salumificio Valtiberino, 26 salami CEREP prodotti in azienda e stagionati nelle celle del CEREP, e 11 salami MEM prodotti in azienda, addizionati di terreno MEM antibiotato e stagionati nelle celle dell'azienda. In questo caso, le analisi chimico-fisiche e microbiologiche sono state eseguite su due tempi aggiuntivi: fine sgocciolamento (12/20 ore o T1) e dopo 24/26 ore di asciugatura (fine fase 1 o T2).
Terminata la stagionatura dei salami contaminati sperimentalmente, sono state eseguite prove molecolari delle unità di saggio prelevate al T0 e al T8, prima della spedizione di 5 campioni per lotto di salame per il trattamento HPP. I campioni sono stati omogenati nella loro interezza con Osterizer (Sunbeam, Wolverhampton, UK), da ciascuno è stato prelevato 1 gr di omogenato di impasto/salame e mescolato in 10 ml di terreno MEM antibiotato, poi centrifugato a 2000 rpm x 10 min. Il surnatante è stato usato per l'estrazione automatizzata del DNA usando il kit MagMAX CORE Nucleic Acid Purification Kit (Waltham, Massachusetts, Stati Uniti) per estrattore KingFisher Apex Purification System (Waltham, Massachusetts, Stati Uniti). Il DNA estratto è stato amplificato tramite Real-Time PCR impiegando il kit commerciale di amplificazione ID Gene™ African Swine Fever Duplex IDASF-100 (Innovative Diagnostics, Francia) e due protocolli di amplificazione raccomandati dal manuale WOAH e descritti da King *et al.* (2003) e da Fernández-Pinero *et al.* (2013) già validati dal CEREP su matrici d'elezione quali milza, linfonodi e midollo osseo e matrici di origine alimentare. Tutte le sessioni di Real-Time PCR sono state eseguite su CFX Opus

96 Real-Time PCR System #12011319 (Bio-Rad, California, Stati Uniti). I campioni trattati con metodo HPP sono stati sottoposti ad ulteriori prove di biologia molecolare preliminari tramite Real-Time PCR secondo il metodo King *et al.* (2003) prima di essere isolati in coltura cellulare.

RISULTATI

Al 28.02.2025, sono stati prodotti tre lotti per ciascuna tipologia di salame, di cui solo i primi due lotti di Salame Milano hanno già concluso il periodo di stagionatura. I due lotti erano costituiti da 26 salami ciascuno, di approssimativamente 10 cm di diametro, 30 cm di lunghezza e 2,5 Kg di peso. Attualmente, la stagionatura del terzo lotto di Salame Milano e dei tre lotti di Spianata è in corso. Sono state eseguite le analisi di identificazione del virus PSA mediante Real-Time PCR dei 3 impasti e dei 10 campioni di Salame Milano, lotti 1 e 2, prelevati al T0 e T7. I risultati sono mostrati in Tabella 2 e 3. I valori dei cicli di amplificazione (Ct) dell'impasto e del salame a 37 giorni di stagionatura sono sovrapponibili sia per lotto 1 che per lotto 2 e i valori sono da 31 a circa 33 ct. Nella Tabella 4 sono mostrati i valori dei Ct di due unità di saggio di Salame Milano prelevati a campione dai due lotti al T8, prima del trattamento HPP, e la media dei cinque campioni per ciascun lotto trattati post-HPP, di cui uno non eseguibile.

Tabella 2. Risultati della Real-Time PCR per PSA con tre metodi distinti su impasto di salame (T0) e salami al giorno 37 di stagionatura (T7) del Lotto 1 di Salame Milano.
Table 2. *Real-Time PCR results for ASF virus using three distinct methods on salami mixture (T0) and salami on day 37 of maturation (T7) from Batch 1 of Milano salami.*

Lotto/ ***Batch***	**Tempo di stagionatura/** ***Maturation time***	**Replica/** ***Replicate***	**KING**	**UPL**	**ID GENE**
1	**0**	**1**	34	35,15	31,41
		2	32,21	32,7	30,21
		3	34,2	35,94	32,32
1	**7**	**1**	35,39	33,17	31,72
		2	34,38	33,7	31,16
		3	33,61	33,9	31,21
		4	34,89	33,66	31,43
		5	33,71	34,19	30,56
		6	33,88	34,32	31,15
		7	33,28	35,4	31,08
		8	34,13	35,37	31,23
		9	33,14	33,03	30,08
		10	34,26	34,06	31,3

Tabella 3. Risultati della Real-Time PCR per PSA con tre metodi distinti su impasto di salame (T0) e salami al giorno 37 di stagionatura (T7) del Lotto 2 di Salame Milano.
Table 3. *Real-Time PCR results for ASF virus using three distinct methods on salami mixture (T0) and salami on day 37 of maturation (T7) from Batch 2 of Milano salami.*

Lotto/ ***Batch***	**Tempo di stagionatura/** ***Maturation time***	**Replica/** ***Replicate***	**KING**	**UPL**	**ID GENE**
2	**0**	**1**	32,41	33,35	30,13
		2	33,47	34,44	31,14
		3	33,26	34,62	30,25
2	**7**	**1**	33,92	34,42	31,19
		2	33,15	33,64	30,58
		3	33,04	33,04	30,09
		4	33,83	34	30,64
		5	34,46	34,62	31,37
		6	33,79	34,56	31,03
		7	32,47	33,4	30,14
		8	33,67	33,03	31,83
		9	34,39	33,43	30,88
		10	35,08	35,08	31,38

Tabella 4. Risultati della Real-Time PCR per PSA secondo protocollo King et al. (2003) prima e dopo trattamento HPP su campioni di Salame Milano selezionati, lotti 1 e 2.
Table 4. *Real-Time PCR results for ASF virus using King et al. (2003) protocol, before and after HPP treatment on chosen Milano salami samples, batches 1 and 2.*

Lotto/*Batch*	**Pre-HPP/*Before HPP***	**Post-HPP (media)/** ***After-HPP (mean)***
1	35,07	33,12
2	33,34	31,19

Nelle Figure 1-5 sono riportati i valori di Aw libera, batteri lattici, pH, umidità e calo peso dei salami prodotti senza contaminazione con virus PSA ("prove in bianco"), stagionati presso il Salumificio Valtiberino e presso il CEREP, con e senza MEM. I dati indicano che il processo di produzione e stagionatura presso il CEREP è sovrapponibile a quello del Salumificio di riferimento.

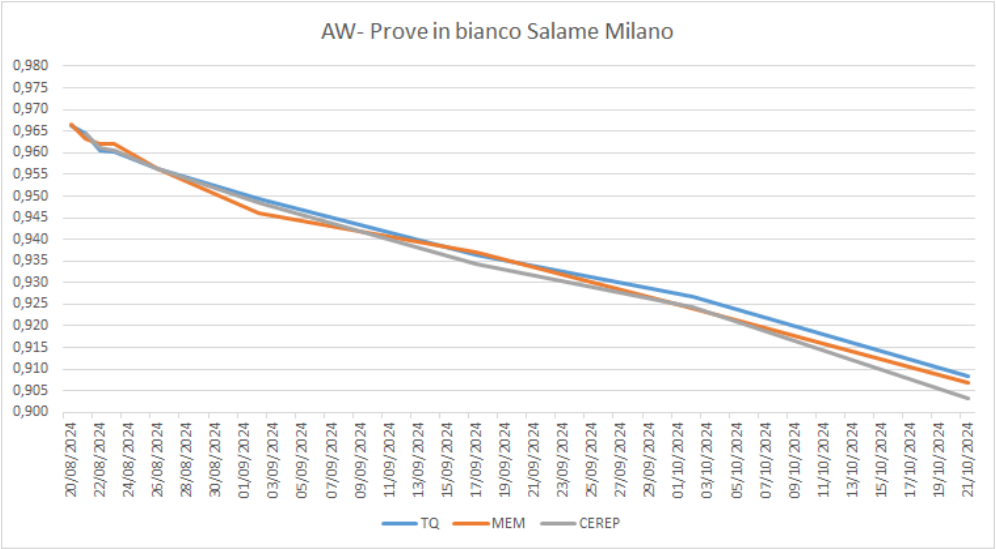


Figura 1. Valori di acqua libera (Aw) dei Salami Milano prodotti senza contaminazione con virus PSA ("prova in bianco").
Figure 1. *Water activity (Aw) values of Milano salami produced without contamination with ASF virus ("control test").*

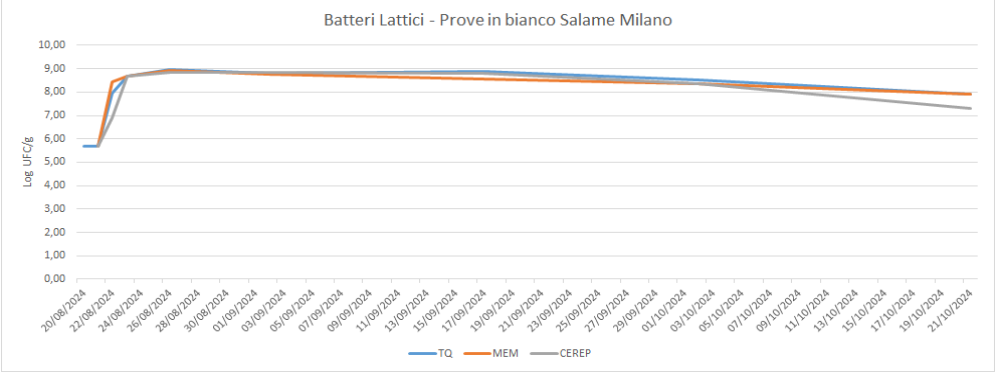


Figura 2. Conta dei batteri lattici dei Salami Milano prodotti senza contaminazione con virus PSA ("prova in bianco").
Figure 2. *Lactic acid bacteria count of Milano salami produced without contamination with ASF virus ("control test").*

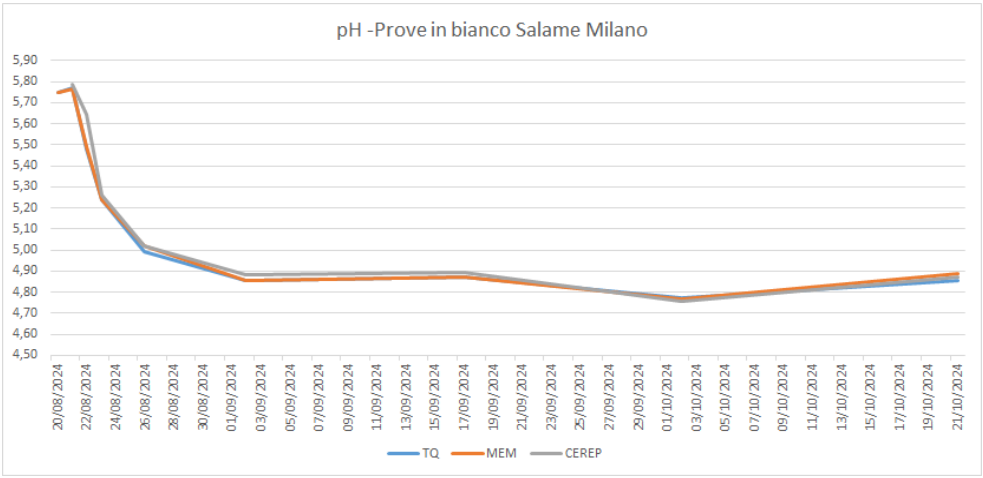


Figura 3. Valori di pH dei Salami Milano prodotti senza contaminazione con virus PSA ("prova in bianco").
Figure 3. *pH values of Milano salami produced without contamination with ASF virus ("control test").*

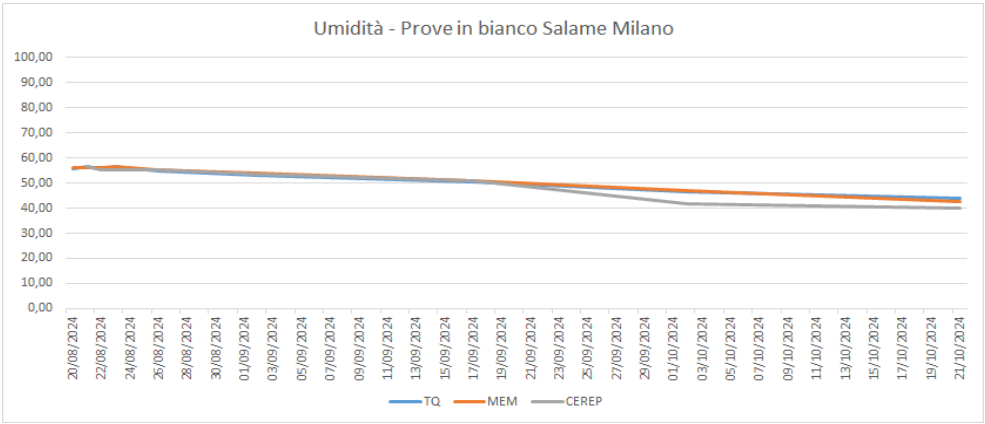


Figura 4. Valori di umidità dei Salami Milano prodotti senza contaminazione con virus PSA ("prova in bianco").
Figure 4. *Moisture values of Milano salami produced without contamination with ASF virus ("control test").*

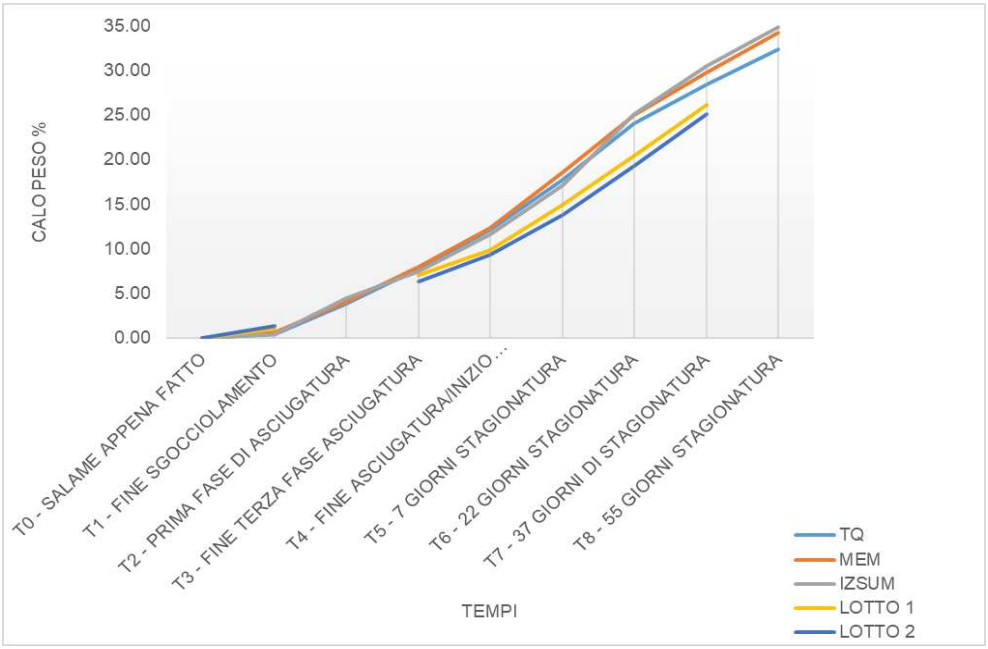


Figura 5. *Calo peso dei Salami Milano prodotti con e senza contaminazione con virus PSA ("prova in bianco").*
Figure 5. *Weight loss of Milano salami produced with and without contamination with ASF virus ("control test").*

Relativamente ai Salami Milano contaminati in via sperimentale con virus BA71/V, i parametri microbiologici di Aw, pH e calo peso si sono dimostrati sovrapponibili ai dati generati durante la prova in bianco con uno scostamento per il calo peso che ha determinato un abbassamento dei valori di umidità del processo al fine di migliorare i dati del calo peso.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Durante questa prima parte dello studio fondamentale è stata l'attività di messa a punto del protocollo di contaminazione artificiale dei salami. Infatti, la definizione del protocollo di contaminazione artificiale, con la numerosità dei lotti e le tipologie di salami da testare ha consentito la determinazione del numero di litri di virus PSA necessari per eseguire la prova sperimentale. Le prove eseguite di produzione sperimentale del salame Milano presso il CEREP, hanno dimostrato la riproducibilità del processo di produzione del prodotto, garantendo pertanto l'esecuzione di una prova riproducibile rispetto alla realtà commerciale. Il CEREP ha contaminato due lotti di Salame Milano con il virus della PSA con conclusione del ciclo di stagionatura a fine Gennaio 2025. E' in corso la stagionatura del terzo lotto Milano e dei tre lotti Spianata, con la conclusione delle attività prevista per fine Aprile 2025. Le analisi preliminari di identificazione del virus della PSA mediante Real-Time PCR eseguite su impasto e Salami Milano nell'ultimo periodo di stagionatura, seguite da quelle precedenti e seguenti il trattamento con metodo HPP, indicano la necessità di eseguire prove di isolamento virale per la verifica della presenza del virus vitale.

BIBLIOGRAFIA

1. McKercher P.D., Hess W.R., Hamdy F. (1978) “Residual viruses in pork products”. Appl Environ Microbiol. 35, 142-145.
2. McKercher P.D., Blackwell J.H., Murphy R., Callis J.J., Panina G.F., Civardi A., Bugnetti M., De Simone F., Scatozza F. (1985) “Survival of swine vesicular disease virus in ‘Prosciutto di Parma’ (Parma Ham)”. Can Inst Food Sci Technol J. 18, 163-167.
3. McKercher P.D., Yedloutschnig R.J., Callis J.J., Murphy R., Panina G.F., Civardi A., Bugnetti M., Foni E., Laddomada A., Scarano C., Scatozza F. (1987) “Survival of Viruses in “Prosciutto di Parma” (Parma Ham)”. Can Inst Food Sci Technol J. 204, 267-272.
4. Mebus C., Arias M., Pineda J.M., Tapiador J., House C, Sanchez-Vizcaino J.M. (1997) “Survival of several porcine viruses in different Spanish dry-cured meat products”. Food Chem 59(4), 555-559.
5. Petrini S., Feliziani F., Casciari C., Giammarioli M., Torresi C., De Mia G.M. (2019) “Survival of African swine fever virus (ASFV) in various traditional Italian dry-cured meat products”. Prev Vet Med. 162, 126-130.

PULIZIA E DISINFEZIONE DEI MEZZI DI TRASPORTO DI SUINI VIVI: ALLA RICERCA DEL PROTOCOLLO OTTIMALE

HYGIENE PROCEDURES OF TRUCKS TRANSPORTING LIVE PIGS: SEARCHING FOR THE BEST PROTOCOL

PERRUCCI A.[1,2], CARDANA V.[1], MAGRI A.[3], ZOPPI S.[3], COSSETTINI C.[4], ALESSIA RUSINÀ A.[1], ALESSANDRO BELLATO A.[1], LAURA TOMASSONE L.[1], SCOLLO A.[1]

[1] Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Torino;
[2] Struttura s.r.l., Manerbio, 25025, Brescia, Italy;
[3] Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte Liguria e Valle d'Aosta S.S. Patologia Animale, Torino 10154, Italia;
[4] Chemifarma S.p.A., Forlì 47122, Forlì-Cesena, Italy

Parole chiave: pulizia e disinfezione, camion, practical recommendations
Key words: cleaning and disinfection, trucks, raccomandazioni pratiche

Riassunto
L'attenzione verso l'igiene dei camion che trasportano animali vivi è cresciuta, diventando un requisito legale per il controllo della Peste Suina Africana, poiché il trasporto rappresenta una via di trasmissione di patogeni tra gli allevamenti. L'obiettivo dello studio è stato sviluppare la migliore procedura di pulizia e disinfezione (P&D) per i camion che trasportano suini, colmando la lacuna di un protocollo efficace e standardizzato.
Le istruzioni per la P&D delle strutture di allevamento (Decreto Italiano del 28 giugno 2022) sono state ulteriormente dettagliate sulla base della letteratura. Il protocollo è stato sviluppato dividendo il camion in tre parti, ciascuna dedicata a una porzione specifica del camion: cassone dedicato agli animali, parte esterna e interna, armadietto per gli stivali e abitacolo del conducente. Per valutare l'efficacia di P&D, sono stati analizzati microbiologicamente 15 camion (virus della Sindrome Riproduttiva e Respiratoria Suina, *Circovirus* suino di tipo 2, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus* spp., conta totale dei mesofili e *Staphylococcus* spp, e indagine relativa a batteri antibiotico resistenti) tramite tre campioni per camion (cabina di guida; vano porta-stivali; area di carico), raccolti prima (superfici sporche) e dopo (superfici pulite) l'applicazione del protocollo. Sono stati anche eseguiti test rapidi di bioluminescenza ATP (tre campioni per camion) e un'ispezione visiva.
Tutti i camion sporchi sono risultati positivi a MRS, con l'area di carico e il vano porta-stivali che hanno mostrato la prevalenza più alta (100% e 60%, rispettivamente). Dopo la P&D, la prevalenza di MRS è stata azzerata (0%; $p=0.0079$); i valori di ATP sono risultati significativamente più elevati ($p<0.001$) nell'area di carico (638,5±487,4 RLUs) e nel vano porta-stivali (610,2±1120,4 RLUs).
Applicando le procedure di P&D proposte, è stato possibile eliminare efficacemente gli MRS dai camion per suini, a differenza delle procedure comunemente adottate in allevamento. Il livello di ATP potrebbe rappresentare un utile biomarker, in quanto consente di verificare facilmente ed in tempo reale l'efficacia della P&D.

Abstract
The focus on hygiene in trucks transporting live animals has increased, becoming a legal requirement for the control of African Swine Fever, as transport represents a pathway for

pathogen transmission between farms. The objective of this study was to develop the best cleaning and disinfection (C&D) procedure for trucks transporting live pigs, addressing the lack of an effective and standardized hygiene protocol.
The instructions for C&D of barns (Italian Decree of June 28, 2022) were further detailed based on the literature. The protocol was developed by dividing the truck into three sections, each dedicated to a specific part: the compartment for animals, the external and internal parts, the boot locker, and the driver's cabin. To assess the effectiveness of the C&D procedure, microbiological analyses were conducted on 15 trucks, testing for the Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus, Porcine Circovirus Type 2, Enterobacteriaceae, Enterococcus spp., total mesophilic count, and Staphylococcus spp., as well as investigating antibiotic-resistant bacteria. Three samples were collected per truck (driver's cabin, boot locker, and loading area) before (dirty surfaces) and after (clean surfaces) applying the protocol. Rapid ATP bioluminescence tests (three samples per truck) and visual inspection were also performed.
All dirty trucks tested positive for MRS, with the loading area and boot locker showing the highest prevalence (100% and 60%, respectively). After C&D, the prevalence of MRS was reduced to zero (0%; $p=0.0079$); ATP values were significantly higher ($p<0.001$) in the loading area (638.5±487.4 RLUs) and boot locker (610.2±1120.4 RLUs).
By applying the proposed C&D procedures, MRS was effectively eliminated from pig transport trucks, unlike the commonly used farm procedures. ATP levels could serve as a useful biomarker, as they allow for easy and real-time verification of C&D effectiveness.

INTRODUZIONE

I mezzi di trasporto adibiti alla movimentazione di animali vivi costituiscono una minaccia per la salute degli animali, dal momento che è stato dimostrato da diversi studi che sono un'importante via di trasmissione di agenti infettivi fra aziende agricole tra di loro sconnesse, fra impianti di macellazione e fra i diversi Paesi [1] [2]. La pulizia e disinfezione (P&D) dei veicoli costituisce uno strumento indispensabile per ridurre la minaccia delle malattie animali, diminuendo la presenza di microrganismi patogeni e prevenendone la diffusione [3]. Perciò, la P&D dei veicoli per il trasporto dei suini rappresenta una misura di biosicurezza essenziale nell'ottica della prevenzione, specialmente nell'attuale contesto epidemiologico della Peste suina africana (PSA), contro cui ad oggi la biosicurezza rimane l'unico valido strumento di controllo nel suino domestico. In zootecnia, l'importanza delle procedure igieniche in allevamento e nei mezzi di trasporto è stata enfatizzata anche come requisito legale nell'ultima legislazione europea sul controllo della PSA [4], divenendo quindi un aspetto legalmente imprescindibile. Tuttavia, nonostante la crescente attenzione verso le procedure igieniche dei mezzi di trasporto da parte delle istituzioni, rimane una grave mancanza di formazione e di consapevolezza tra i trasportatori stessi [5] [6].
Poiché la comunità scientifica non ha ancora definito delle linee guida universalmente accettate né delle raccomandazioni pratiche condivise per la P&D dei camion [6], questo studio si propone di fornire indicazioni pratiche per i lavoratori nella loro attività quotidiana, attraverso lo sviluppo della migliore procedura di P&D per i camion destinati al trasporto di suini vivi, colmando così la lacuna di un protocollo igienico efficace e standardizzato.

MATERIALI E METODI

Le istruzioni per la P&D degli ambienti di allevamento presenti nel Decreto italiano del 22 giugno 2022 [7] hanno costituito il punto di partenza per lo sviluppo del miglior protocollo di igiene per i camion destinati al trasporto di suini vivi, successivamente dettagliato

sulla base della letteratura scientifica disponibile. Per valutare l'efficacia del protocollo di P&D sviluppato, sono stati testati 15 camion destinati al trasporto dei lattoni mediante analisi microbiologiche per rilevare la presenza di virus della Sindrome Riproduttiva e Respiratoria Suina (PRRSv), *Circovirus* suino di tipo 2 (PCV2), *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus* spp., conta totale dei mesofili e *Staphylococcus* spp. Inoltre, è stata condotta un'indagine relativa a batteri portatori di resistenze antibiotiche, quali: stafilococchi meticillino resistenti (MRS), enterococchi resistenti alla vancomicina, *E. coli* produttori di beta-lattamasi a spettro esteso e AmpC (ESBL/AmpC-*coli*), *Enterobacteriaceae* resistenti ai carbapenemi, alla colistina, a Ceftazidime-avibactam e produttrici di carbapenemasi.
Le analisi sono state condotte su tre campioni ambientali per ciascun camion (abitacolo del conducente, armadietto per gli stivali e area di carico interna del camion), prelevati sia prima dell'applicazione del protocollo (superfici sporche) che dopo (superfici pulite), per un totale di 6 campioni per camion. Le superfici sono state campionate attraverso l'utilizzo di tamponi, eseguendo movimenti in orizzontale e in verticale in modo da coprire un'area di 10 cm^2 per ogni sito. Inoltre, dopo l'applicazione del protocollo di igiene, sono stati eseguiti un test di bioluminescenza per la quantificazione del contenuto di adenosina trifosfato (ATP) su tre campioni ambientali per camion, come sopra menzionato, oltre a campionamenti dell'aria mediante DUO SAS Super 360 (VWR Collection) all'interno del cassone del camion e infine una valutazione visiva tramite una checklist con punteggio da 0 a 3 assegnato a ciascuna di un totale di 30 aree del mezzo per determinare il grado di pulizia. Tutti i campioni (tamponi e campioni d'aria) sono stati raccolti secondo le procedure ISO 18593.2018 e conservati a 4°C fino all'analisi presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, S.C. Diagnostica Generale, S.S. Patologia Animale.

1. Sviluppo del protocollo di P&D

Per un'esecuzione corretta delle procedure di pulizia e disinfezione (P&D), era necessaria una stazione di P&D dove gli operatori potevano trovare tutte le attrezzature essenziali per l'esecuzione del protocollo, ovvero un tubo d'acqua a bassa pressione e ad alto flusso, un'idropulitrice ad alta pressione, una lancia per la schiuma e un arco di disinfezione e una lancia per la disinfezione manuale. Le procedure di igiene dei camion sono state articolate in due fasi, la pulizia e la disinfezione; per praticità il protocollo è stato sviluppato dividendo il camion in tre parti, ciascuna dedicata a una porzione specifica del camion: il cassone dedicato agli animali, parte esterna e interna, l'armadietto per gli stivali e l'abitacolo del conducente. Prima di iniziare il protocollo, tutti gli oggetti non fissi ma in dotazione al mezzo (assi per la movimentazione degli animali, palette, stivali) dovevano essere rimossi dal veicolo per essere puliti e disinfettati alla fine del lavaggio e della disinfezione del mezzo [3]. Di seguito sono illustrate le procedure nel dettaglio.

1.1. Pulizia e disinfezione del trattore, del cassone e/o del rimorchio

1.1.1. La pulizia: pulizia con acqua, lavaggio con schiumogeno e risciacquo

Il protocollo di pulizia di seguito illustrato è stato applicato al trattore, al cassone dedicato agli animali ed al rimorchio (se presente), suddividendo la procedura in quattro sezioni, ciascuna dedicata a una parte specifica del camion, il cui ordine di presentazione corrisponde all'ordine di pulizia seguito dal personale addetto: le superfici esterne del cassone e/o del rimorchio, il compartimento di carico interno, la rampa di carico degli animali e la superficie esterna del trattore. Gli step per la pulizia, eseguiti su ciascuna delle 4 parti, prevedevano (1) pulizia con acqua, (2) pulizia con schiumogeno e (3) risciacquo.

1) Il primo passaggio di pulizia con acqua è stato eseguito tramite un tubo dell'acqua a bassa pressione (p = 12 atm) e alto flusso necessario per rimuovere la materia organica grossolana e preparare così le superfici alla fase successiva.
2) Il secondo passaggio prevedeva il lavaggio con applicazione di un detergente sotto forma di schiumogeno (idrossido di sodio al 5%). Il detergente sotto forma di schiumogeno è stato scelto perché permette di riconoscere visivamente le superfici già trattate da quelle non trattate. Lo schiumogeno era applicato dal basso verso l'alto con una lancia schiumogena (p = 180 atm), ed era cura dell'operatore premurarsi di non lasciare parti delle superfici prive di schiuma. È importante che l'operatore lasci agire il detergente per il tempo necessario indicato sul bugiardino del prodotto in uso.
3) L'ultimo passaggio era il risciacquo accurato tramite un'idropulitrice ad alta pressione (p = 180 atm) per eliminare eventuali residui di materia organica e schiumogeno che potrebbero interferire con il disinfettante compromettendone l'efficacia.

È fondamentale che durante questi passaggi l'operatore si soffermi su tutte le superfici, compreso il soffitto, le ventole di areazione, i beverini e tutte le superfici irregolari e con anfratti più difficili da pulire (Van Immerseel et al., 2018).

I 3 passaggi sopra presentati per la pulizia del mezzo sono stati applicati a ciascuna delle 4 parti del camion, che veniva posizionato nella stazione di P&D con lo sportellone posteriore chiuso. Di seguito è illustrato il protocollo su ciascuna delle 4 parti del camion:
Cassone e/o rimorchio. In primis l'operatore si dedicava alle superfici esterne del cassone del camion, che era stato sottoposto a due passaggi (il primo con le griglie laterali chiuse e il secondo aperte) di pulizia eseguiti come di seguito descritti: lavaggio con acqua a bassa pressione, applicazione delle schiumogeno, risciacquo, seconda applicazione dello schiumogeno e secondo risciacquo. Durante la procedura, particolare attenzione era rivolta a ruote e parafanghi, che erano sottoposti a un secondo passaggio dopo la pulizia del vano degli animali.
Interno del vano animali. Dopodiché, aperto lo sportellone posteriore, l'addetto si dedicava all'interno del vano di carico, dove la pulizia iniziava dal piano più alto, in questo modo il processo di pulizia dall'alto verso il basso permette di minimizzare evitare la contaminazione incrociata in caso di un camion multipiano. I passaggi eseguiti erano la pulizia con acqua a bassa pressione, applicazione dello schiumogeno e infine il risciacquo.
Portellone posteriore. Il terzo step riguardava la pulizia della rampa di carico con pulizia prima della parte interna e poi quella esterna, dedicandosi anche alla parte sottostante dove è presente la targa del mezzo.
Trattore. La quarta fase era dedicata al trattore del camion, dove, in seguito alla prima fase di pulizia con acqua, l'applicazione dello schiumogeno avveniva per mezzo di uno spazzolone imbevuto in una soluzione di detergente, e successivamente risciacquato con idropulitrice ad alta pressione.

1.1.2. Disinfezione

Infine, la disinfezione viene eseguita utilizzando un arco di disinfezione attraverso cui viene nebulizzato un disinfettante non corrosivo glutaraldeide al 2% (Glutarsan, Chemifarma S.p.A., Forlí, Italia), sotto il quale il camion, senza prima essere asciugato, veniva fatto passare avanti e indietro per un tempo totale di cinque minuti con le finestre laterali aperte. Dopo la disinfezione, il camion osservava un tempo di fermo per lasciar asciugare l'interno del cassone, al fine di evitare che i residui del disinfettante possano essere accidentalmente assorbiti dagli animali [3].

1.2. Pulizia e disinfezione dell'armadietto degli stivali

Considerato che gli stivali costituiscono un mezzo ad alto rischio per la trasmissione degli agenti infettivi, è stato valutato utile che l'armadietto dedicato agli stivali fosse pulito e disinfettato separatamente rispetto al resto, in modo tale che il personale potesse dedicarvi maggiore attenzione e cura. I passaggi per la pulizia sono gli stessi applicati al resto del camion come sopra descritto, e la disinfezione poteva essere effettuata o in modalità manuale oppure tramite degli impianti automatici di erogazione del disinfettante che erano direttamente installati nel vano stivali.

1.3. Pulizia e disinfezione dell'abitacolo dell'autista

L'ultimo passaggio consisteva nella pulizia e disinfezione della cabina del conducente, che veniva eseguita dopo ogni trasporto. Tutto l'abitacolo era pulito dall'operatore con un sistema di aria compressa (con particolare attenzione a volante, cruscotto e cambio), seguito dalla igienizzazione con prodotto spray (alcool etilico e isopropilico al 70%).

2. Analisi microbiologiche

A ciascuno dei 90 tamponi (6 per ciascuno dei 15 camion - 3 sporchi e 3 puliti) e dei 30 campioni di aria (2 per ciascuno dei 15 camion - 1 sporco ed 1 pulito) sono stati addizionati 9 ml di Buffered Peptone Water (BPW) al campione, ottenendo così la diluizione 10^{-1}.
Per quanto riguarda i tamponi prelevati in ambiente sporco, è stato prelevato 1 ml dalla diluizione 10^{-1} e sono state effettuate diluizioni da 10^{-2} a 10^{-5} in BPW. La semina viene effettuata per spatolamento prelevando 100 µl dalle opportune diluizioni. Per la ricerca di *Enterobacteriaceae* sono state seminate le diluizioni 10^{-4} e 10^{-5} su agar MacConkey (MCK, Microbiol) mentre per la ricerca della carica batterica mesofila totale su piastre di Plate Count Agar (PCA, Microbiol). Le piastre sono state incubate rispettivamente a 37°C per 24h ed a 30°C per 48h. Per la ricerca di batteri del genere *Enterococcus* spp, sono state seminate le diluizioni 10^{-3} e 10^{-4} su agar Slanetz-Bartley (SBA, Microbiol) e incubate a 42°C per 48h. Le stesse diluizioni sono state seminate sul terreno Baird Parker Agar Base + RPF (RPF, Microbiol) per la ricerca dei batteri del genere *Staphylococcus* spp. Le piastre sono state incubate a 37°C per 24h.
Per quanto riguarda invece i campioni prelevati in ambiente pulito, è stato prelevato 1 ml dalla diluizione 10^{-1} e sono state effettuate diluizioni da 10^{-2} a 10^{-4}. La semina è stata effettuata per spatolamento prelevando 100 µl dalle opportune diluizioni. Le diluizioni 10^{-3} e 10^{-4} sono state seminate su agar MCK e PCA, mentre le diluizioni 10^{-2} e 10^{-3} su SBA e RPF. Tempi e temperature di incubazione sono stati i medesimi dei campioni su superfici sporche.
Dopodiché, in caso di crescita di colonie è stata eseguita una conta e successivamente una loro identificazione tramite selezione di una colonia per tipo, trapiantandola su Columbia Blood Agar (AS) ed inviandola all'identificazione mediante MALDI-TOF (Bruker GmbH). Successivamente sono state prelevate alcune ansate della coltura batterica pura fresca e stemperate all'interno della provetta per la crioconservazione dei ceppi. Dopo aver lasciato riposare la provetta per dieci minuti, mediante una pipetta Pasteur, è stato rimosso il crioconservante. Le provette sono state conservate a -80°C.

Per l'identificazione di batteri portatori di resistenza antibiotica sono state utilizzate dei terreni cromogeni. Le diluizioni 10^{-1} ottenute da ciascun campione, dopo essere state a -80°C per 24h, sono state seminate direttamente sui terreni cromogeni: Chromatic ESBL+AmpC per la ricerca di ESBL/Amp C-*coli* tra le *Enterobacteriaceae* (Liofilchem), Chromatic VRE per la ricerca di enterococchi resistenti alla vancomicina (Liofilchem), Chromatic CRE per la

rilevazione di *Enterobacteriaceae* resistenti ai carbapenemi (Liofilchem), Chromatic OXA-48 per la ricerca di *Enterobacteriaceae* produttrici di carbapenemasi OXA-48 (Liofilchem); Oxacillin Resistance Screening Agar Base ORSAB, per la rilevazione di *Staphylococcus aureus* resistente alla meticillina (Oxoid); Chromatic Colistin per la rilevazione di *Enterobacteriaceae* resistenti alla colistina (Liofilchem), e Chromatic Super CAZ/AVI per quelli resistenti a Ceftazidime-avibactam (Liofilchem). Per la seconda identificazione delle colonie, tutti i terreni sono stati incubati a 37°C in aerofilia dalle 18h alle 48h, secondo le indicazioni dei produttori di terreni di coltura. Si è effettuata quindi la conta delle colonie e la selezione di n°1 colonia per tipo trapiantandola su AS. Le colonie sono state inviate all'identificazione mediante MALDI-TOF (Bruker GmbH).

3. Diagnostica molecolare
Per estrarre il DNA del PCV2, i tamponi sono stati preparati in minimum essential medium (MEM) integrato con 1 mM di Na-piruvato, 2 mM di L-glutammina, 100 U di penicillina e 100 mg di streptomicina. La sospensione è stata quindi chiarificata (5000 rpm per 15 min a 4°C) e aliquotata senza filtrazione per l'analisi PCR del PCV2. Il DNA è stato estratto da volumi di 250 µl di campione, lisati di cellule renali suine non infette da PCV2, lisati di cellule PK15 persistentemente infette da PCV2 e surnatanti di cellule infettate dal virus, utilizzando il reagente TRIZOL LS (Canadian Life Technologies, Burlington, ONT) secondo il protocollo del produttore. Il protocollo utilizzato per l'analisi successiva è quello descritto da Larochelle et al. (1999) [8]. Per quanto riguarda invece l'acido nucleico della PRRS, questo è stato analizzato mediante RT-PCR per PRRSV utilizzando il kit Virotype PRRSV RT-PCR (Indical Biosciences), seguendo le raccomandazioni del produttore (per dettagli: Hill et al., 2024 [9]).

4. Test Rapido ATP
I campioni sono stati analizzati immediatamente in loco per la determinazione dell'ATP utilizzando il test CleanTrace Surface ATP Test Swab UXL 100 (3M, Neuss, Germania). Dopo un delicato sfregamento dell'area target, il test ATP è stato attivato premendo l'asta del tampone per rimuovere la membrana e avviare la reazione enzimatica all'interno dello strumento. Dopo 10 secondi di agitazione, la bioluminescenza dell'ATP è stata misurata in unità di luce relativa (RLU) mediante un luminometro presente nello strumento stesso (NG III, 3M). I valori risultanti sono stati espressi in log10 RLU/cm² [10].

5. Check list visiva di valutazione
Il questionario comprendeva un totale di 30 voci suddivise in quattro sezioni relative al camion (armadietto degli stivali, parte esterna del camion, parte interna,cabina dell'autista), ciascuna valutata su una scala a 4 punti: da 0 per i punti estremamente sporchi a 3 per quelli perfettamente puliti.

Analisi statistica
L'analisi statistica è stata condotta mediante software XLSTAT 2022.2.1 (Addinson, TX, USA, 2022). Le differenze tra le cariche batteriche riscontrate nel pre- e nel post-lavaggio, le relative resistenze agli antimicrobici, i livelli di ATP ed i risultati delle check list sono state analizzate mediante il test di Kruskal-Wallis per comparazioni multiple, utilizzando il metodo di Dunn e la correzione di Bonferroni.

RISULTATI
Tra le analisi microbiologiche sui camion sporchi, tutti i tamponi eseguiti sono risultati

positivi a MRS. In particolare, considerando l'MRSA, è stata rilevata una prevalenza dell'80%. I punti di campionamento con la più alta prevalenza di MRS sono risultati essere l'area di carico (prevalenza 100%) e l'armadietto per gli stivali (60%). Non sono stati rilevati altri patogeni. Dopo la pulizia e la disinfezione (C&D), la prevalenza di MRS è stata azzerata (0%; $p = 0,0079$). I valori di ATP sono risultati significativamente più elevati ($p < 0,001$) nell'area di carico (638,5 ± 487,4 unità di luce relativa - RLUs) e nell'armadietto per gli stivali (610,2 ± 1120,4 RLUs) rispetto all'abitacolo del conducente (25,9 ± 43,9 RLUs). Oltre all'analisi microbiologica, l'armadietto pulito per gli stivali ha mostrato la tendenza a ottenere il punteggio di pulizia visiva più basso nella checklist dopo la P&D (77,2% del punteggio massimo; $p = 0,086$), seguito dalla carrozzeria esterna dei camion (85,4%), dall'area di carico (87,5%) e dall'abitacolo dell'autista (91,0%).

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il protocollo di P&D descritto in questo studio fornisce raccomandazioni pratiche su un adeguato protocollo di igiene volto a minimizzare il rischio di diffusione di patogeni tramite i camion che trasportano suini, specialmente in un contesto ad alto rischio di focolai di PSA [11]. Per definizione, la pulizia comprende la rimozione fisica di polvere e sporco utilizzando acqua, con o senza detergente e azione meccanica, fino a ottenere una pulizia visibile [12]; se correttamente eseguita consente di raggiungere una riduzione del 90% della contaminazione [3]. Al contrario, il processo di disinfezione ha lo scopo di eliminare quanti più microrganismi possibili per ridurre il rischio di infezione e contaminazione crociata [13]. Pertanto, la pulizia e la disinfezione di routine rappresentano un approccio combinato, e il successo della disinfezione dipende strettamente dall'esecuzione della pulizia, perché residui di materia organica possono interferire col disinfettante compromettendone l'efficacia.

Applicando le procedure di P&D proposte, è stato possibile eliminare in modo promettente i MRS dai camion per il trasporto di suini vivi, a differenza di quanto riportato in letteratura per le procedure comunemente eseguite a livello aziendale [10]. La rilevanza di questo risultato è legata sia alla salute animale che a quella umana, in quanto gli MRS sono considerati organismi indicatori della presenza di batteri resistenti [14]. Nella produzione zootecnica, l'incidenza di MRS dipende, oltre che dall'uso di antibiotici, anche dalla quantità di polvere e feci [15]. La prevalenza di MRS riscontrata nei camion del presente studio (100%) è maggiore rispetto a quanto riportato negli allevamenti suinicoli italiani da Bonvegna et al. (2021) [16] e Scollo et al. (2023) [10], che hanno riportato rispettivamente una prevalenza del 64,6% e del 67.5%. Prevalenza addirittura superiore rispetto a quella riportata in studi precedenti condotti in altri paesi europei, sempre nel comparto allevatoriale, dove è stata osservata una prevalenza variabile dal 36,3% al 6,5% (in Svizzera e Belgio, rispettivamente) [17] [18]. La persistenza di un'alta prevalenza di MRS anche dopo le procedure di pulizia è un problema critico riportato da diversi autori [19], ed il non verificarsi di questa persistenza nei mezzi di trasporto dopo l'applicazione del presente protocollo è incoraggiante. Diverse ipotesi potrebbero spiegare questo fenomeno. Ad esempio, Schmithausen et al. (2015) [20] sono riusciti a decontaminare allevamenti suinicoli da MRS includendo nel loro protocollo una completa depopolazione. Poiché MRS può essere trasmesso tramite l'aria e la polvere ed è emesso nei sistemi di ventilazione diffondendosi nell'aria ambientale [21], non si può escludere che, nei mezzi di trasporto, non avvenga la ri-contaminazione proveniente da stalle vicine abitate durante il periodo di asciugatura successivo al processo igienico. La ri-contaminazione spesso osservata negli allevamenti potrebbe avvenire anche a causa di calzature o indumenti e da contaminazioni crociate causate dal personale [22], evento più difficile nei mezzi grazie alla piazzola attrezzata dove essi sono parcheggiati durante le operazioni, che renderebbe il mantenimento dell'area più facilmente pulito e risciacquato, allontanando con facilità i reflui e lo sporco nei sistemi di scarico. Inoltre, non va dimenticata

la selezione adeguata del disinfettante appropriato, che può rappresentare motivo di successo o meno anche in base alla sua capacità di agire contro il biofilm. L'MRSA, infatti, è un patogeno produttore di biofilm, noto per la sua persistenza e per la capacità di causare infezioni croniche anche negli ospedali, grazie alla sua resistenza ai trattamenti terapeutici dovuta alla formazione di biofilm su dispositivi medici impiantabili, inclusi valvole cardiache artificiali, cateteri e protesi articolari [23], nonché nelle strutture utilizzate in zootecnia. Oltre alle diverse ipotesi sulla sua persistenza, la presenza di MRSA rappresenta sicuramente un rischio sia per le persone che lavorano negli allevamenti suinicoli sia per i cittadini che vivono in aree ad alta densità di allevamenti di suini, allo stesso modo degli operatori che si occupano dei trasporti.
Il livello di ATP potrebbe essere un biomarcatore utile, in quanto può verificare in tempo reale e in modo oggettivo, a differenza della valutazione visiva, l'efficacia delle procedure sul camion, aumentando il coinvolgimento del personale responsabile delle procedure di P&D [10; 12; 23].
Oltre ai rilievi microbiologici, i camion erano stati valutati anche tramite check list visive dopo le procedure di pulizia, facendo emergere che esistono alcuni punti particolarmente insidiosi, magari perché marginali e più spesso dimenticati. Ne è un esempio il vano porta stivali, usato da tutti ma purtroppo con il triste primato di rimanere sempre l'area più sporca. L'applicazione routinaria delle checklist visive potrebbe aiutare in tal senso, in quanto le ispezioni visive permettono una valutazione immediata della pulizia senza la necessità di costosi test di laboratorio [25], e possono essere eseguite sul posto da trasportatori, veterinari o ispettori con una formazione minima [26]. Forniscono inoltre dei criteri di valutazione standardizzati, garantendo coerenza nella valutazione della pulizia tra diversi tipi di veicoli e località [27].
Diversi autori annoverano, tra i riscontri positivi dell'applicazione di checklist visive durante il trasporto, anche l'aiuto che esse forniscono nel monitorare la conformità alle normative su benessere animale e sicurezza alimentare [28] [29], nonché il supporto ad individuare contaminazioni evidenti, riducendo il rischio di trasmissione di malattie tra allevamenti [30]. In tal senso,l'ispezione visiva è fondamentale per prevenire focolai di malattie del bestiame come la PSA e l'influenza aviaria [31]. In ultima analisi, autisti e aziende di trasporto sembrano essere più propensi a rispettare i protocolli igienici se i controlli visivi vengono eseguiti e registrati regolarmente [25]. Naturalmente esistono anche aspetti negativi, come per esempio la soggettività e gli errori umani, che possono variare in base all'esperienza, all'illuminazione e alle condizioni ambientali [29]. Inoltre, una checklist visiva non può individuare batteri, virus o residui chimici, che potrebbero essere presenti anche se il camion appare pulito [30], e gli orari serrati nel trasporto del bestiame possono portare a ispezioni affrettate o a manipolazioni delle checklist per rispettare le scadenze [25]. Aree come il sottofondo, i sistemi di ventilazione e i compartimenti nascosti possono essere difficili da ispezionare visivamente [27].
Ecco perché le checklist visive dovrebbero essere integrate con test microbiologici, programmi di formazione e supervisione normativa. Strumenti digitali e real-time (come anche il lettore dell'ATP) potrebbero migliorarne l'affidabilità, riducendo il pericolo che le checklist diventino un semplice esercizio burocratico, con operatori che eseguono le ispezioni superficialmente senza garantire una reale pulizia [32]. Ecco perché la sinergia della formazione (di autisti ed eventuali ispettori) dovrebbe essere regolare per mantenere obiettività e precisione nelle valutazioni.
Questo protocollo di P&D dovrebbe essere applicato in modo routinario dopo ogni trasporto di suini vivi appena possibile dopo lo scarico degli animali con lo scopo di minimizzare il rischio di diffusione tramite i camion che trasportano suini. Per migliorare ulteriormente il protocollo qui proposto, è consigliato assicurarsi che le superfici sia completamente asciutte prima dell'applicazione del disinfettante, poiché l'accumulo di acqua in eccesso all'interno del mezzo può diluire il disinfettante compromettendone l'efficacia [33].

BIBLIOGRAFIA

1. Neumann E.J., Hall W.F., Dahl J., Hamilton D., Kurian A. (2021) "Is transportation a risk factor for African swine fever transmission in Australia: a review". *Aust Vet J.* 99, 459-468.
2. Beltran-Alcrudo D., Falco J.R., Raizman E. et al. (2019) "Transboundary spread of pig diseases: The role of international trade and travel". *BMC Vet Res.* 15, 64.
3. NAHEMS. NAHEMS Guidelines: Cleaning and Disinfection Animal Disease Preparedness and Response. Available online: https://www.aphis.usda.gov/animal_health/emergency_management/downloads/nahems_guidelines/cleaning_disfection.pdf
4. European Union. (2023) "Commission Implementing Regulation (EU) 2023/594 of 16 March 2023". *Official Journal of the European Union.* L80, 1-XX.
5. Allen R., Boden L.A., Hutchinson I., Stirling J., Porphyre T. (2024) "Cleaning practices of transport vehicles by commercial and non-commercial livestock markets users in Scotland". *Res Vet Sci.* 180, 105413.
6. Weber L., Meemken D. (2018) "Hygienic measures during animal transport to abattoirs - a status quo analysis of the current cleaning and disinfection of animal transporters in Germany". *Porc Health Manag.* 4, 1.
7. Italy. (2022) "Decree of June 28, 2022: Biosecurity requirements for establishments housing pigs." *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana.* No. 173, July 26, 2022.
8. Larochelle R., Antaya M., Morin M., Magar R. (1999) "Typing of porcine circovirus in clinical specimens by multiplex PCR". *J Virol Methods.* 80, 69-75.
9. Hill H., Reddick D., Caspe G., Ramage C., Frew D., Rocchi M.S., McNeilly T.N. (2024) "Enhancing the understanding of coinfection outcomes: Impact of natural atypical porcine pestivirus infection on porcine reproductive and respiratory syndrome in pigs". *Virus Res.* 348, 199443.
10. Scollo A., Perrucci A., Stella M.C., Ferrari P., Robino P., Nebbia P. (2023) "Biosecurity and hygiene procedures in pig farms: Effects of a tailor-made approach as monitored by environmental samples". *Animals.* 13, 1262.
11. De Lorenzi G., Borella L., Alborali G.L., Prodanov-Radulović J., Štukelj M., Bellini S. (2020) "African swine fever: A review of cleaning and disinfection procedures in commercial pig holdings". *Res Vet Sci.* 132, 262-267.
12. Assadian O., Harbarth S., Vos M., Knobloch J.K., Asensio A., Widmer A.F. (2021) "Practical recommendations for routine cleaning and disinfection procedures in healthcare institutions: a narrative review". *J Hosp Infect.* 113, 104-114.
13. Centers for Disease Control and Prevention, 2008). Introduction, methods, definition of terms guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities. Atlanta, GA: CDC; 2008. Available at: https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/disinfection/introduction.htm
14. Schmithausen R.M., Schulze-Geisthoevel S.V., Heinemann C., Bierbaum G., Exner M., Petersen B., Steinhoff-Wagner J. (2018) "Reservoirs and transmission pathways of resistant indicator bacteria in the biotope pig stable and along the food chain: a review from a one health perspective". *Sustainability.* 10, 3967.
15. Venglovský J., Gregová G., Kmeť V., Sasáková N. (2011) "Detection of airborne microorganisms and antibiotic resistance from animal housing facilities". *ISAH Proc.* 15, 3-7.
16. Bonvegna M., Grego E., Sona B., Stella M.C., Nebbia P., Mannelli A., Tomassone L. (2021) "Occurrence of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci (MRCoNS) and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from pigs and farm environment in northwestern Italy". *Antibiotics.* 10, 676.
17. Huber H., Ziegler D., Pflüger V., Vogel G., Zweifel C., Stephan R. (2011) "Prevalence and

characteristics of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from livestock, chicken carcasses, bulk tank milk, minced meat, and contact persons". *BMC Vet Res.* 7, 1-7.
18. Nemeghaire S., Vanderhaeghen W., Argudín M.A., Haesebrouck F., Butaye P. (2014) "Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus sciuri* isolates from industrially raised pigs, cattle and broiler chickens". *J Antimicrob Chemother.* 69, 2928-2934.
19. Dorado-García A., Graveland H., Bos M.E., Verstappen K.M., Van Cleef B.A., Kluytmans J.A., Heederik D.J. (2015) "Effects of reducing antimicrobial use and applying a cleaning and disinfection program in veal calf farming: experiences from an intervention study to control livestock-associated MRSA". *PLoS One.* 10, e0135826.
20. Schmithausen R.M., Kellner S.R., Schulze-Geisthoevel S.V., Hack S., Engelhart S., Bodenstein I., Bekeredjian-Ding I. (2015) "Eradication of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and of *Enterobacteriaceae* expressing extended-spectrum beta-lactamases on a model pig farm". *Appl Environ Microbiol.* 81, 7633-7643.
21. Friese A., Schulz J., Hoehle L., Fetsch A., Tenhagen B.A., Hartung J., Roesler U. (2012) "Occurrence of MRSA in air and housing environment of pig barns". *Vet Microbiol.* 158, 129-135.
22. Kobusch I., Müller H., Mellmann A., Köck R., Boelhauve M. (2020) "Single blinded study on the feasibility of decontaminating LA-MRSA in pig compartments under routine conditions". *Antibiotics.* 9, 141.
23. Moormeier D.E., Bayles K.W. (2017) "*Staphylococcus aureus* biofilm: a complex developmental organism". *Mol Microbiol.* 104, 365-376.
24. Heinemann C., Meyer I., Bögel F.T., Schmid S.M., Hayer J.J., Steinhoff-Wagner J. (2020) "Individual training for farmers based on results from protein and ATP rapid tests and microbiological conventional cultural methods improves hygiene in pig fattening pens". *J Anim Sci.* 98, skz389.
25. Weber R., Meemken D. (2018) "Cost-effective sanitation strategies for livestock transport: A comparative analysis of visual and laboratory assessments". *Vet Hyg J.* 9, 121-140.
26. Grandin, T. (2010). *Livestock Handling and Transport* (4th ed.). CABI Publishing.
27. Fleming R., Nyokabi S., Mogre R., Nabwiire D. (2020) "Standardized evaluation criteria for cleanliness assessments in livestock transport". *J Anim Welf Transp.* 35, 217-229.
28. Mogre R., Fleming R., Weber R. (2024) "Ensuring animal welfare in transport through hygiene protocols and visual inspections". *Int J Vet Sci.* 18, 45-61.
29. Nyokabi S., Losada-Espinosa N., Nabwiire D. (2023) "Compliance monitoring in livestock transport: The role of visual inspections and regulatory frameworks". *Livest Policy Rev.* 29, 56-78.
30. Grandin T. (1997) "Biosecurity measures in livestock transportation: The role of visual inspections". *J Agric Saf Health.* 3, 89-102.
31. Losada-Espinosa N., Weber R., Meemken D., Nyokabi S. (2021) "Preventing disease outbreaks in animal transport: The importance of visual and microbial assessments". *Vet Epidemiol J.* 12, 301-315.
32. Nabwiire D. (2023) "Sanitary conditions in livestock transport: Challenges and best practices". *J Anim Health Saf.* 14, 98-112.
33. Australian Pork Limited (2022) "Example SOP - Pig transport vehicle cleaning and disinfection". *Aust Pork.* Available at: https://australianpork.com.au/sites/default/files/2022-10/APL%20Example%20SOP%20-%20Pig%20transport%20vehicle%20cleaning%20and%20disinfection.pdf.

POSTER

ENERGIZZARE PER IL SUCCESSO: IL RUOLO VITALE DELL'ACIDO BUTIRRICO COME FONTE DI ENERGIA PER L'ENTEROCITA NELLE PRESTAZIONI POST-SVEZZAMENTO

ENERGIZE FOR SUCCESS: THE VITAL ROLE OF BUTYRIC ACID AS ENERGY SOURCE FOR THE ENTEROCYTE ON POST WEANING PERFORMANCE

N'GUETTA E.[1], CASIRO S.[1], MATTUZZI S. [1], VAN HAMME V. [1] , COSTA M.C. [2]

[1]Kemin Europa n.v., Toekomstlaan 42, 2200 Herentals, Belgium
[2] Kemin South America, Rua Krebsfer, 736, Valinhos, SP, Brasil

Parole chiave: Prestazioni allo svezzamento, butirrato incapsulato a lento rilascio, salute intestinale
Key Words: Weaning performance, slow release encapsulated butyrate, intestinal health

Riassunto
Il periodo post-svezzamento nei suini provoca una temporanea diminuzione dell'assunzione di mangime, causando malnutrizione e arresto della crescita. Questo influisce sulla struttura e sulla funzione dell'intestino tenue, spesso portando a disturbi intestinali come la diarrea, caratterizzati da atrofia dei villi e ridotta attività enzimatica (Lallès et al. 2004). Un rapido recupero intestinale è cruciale per le prestazioni dei suini, poiché la mucosa funge sia da barriera difensiva che da superficie assorbente per i nutrienti. La disponibilità di energia, soprattutto dall'acido butirrico, alimenta la crescita e la migrazione delle cellule intestinali, promuovendo lo sviluppo epiteliale per migliorare la salute e le prestazioni.
L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare l'effetto del calcio butirrato incapsulato, con una tecnologia che ne permette un lento rilascio, sulle prestazioni dei suinetti svezzati.
240 suinetti svezzati (di entrambi i sessi), con un'età media di 23 giorni e un peso allo svezzamento di 6,7 kg, sono stati divisi in due gruppi: Controllo (C) e Butirrato Incapsulato a Lento Rilascio (EBSR) - ButiPEARL™ Kemin Industries. Ogni gruppo comprendeva 120 suinetti, con 10 repliche (box) di 12 suinetti ciascuno, in base al sesso e al peso. Lo studio ha avuto 2 fasi: Pre-starter 1 (24-31 giorni), Pre-starter 2 (32-38 giorni). Le diete sono state adattate per soddisfare le esigenze fisiologiche dei suini in ogni fase. I trattamenti sono stati integrati con butirrato incapsulato a 1000g/t e 750g/t per il pre-starter 1 e il pre-starter 2, rispettivamente. Alla fine di tutte le fasi, sono stati registrati il peso e il mangime consumato. È stato eseguito il test di Tukey per confrontare tutte le medie utilizzando il software SAS.
Durante la fase pre-starter 1, il gruppo EBSR ha mostrato miglioramenti significativi nel guadagno medio giornaliero (ADG g/d), 235g/d vs 192g/d ($p<0.01$), nell'assunzione media giornaliera di mangime (ADFI g/d), 297g/d vs 278g/d ($p<0.05$) e nel tasso di conversione alimentare (FCR) 1.28 vs 1.47 ($p<0.01$) per i gruppi EBSR e C. Inoltre, alla fine della fase, i suinetti nel gruppo EBSR erano significativamente più pesanti (8.42 kg vs 8.12 kg $p<0.01$ per i gruppi EBSR e C rispettivamente). Durante la seconda fase – pre-starter 2, il gruppo EBSR ha mostrato un miglioramento significativo nell'ADG (EBSR=301g/d vs C=276g/d $p<0.05$) e nell'ADFI (EBSR=400g/d vs C=383g/d $p<0.05$).
Lo svezzamento presenta significativi fattori di stress per i suinetti, portando a una ridotta assunzione di mangime, compromettendo la salute intestinale, inducendo infiammazione e compromettendo la crescita e l'adattamento intestinale post-svezzamento. L'assunzione

iniziale, durante questa, fase influisce crucialmente sul futuro del suinetto, sottolineando l'importanza di massimizzare l'assunzione di mangime del suinetto. A un peso standardizzato di 8.42 kg dopo il pre-starter 1. Il gruppo C ha richiesto 2.52 kg di mangime, mentre il gruppo EBSR ha raggiunto lo stesso peso con 2.2 kg, indicando una riduzione di 0.32 kg di mangime per suinetto. Considerando il costo elevato delle diete iniziali nei cicli di produzione, questi risultati suggeriscono notevoli risparmi per gli allevatori. Sebbene siano le diete meno utilizzate rispetto le fasi di crescita successive, hanno aumentato nel contempo le loro prestazioni e l'efficienza alimentare.
La somministrazione di butirrato alle cellule intestinali ha facilitato significativamente l'adattamento durante la fase post-svezzamento, ottenendo così un miglioramento nella crescita e una migliore conversione alimentare. Questo miglioramento è derivato da un maggiore assorbimento dei nutrienti attribuibile a una migliore integrità intestinale.

Abstract
Post-weaning in pigs prompts a temporary decrease in feed intake, causing undernutrition and growth stunting. This affects small intestinal structure and function, often leading to gut disorders like diarrhoea, marked by villus atrophy and reduced enzyme activity (Lallès et all. 2004). Rapid intestinal recovery is crucial for pig performance, as the mucosa serves as both a defence barrier and nutrient absorber. Energy availability, especially from butyric acid, fuels intestinal cell growth and migration, promoting epithelial development for improved health and performance.

The objective of this trial was to evaluate the effect of an encapsulated butyrate with slow release technology on the performance of the weaned piglet.

240 weaned piglets (both genders), averaging 23 days old and weaning weight of 6.7 kg, were divided into two groups: Control (C) and Encapsulated Butyrate Slow Release (EBSR) - ButiPEARL™ Kemin Industries. Each group comprised 120 piglets, with 10 replicates (pens) of 12 piglets each, based on gender and weight. The study had 2 phases: Pre-starter 1 (24-31 days), Pre-starter 2 (32-38 days). Diets were tailored to meet the pigs' physiological requirements at each stage. Treatments were supplemented with encapsulated butyrate at 1000g/t and 750g/t for pre-starter 1 and pre-starter 2, respectively. At the end of all phases, weight and feed consumed were recorded. Tukey test was performed to compare all means using SAS software.

During the pre-starter 1 phase, EBSR group had significant improvements on Average Daily Gain (ADG g/d), 235g/d vs 192g/d ($p<0.01$), Average Daily Feed Intake (ADFI g/d), 297g/d vs 278g/d) $p<0.05$) and Feed Conversion Rate (FCR) 1.28 vs 1.47 ($p<0.01$) for EBSR and C group. In addition, at the end of the phase, piglets in EBSR were significantly heavier (8.42 kg vs 8.12 kg $p<0.01$ for EBSR and C respectively). During the second phase – pre starter 2, EBSR group had a significant improvement on ADG (EBSR=301g/d vs C=276g/d $p<0.05$) and ADFI (EBSR=400g/d vs C=383g/d $p<0.05$).

Weaning presents significant stressors for piglets, leading to reduced feed intake, compromising intestinal health, inducing inflammation, and impairing intestinal growth and adaptation post-weaning. The initial intake during this phase crucially impacts the piglet's future, underscoring the importance of maximizing feed intake the piglet. At a standardized weight of 8.42kg following pre-starter 1. The C group will require 2.52 kg of feed, whereas the EBSR group achieved the same weight with 2.2 kg, indicating a 0.32kg feed reduction

per piglet. Considering the higher cost of initial diets in production cycles, these findings suggest substantial cost savings for farmers, even though they are the less used diets, whilst increasing performance and efficiency.

Administering Butyrate to intestinal cells significantly facilitated adaptation during the post-weaning phase, resulting in enhanced growth and improved feed conversion. This enhancement stemmed from better nutrient absorption attributed to improved intestinal integrity.

INTRODUZIONE

Lo svezzamento è uno dei momenti più stressanti e critici nella vita dei suini. Un effetto immediato è visibile sull'impatto nell'assunzione di mangime, con una netta riduzione della quantità ingerita, che porta alla perdita di integrità della struttura intestinale, con distruzione dei villi intestinali, contribuendo alla diarrea post-svezzamento. L'intestino e la mucosa intestinale perdono dal 20 al 30% del loro peso relativo durante i primi giorni post-svezzamento e il loro completo recupero richiede dai 5 ai 10 giorni. Un rapido recupero intestinale è fondamentale per le future prestazioni dei suini, poiché la mucosa intestinale non è solo la prima linea di difesa ma è anche responsabile dell'assorbimento dei nutrienti. La crescita delle cripte intestinali e il tasso di migrazione cellulare sembrano dipendere fortemente dalla disponibilità di energia durante questo periodo. L'acido butirrico, un acido grasso a catena corta, è una fonte di energia per le cellule intestinali, supportando la proliferazione cellulare e lo sviluppo dell'epitelio intestinale, portando a una migliore salute e prestazioni.
Tuttavia, i butirrati sono difficili da utilizzare, poiché quando sono liberi (non incapsulati) o incapsulati ma con una tecnologia che mira ad un rapido rilascio, non arrivano oltre il tratto gastrointestinale iniziale, rendendoli non disponibili per il resto dell'intestino, dove avviene effettivamente l'assorbimento dei nutrienti.
L'obiettivo di questo studio era valutare l'effetto di una fonte di butirrato di calcio, incapsulato e con un lento rilascio lungo tutto il tratto gastrointestinale, sulle prestazioni post-svezzamento dei suinetti e sulla redditività durante la fase di svezzamento.

MATERIALI E METODI

240 suinetti svezzati (maschi e femmine) con un'età media di 23 giorni e un peso vivo di 6,7 kg. I suinetti sono stati assegnati a uno dei due trattamenti: Controllo e Butirrato Incapsulato a Rilascio Lento (BIRL). Ogni trattamento ha ricevuto 120 suinetti (10 ripetizioni, con ogni ripetizione costituita da un recinto di 12 suinetti), assegnati per sesso e peso all'inizio dello studio.
Lo studio è stato condotto per un periodo di 14 giorni, diviso in 2 fasi: Pre-starter 1 (24-31 giorni di età) e Pre-starter 2 (32-38 giorni di età). Le diete per ciascuna fase sono state formulate per soddisfare le esigenze fisiologiche degli animali nelle rispettive fasi di vita. Il disegno della prova riguardante l'inclusione di BIRL nelle diverse diete può essere visto nella Tabella 1.

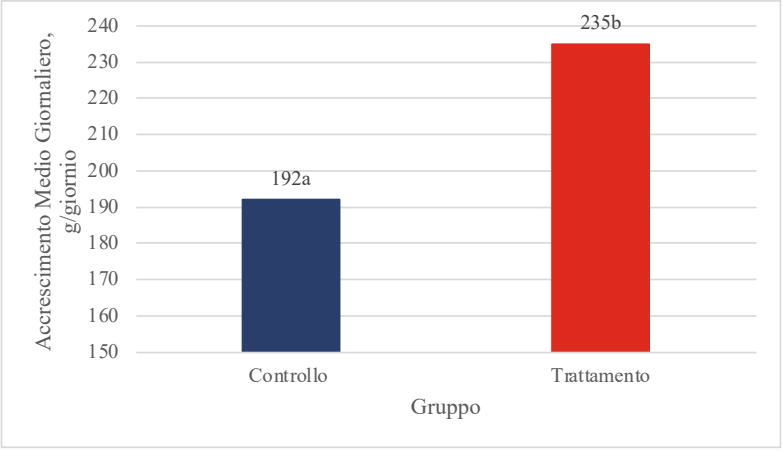
Tabella 1: Inclusione di BIRL nelle diverse diete
Table 1: Inclusion of SREB on the different diets

Controllo	**BIRL (g/T) (tratamentto)**
Pre-starter 1	- 1.000
Pre-starter 2	- 750

RISULTATI E DISCUSSIONE

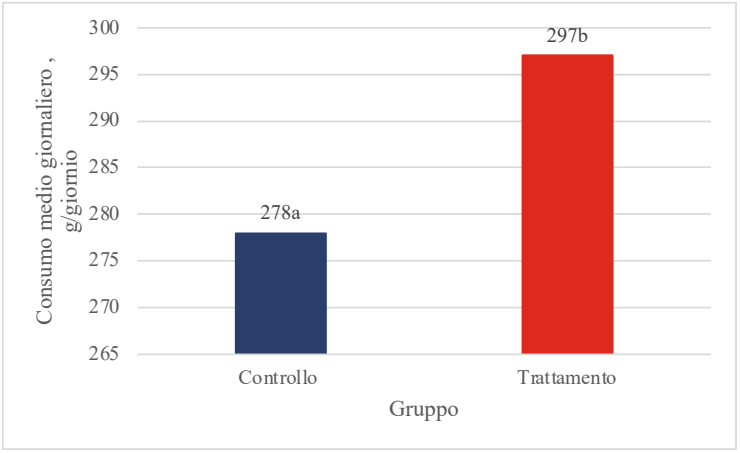
La prima settimana dopo lo svezzamento è particolarmente impegnativa. L'integrazione delle diete dei suinetti con BIRL ha portato a un miglioramento delle prestazioni dei suinetti durante la prima settimana (fase Pre-starter 1). L'integrazione dei suinetti con BIRL ha comportato guadagni medi giornalieri di peso più elevati ($p<0,01$), Figura 1; un aumento delle assunzioni alimentari giornaliere medie ($p<0,05$), Figura 2; e anche un miglioramento della conversione alimentare ($p<0,01$), Figura 3.

Figura 1: Guadagno medio giornaliero (GMG) durante la fase Pre-starter 1.
Figure 1: Average daily gain (ADG) during Pre-starter 1 phase.



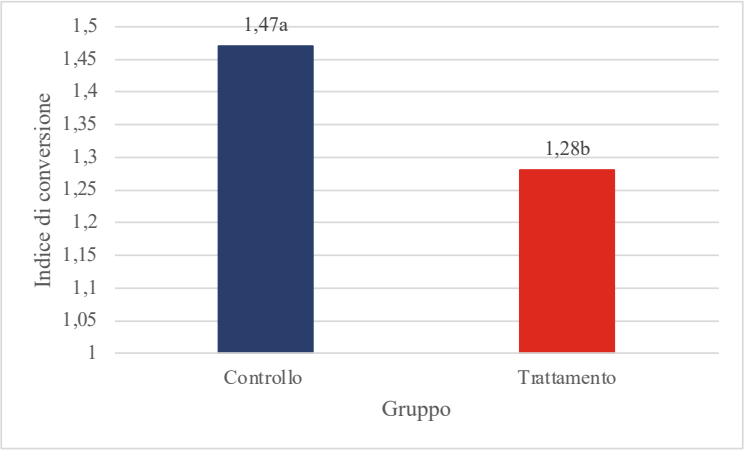
Superscritti diversi (a, b) indicano $p<0,01$.

Figura 2: Assunzione alimentare media giornaliera (CMG) durante la fase Pre-starter 1.
Figure 2: Average daily feed intake (ADFI) during the Pre-starter 1 phase.



Superscritti diversi (a, b) indicano $p<0,05$.

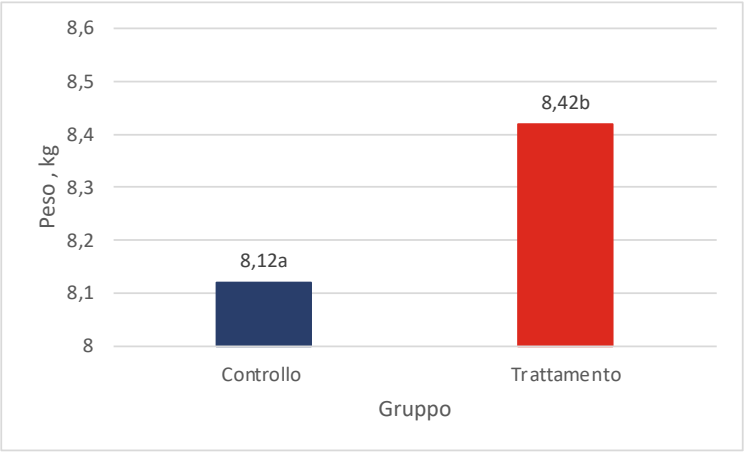
Figura 3: Tasso di conversione alimentare (IC) durante la fase Pre-starter 1.
Figure 3: Feed conversion rate (FCR) during the Pre-Starter 1 phase.



Superscritti diversi (a, b) indicano p<0,01.

Come risultato delle migliori prestazioni durante la prima settimana dopo lo svezzamento, i suinetti nel gruppo BIRL erano più pesanti (8,42 kg) rispetto ai suinetti nel gruppo di controllo (8,12 kg), p<0,01 alla fine della fase Pre-starter 1. Figura 4

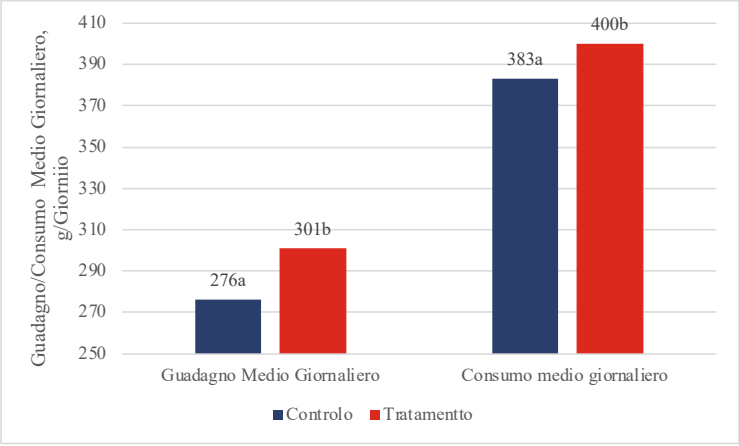
Figura 4: Peso alla fine della fase Pre-starter 1.
Figure 4: Weight at the end of Pre-Starter 1 phase.



Superscritti diversi (a, b) indicano p<0,01.

Durante la seconda fase – pre-starter 2, il gruppo tratamentto ha avuto un miglioramento significativo dell' GMG (trattamento =301g/d vs C=276g/d p<0,05) e dell' CMG (trattamento=400g/d vs C=383g/d p<0,05). Figura 5

Figura 5: Guadagno medio giornaliero (GMG) e Assunzione alimentare giornaliera media (CMG) durante la fase Pre-starter 2.
Figure 5: Average Daily Gain (ADG) and Average Daily Feed Intake (ADFI) in pre-starter 2 phase.



CONCLUSIONE

Lo svezzamento presenta significativi fattori di stress per i suinetti, portando a una ridotta assunzione di mangime, compromettendo la salute intestinale, inducendo infiammazione e compromettendo la crescita e l'adattamento intestinale post-svezzamento. L'assunzione iniziale durante questa fase influisce crucialmente sul futuro del suinetto, sottolineando l'importanza di massimizzare l'assunzione di mangime del suinetto. A un peso standardizzato di 8.42 kg dopo il pre-starter 1. Il gruppo C richiederà 2.52 kg di mangime, mentre il gruppo EBSR ha raggiunto lo stesso peso con 2.2 kg, indicando una riduzione di 0.32 kg di mangime per suinetto. Considerando il costo più elevato delle diete iniziali nei cicli di produzione, questi risultati suggeriscono notevoli risparmi per gli agricoltori, anche se sono le diete meno utilizzate, aumentando al contempo le prestazioni e l'efficienza.
La somministrazione di butirrato alle cellule intestinali ha facilitato significativamente l'adattamento durante la fase post-svezzamento, risultando in una crescita migliorata e una migliore conversione alimentare. Questo miglioramento è derivato da una migliore assorbimento dei nutrienti attribuito a una migliore integrità intestinale.

BIBLIOGRAFIA

Lallès J. 2004. Physiology. Anim. Res. 53:301–316.

MIGLIORARE LA GESTIONE DEL MICROBIOTA CON BACILLUS VELEZENSIS PB6 SUPPORTA LE PRESTAZIONI DEI SUINETTI E I RISULTATI ECONOMICI DELLE AZIENDE AGRICOLE

IMPROVING MICROBIOTA MANAGEMENT WITH BACILLUS VELEZENSIS PB6 SUPPORTS PIGLET PERFORMANCE AND FARM ECONOMIC RESULTS

N'GUETTA E.[1], CASIRO S.[1], MATTUZZI S.[1], VAN HAMME V.[1]

[1]*Kemin Europa n.v., Toekomstlaan 42, 2200 Herentals, Belgium*

Parole chiave: Suinetti, microbiota, performance
Key Words: Piglets, microbiome, performance

Riassunto

Lo svezzamento è una fase stressante del ciclo di produzione dei suini. Il periodo post-svezzamento vede spesso infezioni gastrointestinali opportunistiche che disturbano il microbiota e mettono a rischio i risultati economici delle aziende agricole. L'obiettivo di questo studio era valutare l'uso di un probiotico Bacillus come strategia preventiva per supportare la salute intestinale dopo lo svezzamento e migliorare i risultati economici. Centonovantadue (192) suinetti maschi e femmine di peso corporeo simile (7,1 kg) sono stati randomizzati e assegnati a un gruppo di controllo negativo alimentato con una dieta di base (NC) o a un gruppo probiotico (PB6) alimentato con la dieta di base integrata con 5 x 10^7 CFU/kg di Bacillus sp. PB6 (ATCC PTA-6737) per 42 giorni. Ogni gruppo sperimentale consisteva di 16 recinti replicati con 6 suinetti ciascuno (8 repliche per sesso). Sono state misurate le prestazioni di crescita. Le diete includevano lo 0,3% di ossido di cromo come marcatore indigeribile per analizzare la digeribilità dei nutrienti. I campioni fecali sono stati raccolti da tutti i suinetti al giorno 28 e raggruppati per recinto per l'analisi della digeribilità. I dati di crescita e digeribilità sono stati sottoposti ad analisi ANOVA utilizzando il software SAS e le differenze sono state rilevate tramite i nuovi test a intervalli multipli di Duncan ($P \leq 0,05$). Il margine sul costo del mangime (MOFC) è stato calcolato utilizzando i prezzi di mercato in Europa a giugno 2024.
Considerando l'intero periodo, i suinetti nel gruppo PB6 hanno avuto un miglioramento significativo del guadagno medio giornaliero (428 g/d vs 455 g/d, $P = 0,02$) e del rapporto di conversione alimentare (1,490 vs 1,438, $P = 0,002$) rispetto al gruppo NC. La digeribilità della cenere grezza e della fibra grezza è migliorata rispettivamente del 3,1% e del 4,3% ($P < 0,05$). Il MOFC è migliorato del 9%. Questi risultati indicano che Bacillus sp. PB6 supporta le prestazioni di crescita dei suinetti e i risultati economici delle aziende agricole dopo lo svezzamento. Il miglioramento della digeribilità della fibra grezza suggerisce che gli effetti benefici sono associati a cambiamenti funzionali nel microbiota intestinale.

Abstract

Weaning is a stressful stage of the pig production cycle. The post-weaning period regularly sees opportunistic gastrointestinal infections disrupt the microbiota and jeopardize farm economic results. The objective of this study was to evaluate the use of a Bacillus probiotic as a preventive strategy to support intestinal health after weaning and improve economic results.
One hundred and ninety-two (192) male and female weanling piglets of similar body weight (7.1 kg) were randomized and allocated to either a negative control group fed with a basal diet (NC), or to a probiotic group (PB6) fed with the basal diet supplemented with 5 x 107 CFU/kg

of Bacillus sp. PB6 (ATCC PTA-6737) for 42 days. Each experimental group consisted of 16 replicate pens of 6 piglets each (8 replicates per sex). Growth performance was measured. The diets included 0.3 % chromic oxide as an indigestible marker to analyze nutrient digestibility. Faecal samples were collected from all piglets on d28 and pooled per pen for digestibility analysis. Growth and digestibility data were subjected to ANOVA analysis using SAS software and differences were detected by Duncan's new multiple range tests ($P \leq 0.05$). Margin over feed cost (MOFC) was calculated using market prices in Europe in June 2024.
Considering the overall period, piglets in the PB6 group had a significantly improved average daily gain (428 g/d vs 455 g/d, $P = 0.02$) and feed conversion ratio (1.490 vs 1.438, $P = 0.002$) compared to the NC. Digestibility of crude ash and crude fiber were respectively improved by 3.1% and 4.3 % ($P < 0.05$). MOFC was improved by 9%. These results indicate that Bacillus sp. PB6 supports piglet growth performance and farm economic results after weaning. The improvement of crude fiber digestibility suggests that beneficial effects are associated with functional changes in the intestinal microbiota

INTRODUZIONE

Lo svezzamento dei suinetti è caratterizzato da numerose sfide nutrizionali e sanitarie, in gran parte legate allo stress intrinseco a questo periodo. La struttura e il funzionamento del tratto digestivo, ancora in fase di sviluppo, sono alterati, favorendo così la comparsa di diarrea a scapito dell'assorbimento dei nutrienti. La separazione dei suinetti dalla madre ostacola i processi di immunizzazione passiva, mentre le modifiche della dieta e i cambiamenti ambientali rappresentano ulteriori fattori di stress che ostacolano lo sviluppo dei suinetti.
L'uso di Bacillus spp. come batteri probiotici è una soluzione promettente per migliorare la salute intestinale e le prestazioni dei suinetti (Tang et al., 2024). Questo studio è stato condotto con l'obiettivo di valutare gli effetti di una supplementazione con B. velezensis PB6 sulle prestazioni e la digeribilità dei nutrienti dopo lo svezzamento.

MATERIALI E METODI

1.1. Additivo testato

L'additivo testato in questo studio è un additivo zootecnico stabilizzatore della flora intestinale. Utilizza il ceppo B. velezensis ATCC PTA-6737 (PB6) (CLOSTAT®, Kemin Europa NV, Herentals, Belgio).

1.2. Animali e dispositivo sperimentale

384 suinetti svezzati (Large White x Landrace x Duroc) con un peso medio di 7,1 kg sono stati ricevuti in stazione sperimentale. I suinetti sono stati suddivisi in diversi recinti in base al loro peso vivo. L'esperimento ha coinvolto 2 gruppi sperimentali: un gruppo di controllo (C) alimentato con una dieta di base, e un gruppo supplementato e alimentato con la stessa dieta contenente il ceppo PB6 alla dose di 5 x 10^7 CFU/kg di alimento (PB6). Ogni gruppo sperimentale era costituito da 16 ripetizioni, ciascuna ripetizione composta da 6 suinetti per recinto (unità sperimentale). Sono state applicate due fasi alimentari: una fase di pre-avvio (0 - 14 giorni) e una fase di avvio (14 - 42 giorni). Le diete sono state formulate per soddisfare le esigenze fisiologiche degli animali. Le diete includevano lo 0,3% di ossido di cromo come marcatore indigeribile per l'analisi della digeribilità dei nutrienti.

1.3. Misure e analisi statistica

Il consumo totale di alimento per recinto è stato misurato per i periodi 0-14, 14-28 e 28-42 giorni. Il peso vivo (PV) dei suinetti è stato misurato per recinto all'inizio dell'esperimento e ai giorni 14, 28 e 42. Sono stati calcolati il guadagno medio giornaliero (GMG), l'indice di conversione (IC),

il consumo medio giornaliero (CMG) e il tasso di sopravvivenza. Al 28° giorno dell'esperimento, sono stati prelevati campioni di feci da tutti i suinetti e poi raggruppati per recinto per essere liofilizzati e macinati. I campioni di alimenti e feci sono stati poi analizzati per determinare la digeribilità dei nutrienti. La digeribilità è stata calcolata utilizzando l'equazione seguente:

$$ND_{nutri}\ (\%) = \frac{Nutri_d/Cr_d - Nutri_e/Cr_e}{Nutri_d/Cr_d} \times 100$$

NDnutri = Digeribilità del nutriente
Nutrid(e) = Concentrazione del nutriente nell'alimento (nelle feci)
Crd(e) = Concentrazione di ossido di cromo nell'alimento (nelle feci)

Tutti i dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza utilizzando il software SAS (versione 9.4, 2015). Le differenze tra le medie sono state rilevate tramite il test a intervalli multipli di Duncan. Le probabilità di $P \leq 0,05$ sono state considerate significative e le probabilità di $0,05 < P \leq 0,10$ sono state considerate tendenze.

RISULTATI E DISCUSSIONE

I dati sulle prestazioni di crescita dei suinetti nelle diverse fasi alimentari sono presentati nella Tabella 1.

Tabella 1 - Effetto di B. velezensis PB6 su PV, GMG, CMG, IC e sopravvivenza dei suinetti.
Table 1 **-** Effect of B. velezensis PB6 on BW, ADG, ADFI, FCR, and survival of piglets.

Periodo	Gruppo	PV finale (kg)	GMG (g/g)	CMG (g/g)	IC	Sopravvivenza (%)
0-14 giorni	Controllo	10,83	0,266 [b]	0,316	1,184 [a]	100
0-14 giorni	PB6	11,27	0,298 [a]	0,339	1,138 [b]	100
P-value		ns	0,002	ns	0,004	-
SEM		0,285	0,008	0,010	0,009	-
14-42 giorni	Controllo	25,06	0,509	0,800	1,572 [a]	97,92
14-42 giorni	PB6	26,19	0,533	0,812	1,522 [b]	100
P-value		ns	ns	ns	0,03	ns
SEM		0,47	0,009	0,016	0,012	1,162
0-42 giorni	Controllo	25,06	0,428 [b]	0,638	1,490 [a]	97,92
0-42 giorni	PB6	26,19	0,455 [a]	0,654	1,438 [b]	100
P-value		ns	0,02	ns	0,003	ns
SEM		0,47	0,007	0,013	0,001	1,162

a, b Lettere diverse indicano una differenza significativa tra i trattamenti ($P \leq 0,05$); ns = non significativo ($P \geq 0,05$).

L'apporto del ceppo PB6 ha migliorato significativamente le prestazioni di crescita rispetto al gruppo di controllo. Nel periodo 0-14 giorni, il GMG e l'IC sono migliorati rispettivamente del 12% (P=0,002) e del 4% (P=0,004) rispetto al controllo. Il miglioramento dell'IC è stato mantenuto nel periodo 14-42 giorni, con una riduzione del 3% (P=0,03). Durante l'intero periodo sperimentale di 0-42 giorni, i suinetti del gruppo PB6 hanno mostrato un miglioramento del GMG del 6% (P=0,02) e una riduzione dell'IC del 3% (P=0,003) rispetto al controllo. Considerando il prezzo medio dell'alimento per suinetti e quello dei suinetti di 25 kg sui mercati europei al momento della redazione dell'abstract, questi risultati corrispondono a un miglioramento del margine sul costo alimentare del 9%.
Altri studi hanno esaminato il potenziale dei probiotici dopo lo svezzamento e hanno mostrato risultati comparabili. Lo studio di Zhao et al. (2024) ha dimostrato che l'uso di un complesso di probiotici (B. licheniformis, B. subtilis, L. acidophilus e S. cerevisiae) ha migliorato il GMG del 13% (P<0,05) 28 giorni dopo lo svezzamento. In un contesto di sfida con E. coli F18, He et al. (2020) hanno ottenuto un miglior guadagno di peso con B. subtilis 14 giorni dopo la sfida.
I risultati della digeribilità dei nutrienti sono presentati nella Tabella 2.

Tabella 2 - Effetto di B. velezensis PB6 sulla digeribilità dei nutrienti a 28 giorni dopo lo svezzamento
Table 2 **-** Effect of B. velezensis PB6 on nutrient digestibility 28 days after weaning.

Gruppo	Proteina grezza (%)	Materia grassa grezza (%)	Ceneri grezze (%)	Cellulosa grezza (%)
Controllo	88,3	84,4	75,5 [b]	47,4 [b]
PB6	88,8	85,5	77,8 [a]	49,4 [a]
P-value	ns	ns	<0,001	0,03
SEM	0,33	0,52	0,47	0,62

Nel nostro studio, è stata osservata un aumento del 4,3% della digeribilità della cellulosa grezza (P=0,03) e del 3,1% della digeribilità delle ceneri grezze (P<0,001). Questi risultati sono in accordo con la migliore digeribilità dei polisaccaridi non amilacei ottenuta dopo l'uso di un cocktail di Bacillus spp. (Huting et al., 2023). Tuttavia, in questo studio non è stato ottenuto alcun miglioramento della digeribilità dei minerali. Altri studi su altre specie animali hanno comunque già dimostrato il ruolo dei probiotici nel migliorare l'assimilazione dei minerali (Alagawany et al., 2018).
Nel complesso, questi risultati suggeriscono che gli effetti positivi di B. velezensis PB6 sulla crescita dei suinetti sono dovuti a modifiche funzionali del microbiota intestinale che influenzano la capacità di valorizzare alcuni nutrienti, in particolare le fibre.

CONCLUSIONE

Questa ricerca dimostra che B. velezensis PB6 favorisce le prestazioni di crescita dei suinetti e i risultati economici dopo lo svezzamento. Il miglioramento della digeribilità delle fibre grezze indica che l'effetto benefico è associato a cambiamenti funzionali del microbiota.

BIBLIOGRAFIA

1. Alagawany, M.; Abd El-Hack, M.E.; Farag, M.R.; Sachan, S.; Karthik, K.; Dhama, K. The use of probiotics as eco-friendly alternatives for antibiotics in poultry nutrition. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2018, *25*, 10611–10618.
2. He, Y., Jinno, C., Kim, K., Wu, Z., Tan, B., Li, X., ... & Liu, Y., 2020. Dietary Bacillus spp. enhanced growth and disease resistance of weaned pigs by modulating intestinal microbiota and systemic immunity. *J. Anim. Sci. Biotechno*, *11*, 1-19.
3. Huting, A. M. S., Lagos, L. V., Hansen, L. H. B., & Molist, F., 2023. Effect of Supplementing a Bacillus Multi-Strain Probiotic to a Post-Weaning Diet on Nutrient Utilisation and Nitrogen Retention of Piglets. *Animals*, *13*(23), 3597.
4. Tang, X., Zeng, Y., Xiong, K., & Zhong, J. (2024). Bacillus spp. as potential probiotics: promoting piglet growth by improving intestinal health. *Front. Vet. Sci.*, *11*, 1429233.
5. Zhao, J., Xie, Z., Zheng, M., Tang, W., Diao, H., & Yin, H., 2024. Dietary complex probiotic supplementation changed the composition of intestinal short-chain fatty acids and improved the average daily gain of weaned piglets. *Front. vet. sci.*, *11*, 1424855.

FARMACOSENSIBILITÀ DI CEPPI DI *BRACHYSPIRA HYODYSENTERIAE* ISOLATI DA SUINI COMMERCIALI NEI PERIODI 2013-2017 E 2020-2024

ANTIMICROBIAL SENSITIVITY OF BRACHYSPIRA HYODYSENTERIAE STRAINS ISOLATED FROM COMMERCIAL PIGS FARMS FROM 2013-2017 AND 2020-2024

CORDIOLI B.[1], GIROTTO E. [1], GUOLO A. [1], MERENDA M. [1], USTULIN M. [1], VIO D. [1], CUCCO L.[2], MAGISTRALI C.[3], BANO L. [1]

[1] *Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie;* [2]*Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Umbria e Marche;* [3] *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna*

Parole chiave: farmacosensibilità, *Brachyspira* spp, MIC
Keywords: antimicrobial susceptibility, *Brachyspira* spp, MIC

Riassunto

Brachyspira hyodysenteriae (Bh) è il più frequente agente eziologico di Dissenteria Suina, patologia per cui non sono disponibili vaccini commerciali. Il trattamento antibiotico per via orale rappresenta l'unica opzione terapeutica adottata per contrastare la malattia. L'obiettivo del lavoro è riportare dati di sensibilità di ceppi di Bh isolati negli intervalli di tempo 2013-2017 e 2020-2024 nei confronti di 6 principi attivi utilizzati in terapia.

La sensibilità agli antimicrobici in esame è stata valutata attraverso la determinazione della minima concentrazione inibente (MIC), ottenuta mediante diluizione in brodo. La maggior parte dei ceppi è risultata sensibile alle pleuromutiline (tiamulina e valnemulina) e a tilvalosina (100%). Al contrario, tilosina e lincomicina hanno registrato il maggior numero di isolati resistenti, confermando dati già riportati in numerosi studi. Per doxiciclina la percentuale di ceppi *non wild* diminuisce nel tempo, infatti nel periodo 2020-2024 la maggior parte degli isolati si colloca al di sotto del cut-off epidemiologico. In generale tra i due intervalli di tempo considerati si evidenzia una lieve diminuzione delle MIC_{50} e MIC_{90}, più marcata per tiamulina e tilvalosina.

Date le scarse opzioni terapeutiche disponibili per il trattamento della Dissenteria Suina, è importante monitorare la sensibilità agli antimicrobici degli isolati di Bh circolanti negli allevamenti italiani nel tempo per suggerire una terapia antibiotica efficace e impedire l'insorgenza di fenomeni di resistenza.

Abstract

Brachyspira hyodysenteriae (Bh) is the most common agent of Swine Dysentery. Unfortunately, no commercial vaccines are available and oral antibiotic treatment is the only established therapeutic option. For this reason, the objective of the work is to report sensitivity data of Bh strains isolated between 2013-2017 and 2020-2024 with respect to 6 antibiotics used in therapy.

The sensitivity was assessed by determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) obtained by broth dilution. Most strains were sensitive to pleuromutilins (thiamulin and valnemulin) and tylvalosin (100%). Conversely, tylosin and lincomycin reported the highest number of resistant isolates, confirming data already reported in other studies. For doxycycline the % of *non wild-type* strains decreases in time. Indeed, in the period

2020-2024 most isolates are below the epidemiological cut-off. Generally, considering the two time intervals, there is a slight decrease in MIC_{50} and MIC_{90} values, more evident for thiamulin and tylvalosin.
Given the limited treatment options available for Swine Dysentery, it is important to monitor the antimicrobial susceptibility of Bh isolates circulating in Italian farms over time to ensure effective antibiotic therapy and prevent the onset of antibiotic resistance.

INTRODUZIONE

Brachyspira hyodysenteriae (Bh) è un batterio Gram-negativo, anaerobio, appartenente alla famiglia delle *Spirochetaceae* che colonizza il grosso intestino di uomo e animali. Nel suino, è la causa più comune di dissenteria (*Swine Dysentery*), clinicamente caratterizzata da feci muco-emorragiche con edema della parete del colon spirale, occasionalmente accompagnata da febbre e inappetenza (Hampson & Burrough, 2019). I soggetti portatori rappresentano la principale fonte d'introduzione della malattia in gruppi indenni mentre la diffusione nel gruppo avviene per via oro-fecale (Hampson & Burrough, 2019). La morbilità della malattia è elevata (fino al 90%) e la mortalità può raggiungere il 30% in caso di ritardato intervento, con importante impatto economico dovuto al ridotto accrescimento dei soggetti colpiti e ai costi per la terapia (Hampson & Burrough, 2019).
Le principali misure di controllo della Dissenteria Suina comprendono l'implementazione e il miglioramento delle misure di biosicurezza volte a impedirne l'ingresso in allevamento, tra cui la quarantena unitamente a test di screening degli animali di nuova introduzione (Zeeh *et al*., 2020). Inoltre, buone condizioni igieniche e manageriali sono fondamentali per prevenire la trasmissione di Bh tra gruppi negli allevamenti in cui la malattia è presente (Giacomini *et al*., 2018).
Fino a quando non saranno disponibili vaccini commerciali, il trattamento antibiotico per via orale rappresenta l'unica opzione terapeutica consolidata per la Dissenteria Suina. Tuttavia, i batteri del genere *Brachyspira* spp sono intrinsecamente resistenti a numerosi principi attivi tra cui spectinomicina, colistina e vancomicina, che sono infatti incorporati nei terreni selettivi utilizzati per l'isolamento da feci e contenuto intestinale (Calderaro *et al*., 2001; Kunkle & Kinyon, 1988).
Macrolidi, lincosamidi e pleuromutiline sono frequentemente utilizzati nel trattamento di infezioni da Bh, ma numerosi studi dimostrano una progressiva diminuzione della sensibilità a questi antimicrobici nel tempo con comparsa di ceppi multiresistenti (Hidalgo *et al*., 2011; Sperling *et al*., 2011). In particolare, la proporzione di isolati *non wild,* cioè privi di meccanismi di resistenza rilevabili fenotipicamente, nei confronti di tilosina e lincomicina è risultata elevata in numerosi studi, nel caso della lincomicina già dai primi anni 2000 (Hampson *et al*., 2019; De Lorenzi *et al*., 2024). Inoltre, la crescente resistenza degli isolati italiani alle pleuromutiline limita ulteriormente le opzioni terapeutiche (Rugna *et al*., 2015; De Lorenzi *et al*., 2024).
Trattandosi di specie batteriche in grado di acquisire velocemente meccanismi di resistenza nei confronti di alcune classi di antimicrobici con target ribosomiale (alterazioni puntiformi a carico del 23S rRNA) è necessario monitorare la sensibilità agli antibiotici dei ceppi isolati degli allevamenti di suini commerciali per impostare il trattamento con un principio attivo efficace nei confronti del ceppo responsabile del focolaio (Hidalgo *et al*., 2011; Pringle *et al*., 2012).
Per questo motivo, l'obiettivo di questo lavoro è riportare i dati di sensibilità nei confronti di 6 principi attivi di ceppi di *Brachyspira hyodysenteriae* isolati da allevamenti italiani in due intervalli di tempo (2013-2017 e 2020-2024).

MATERIALI E METODI

In totale sono stati analizzati 25 ceppi di *Brachyspira hyodysenteriae* selezionati tra quelli isolati negli intervalli 2013-2017 (11 ceppi) e 2020-2024 (14 ceppi). I ceppi in esame derivano dall'attività diagnostica routinaria e sono stati isolati a seguito di esami batteriologici eseguiti da feci o da intestini campionati in sede anatomopatologica. Gli isolati selezionati provengono da allevamenti diversi oppure, se originati dello stesso allevamento, da campioni conferiti a oltre 6 mesi l'uno dall'altro.

L'isolamento è stato eseguito su terreno BAM (Blood Agar Modificato addizionato di Spectinomicina e Rifampicina) incubato in anaerobiosi a 37°C con passaggi eseguiti ogni 72 ore circa (Calderaro *et al.*, 2001). L'identificazione di specie è stata eseguita attraverso l'applicazione di protocolli di biologia molecolare (La *et al*., 2003).

Per determinare la MIC degli antimicrobici testati nei confronti di ceppi di spirochete intestinali isolati da suino, è stato impiegato il kit commerciale VetMIC-Brachy prodotto presso il National Veterinary Institute della Svezia (SVA). Tale kit si basa sul metodo della diluizione in brodo ed i principi attivi inclusi sono: tiamulina (TIA, 0.063-8 µg/mL), valnemulina (VAL, 0.031-4 µg/mL), doxiciclina (DOX, 0.125-16 µg/mL), tilvalosina (TILV, 0.25-32 µg/mL), lincomicina (LIN, 0.5-64 µg/mL) e tilosina (TILO, 2-128 µg/mL) (Karlsson *et al.*, 2003).

Ogni piastra è stata ispezionata e osservata in campo oscuro in microscopia ottica prima di saggiarne la farmacosensibilità al fine di confermare la purezza dell'isolato da testare. Per la preparazione dell'inoculo, 2 anse di coltura batterica pura sono state raccolte mediante ansa da 1 µL e risospese in 2 mL di Brain Heart Infusion broth (BHI) (Biolife). Trecento µL di questa sospensione (contenente circa 10^8 UFC/mL), è stata introdotta in 30 mL di BHI addizionato con 10% di siero fetale bovino (Sigma Aldrich) per ottenere il titolo necessario per l'inoculo finale (10^6 UFC/ml) (CLSI, 2017). Infine, in ciascun pozzetto del kit sono stati inoculati 0,5 mL di sospensione batterica. Le piastre sono state incubate immediatamente dopo l'inoculazione in ambiente anaerobio a temperatura di 35±1°C per 96 h in agitazione (60-80 rpm). Nell'incubatore non sono state sovrapposte più di quattro piastre così da garantire a tutte le stesse condizioni di incubazione.

Ogni ceppo è stato classificato come sensibile, intermedio e resistente sulla base dei Break-Point (BP) clinici definiti nel documento CLSI VET06 (Methods for antimicrobial susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria isolated from animals. 1ed, 2017) per *Brachyspira hyodysenteriae*. Per interpretare i risultati riferiti a valnemulina è stato utilizzato il BP clinico riferito alla metodologia in agar, mentre per lincomicina si è fatto riferimento ai breakpoint suggeriti in Rønne e Szancer, 1990 (proceedings of the International PigVeterinary Society Congress, Lausanne, Switzerland. p. 126). Non sono disponibili breakpoint per doxiciclina.

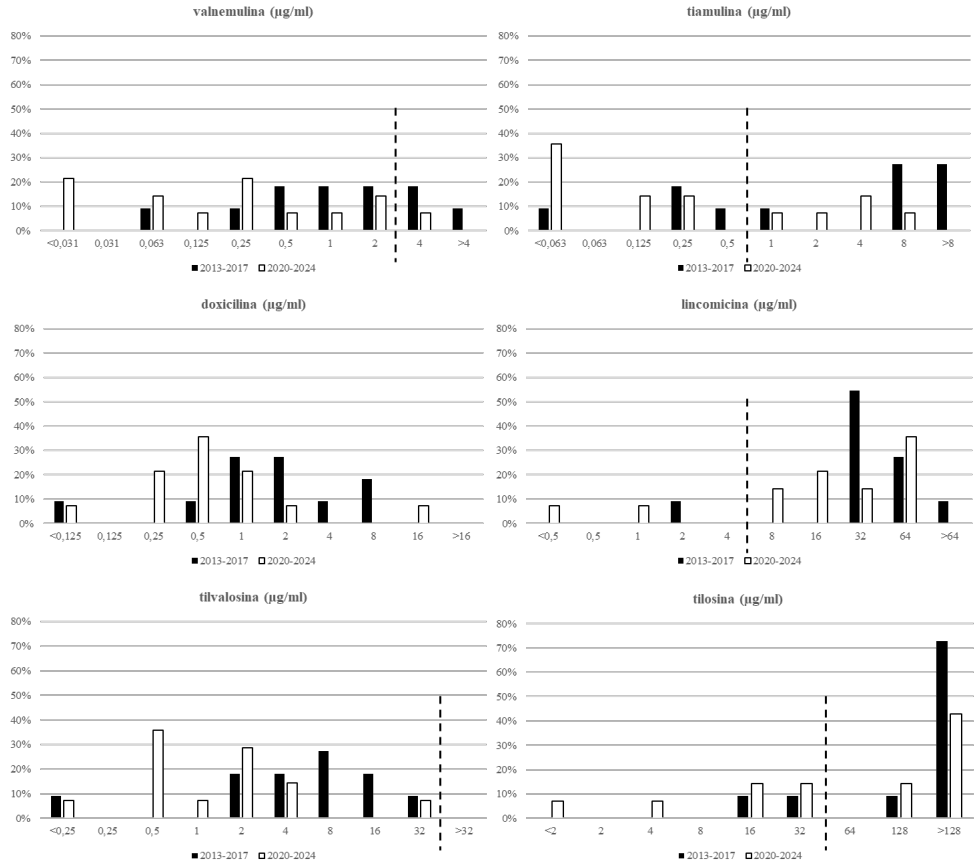
RISULTATI

I valori di MIC degli antimicrobici testati sono riassunti in tabella 1 e in figura 1. Laddove disponibili, i BP clinici sono indicati tramite linee verticali (grafico) o tratteggiate (figura) (CLSI, 2017).

Tabella 1. Distribuzione dei ceppi di *Brachyspira hyodysenteriae* rispetto alle diverse concentrazioni di principio attivo testato (µg/ml). Le caselle bianche corrispondono alle concentrazioni di antimicrobico testate.
Table 1. Distribution of *Brachyspira hyodysenteriae* strains according to the antibiotic concentration tested (µg/ml). White boxes correspond to the antimicrobial concentration tested.

		<0.031	0.031	0.063	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128	MIC50	MIC90
VAL	2013-2017			1		1	2	2	2	2	1						1	4
	2020-2024	3		2	1	3	1	1	2	1							0,25	2
TIA	2013-2017		1			2	1	1			3	3					8	>8
	2020-2024		5		2	2		1	1	2	1						0,125	4
DOX	2013-2017			1			1	3	3	1	2						2	8
	2020-2024			1		3	5	3	1			1					0,5	2
TILV	2013-2017				1				2	2	3	2	1				8	16
	2020-2024				1		5	1	4	2			1				1	4
LIN	2013-2017								1				6	3	1		32	64
	2020-2024					1		1			2	3	2	5			16	64
TILO	2013-2017											1	1		1	8	>128	>128
	2020-2024							1		1		2	2		2	6	128	>128

Figura 1. Distribuzione (%) dei valori di MIC degli antibiotici testati nei confronti dei ceppi di *Brachyspira hyodysenteriae*.
Figure 1. Distribution (%) of the MIC values of the antibiotics tested against *Brachyspira hyodysenteriae* strains.



DISCUSSIONE

In questo studio l'azione antimicrobica di valnemulina, tiamulina, doxiciclina, tilvalosina, lincomicina e tilosina è stata saggiata nei confronti di ceppi di Bh collezionati in due diversi intervalli di tempo.

Come visibile in tabella 1, la maggior parte dei ceppi testati ha mostrato sensibilità a valnemulina indipendentemente dal periodo di tempo considerato. Non si ritiene che l'applicazione di BP clinici riferiti alla metodica in agar possa aver influito sulla classificazione dei ceppi in sensibile/resistente testati in brodo, in quanto è stato dimostrato che tale metodo fornisce valori di MIC mediamente inferiori di 1 diluizione rispetto al metodo della diluizione in agar (Rhode *et al*., 2004). Invece, per tiamulina gli isolati mostrano una distribuzione trimodale, particolarmente evidente nei ceppi testati nel periodo 2013-2017. In tale periodo, la sub-popolazione più numerosa è costituita da ceppi la cui crescita è inibita da concentrazioni di tiamulina superiori a 4 µg/mL che è oltre il BP suggerito per questa molecola dal CLSI (≥ 0,5 µg/mL). Ad eccezione di 5 isolati, la maggior parte dei ceppi testati nel periodo 2020-2024 risulta sensibile, in contrasto con studi presenti in bibliografia ed eseguiti su un elevato numero di isolati italiani che evidenziano crescente resistenza nei confronti delle pleuromutiline (Rugna *et al*., 2015; De Lorenzi *et al*., 2024).

I due macrolidi testati (tilvalosina e tilosina) hanno mostrato andamenti di sensibilità agli antimicrobici sostanzialmente differenti. In particolare, tutti i ceppi si sono dimostrati sensibili a tilvalosina, mentre la maggior parte dei ceppi (9/11 e 8/14) è risultata resistente a tilosina, indipendentemente dal periodo considerato. Infatti, in entrambi gli intervalli di tempo considerati, la MIC_{90} corrisponde a >128 µg/mL, in accordo con altri studi recenti eseguiti su ceppi del nord Italia (De Lorenzi *et al*., 2024).

Per quanto riguarda doxiciclina si evidenziano differenze nella distribuzione dei ceppi nei due intervalli di tempo considerati. Nel periodo 2013-2017 si distinguono chiaramente 2 sottopopolazioni, mentre nell'intervallo 2020-2024 gli isolati si distribuiscono a formarne 3. Per questo principio attivo non sono disponibili BP clinici, ma sulla base della distribuzione dei valori di MIC pubblicati in uno studio svedese viene proposto un cut-off epidemiologico (ECOFF) di 0,5 µg/mL (Pringle *et al*., 2012). Tale concentrazione separa le 2 popolazioni di ceppi isolati tra il 2013 e il 2017, mentre nell'intervallo 2020-2024 corrisponde alla concentrazione in grado di inibire il maggior numero di isolati. In entrambi gli intervalli di tempo un solo ceppo è stato inibito dalla più piccola concentrazione testata, ma le MIC_{50} e MIC_{90} degli isolati del periodo 2013-2017 sono due diluizioni maggiori rispetto a quelle dei ceppi più recenti, lasciando ipotizzare una possibile diminuzione della percentuale di ceppi *non wild*.

Anche per lincomicina non sono disponibili BP ufficiali e si è quindi deciso di applicare dei valori ormai consolidati e adottati in diversi laboratori diagnostici europei (Rønne & Szancer, 1990). Analogamente a quanto osservato per la doxiciclina, anche per la lincomicina si notano sottopopolazioni, distinte in modo marcato negli isolati nel periodo 2020-2024. Come già descritto in altri studi, in entrambi gli intervalli di tempo la maggior parte degli isolati è risultata resistente (De Lorenzi *et al*., 2024).

Il limitato numero di isolati testati non permette di giungere a conclusioni supportate da analisi statistiche, ma l'andamento dei valori di MIC_{50} e MIC_{90}, mostra una diminuzione di 1-2 diluizioni tra i due intervalli di tempo considerati. In particolare, la MIC_{50} di tiamulina diminuisce di oltre 4 diluizioni dal periodo 2013-2017 al 2020-2024 e per tilvalosina e tilosina (macrolidi) la diminuzione della MIC_{50} potrebbe essere attribuibile a una maggiore attenzione nella loro prescrizione in quanto considerati da WHO (2019) antimicrobici critici ad elevata priorità in terapia umana (HPCIA) e da utilizzare con cautela per EMA (cat. C) (EMA, 2019).

Se questo dato fosse confermato su una collezione di ceppi più ampia, potrebbe essere conseguenza di una maggiore sensibilizzazione del problema dell'antibioticoresistenza e della classificazione degli allevamenti sulla base della quantità di antimicrobico prescritto.

CONCLUSIONI

Date le scarse opzioni terapeutiche disponibili per il trattamento della dissenteria suina, negli allevamenti in cui è presente la malattia è importante eseguire periodicamente l'isolamento dei ceppi di Bh per monitorarne la sensibilità agli antimicrobici nel tempo e suggerire una terapia antibiotica razionale. Inoltre, i risultati di questo lavoro e di studi di farmacosensibilità già presenti in letteratura indicano che l'impiego della lincomicina per la terapia della Dissenteria Suina non trova giustificazione.

BIBLIOGRAFIA

1. Calderaro, A., Merialdi, G., Perini, S., Ragni, P., Guegan, R., Dettori, G., Chezzi, C. (2001) A novel method for isolation of Brachyspira (Serpulina) hyodysenteriae from pigs with swine dysentery in Italy. Vet Microbiol, 80, 47-52
2. De Lorenzi, G., Gherpelli, Y., Luppi, A., Pupillo, G., Bassi, P., Dottori, M., Di Donato, A., Merialdi, G., Bonilauri, P. (2024) In vitro susceptibility of Brachyspira hyodysenteriae strains isolated in pigs in northern Italy between 2005 and 2022. Res Vet Sci, 168, 105152.
3. European Medicines Agency (EMA). (2019) Categorisation of antibiotics in the European Union. Answer to the request from the European Commission for updating the scientific advice on the impact on public health and animal health of the use of antibiotics in animals EMA/CVMP/CHMP/682198/2017 accessed online at: https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/categorisation-antibiotics-european-union-answer-request-european-commission-updating-scientific-advice-impact-public-health-and-animal-health-use-antibiotics-animals_en.pdf
4. Giacomini, E., Gasparrini, S., Lazzaro, M., Scali, F., Boniotti, M.B., Corradi, A., Pasquali, P., Alborali, G.L., (2018) The role of transportation in the spread of Brachyspira hyodysenteriae in fattening farms. BMC Vet. Res. 14, 10.
5. Hampson & Burrough. (2019) "Swine Dysentery and Brachyspiral Colitis" in: Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W., Zhang J., Zimmermann J.J. "Diseases of Swine", 11th ed., Wiley-Blackwell, 951-970
6. Hampson, D. J., Lugsomya, K., La, T., Phillips, N. D., Trott, D. J., Abraham, S. (2019) Antimicrobial resistance in Brachyspira–an increasing problem for disease control. Vet Microbiol, 229, 59-71.
7. Hidalgo, A., Carvajal, A., Vester, B., Pringle, M., Naharro, G., Rubio, P. (2011) Trends towards lower antimicrobial susceptibility and characterization of acquired resistance among clinical isolates of Brachyspira hyodysenteriae in Spain. Antimicrob Agents Chemother. 55: 3330-3337. 10.1128/AAC.01749-10.
8. Karlsson, M., Fellström, C., Gunnarsson, A., Landén, A., Franklin, A. (2003) Antimicrobial susceptibility testing of porcine Brachyspira (Serpulina) spp. isolates. J Clin Microbiol 4:2596-2604
9. Kunkle, RA, Kinyon, JM. (1988) Improved Selective Medium for the Isolation of Treponema hyodysenteriae. J Clin Microbiol 26:2357–2360.
10. La, T., Phillips, N.D., Hampson, D.J. (2003) Development of a duplex PCR assay for detection of Brachyspira hyodysenteriae and Brachyspira pilosicoli in pig feces. J Clin Microbiol., Jul;41(7):3372-3375.
11. Pringle, M., Landén, A., Unnerstad, H. E., Molander, B., & Bengtsson, B. (2012) Antimicrobial susceptibility of porcine Brachyspira hyodysenteriae and Brachyspira pilosicoli isolated in Sweden between 1990 and 2010. Acta Vet Scand, 54, 1-6.

12. Rohde, J., Kessler, M., Baums, CG., Amtsberg, G. (2004) Comparison of methods for antimicrobial susceptibility testing and MIC values for pleuromutilin drugs for Brachyspira hyodysenteriae isolated in Germany. Vet Microbiol. 102: 25-32. 10.1016/j.vetmic.2004.03.023.
13. Rønne, H., Szancer, J. (1990) In vitro susceptibility of Danish field isolates of Treponema hyodysenteriae to chemotherapeutics in swine dysentery (SD) therapy. Interpretation of MIC results based on the pharmacokinetic properties of the antibacterial agents. Proceedings of the International PigVeterinary Society Congress, Lausanne, Switzerland. p. 126
14. Sperling, D., Smola, J., Cizek, A. (2011) Characterisation of multiresistant Brachyspira hyodysenteriae isolates from Czech pig farms. Vet Rec. 168: 215-10.1136/vr.c4247.
15. World Health Organization (WHO). (2019) Critically important antimicrobials for human medicine, 6th revision. Geneva Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
16. Zeeh, F., Vidondo, B., & Nathues, H. (2020) Risk factors for the infection with Brachyspira hyodysenteriae in pig herds. Prev Vet Med, 174, 104819.

ENFISEMA INTESTINALE DEL SUINO: INDAGINI MORFOLOGICHE

INTESTINAL EMPHYSEMA IN PIGS: MORPHOLOGICAL INVESTIGATIONS

BAGHINI S.[1], GUARNIERI C.[2], SCIOTA D.[1], ROMANO A.[1], MARA' M.[1], ROSAMILIA A.[3], MARRUCHELLA G.[1]

[1]Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Teramo;
[2]Azienda Unità Sanitaria Locale di Modena; [3]Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e Emilia-Romagna.

Parole chiave: suino, enfisema intestinale, caratteristiche microscopiche
Key words: swine, intestinal emphysema, microscopic features

Riassunto
L'enfisema intestinale del suino è considerato una rara condizione patologica, caratterizzata dalla presenza di formazioni cistiche multiple, a contenuto gassoso, nello spessore della parete dell'intestino. Lo studio ha avuto tre obiettivi: 1) stimare la prevalenza dell'enfisema intestinale nei suini macellati; 2) contribuire alla conoscenza dell'enfisema intestinale, mediante un approccio morfologico; 3) verificare l'eventuale nesso causale fra patologia respiratoria (polmonite) ed enfisema intestinale. I risultati indicano che l'enfisema intestinale non è un riscontro ispettivo rarissimo (in media 2.25 casi/partita) e non sembra in relazione con la presenza di polmonite. Le indagini microscopiche supportano l'ipotesi che le cisti si sviluppino all'interno dei vasi linfatici. Da evidenziare la presenza costante e pronunciata di infiammazioni a carattere granulomatoso, in stretta associazione con le cisti. Difficile stabilire se le reazioni granulomatose siano la causa o l'effetto della distensione gassosa dei vasi linfatici. Ad ogni modo, esse rappresentano un aspetto microscopico davvero caratteristico, tale da giustificarne l'inserimento in una futura e condivisa definizione.

Summary
Porcine intestinal emphysema is considered a rare pathological condition, characterized by the presence of multiple cysts containing gas within the thickness of the intestinal wall. This study had three purposes: 1) estimating the prevalence of intestinal emphysema in slaughtered pigs; 2) contributing to the knowledge of intestinal emphysema through a morphological approach; 3) verifying a putative causal link between respiratory lesions (pneumonia) and intestinal emphysema. The results indicate that intestinal emphysema is not such a rare finding at postmortem inspections (on average, 2.25 cases per batch), apparently unrelated to the presence of pneumonia. Microscopic investigations support the hypothesis that the cysts develop within the lymphatic vessels. Notably, there is a consistent and prominent granulomatous reaction surrounding cysts. It is difficult to determine whether granulomatous reactions cause or result from the gaseous distension of the lymphatic vessels. In any case, they represent the main microscopic feature and should be included in a future and shared definition of intestinal emphysema.

INTRODUZIONE

L'enfisema intestinale (EI) è considerato una rara condizione patologica, caratterizzata dalla presenza di formazioni cistiche multiple, a grappolo, a contenuto gassoso, nello spessore della parete dell'intestino. Numerosi i sinonimi utilizzati, ciascuno dei quali contribuisce a meglio definirne

le principali caratteristiche morfologiche: pneumatosi cistica (cistoide) dell'intestino, enfisema mesenteriale, linfopneumatosi cistica. Le formazioni cistiche coinvolgono prevalentemente l'intestino tenue e sono solitamente localizzate in corrispondenza dell'inserzione del mesentere. Tuttavia, lesioni analoghe possono interessare l'intera parete intestinale, come pure l'intestino crasso ed i linfonodi meseraici (Marcato, 1998).
L'EI è meglio noto e più frequentemente diagnosticato nella specie umana, in soggetti asintomatici o con sintomatologia gastroenterica variabile e aspecifica (Azzaroli *et al*., 2011; Di Pietropaolo *et al*., 2020). Nel suino, l'EI è ritenuto un reperto occasionale alla visita ispettiva *post mortem*, senza alcuna conseguenza sull'ammissibilità al consumo della carcassa (Marcato, 1998).
Lo studio ha avuto tre obiettivi: a) stimare la prevalenza dell'enfisema intestinale nei suini macellati; b) contribuire alla conoscenza dell'enfisema intestinale, mediante un approccio morfologico; c) verificare l'eventuale nesso causale fra patologia respiratoria (polmonite) ed enfisema intestinale.

MATERIALI E METODI

1. ***Prevalenza dell'enfisema intestinale al macello***

Sono stati esaminati 1542 suini pesanti italiani, provenienti da 12 allevamenti e regolarmente macellati in uno stabilimento ad elevata capacità del Nord-Italia. Ogni partita era costituita da 125-130 suini (media = 128.5). La presenza/assenza di EI è stata valutata nel corso della visita ispettiva *post mortem*.
Su un ulteriore campione di 411 suini – macellati in uno stabilimento della provincia di Teramo – si è provveduto a valutare simultaneamente la presenza di EI e di lesioni respiratorie riferibili a polmonite enzootica.

2. ***Indagini istopatologiche, istochimiche e immunoistochimiche***

Sono stati oggetto di studio 10 suini regolarmente macellati e con lesioni chiaramente riferibili a EI, dai quali è stato prelevato il tratto terminale dell'ileo. I campioni prelevati a tutto spessore e lunghi circa 2 cm, sono stati immediatamente fissati in formalina neutra tamponata al 10%, inclusi in paraffina, sezionati al microtomo e colorati come di routine in ematossilina-eosina. Una sezione tessutale per ciascun suino è stata poi colorata per visualizzare il tessuto connettivo fibroso (tricromica di *Masson* con blu di anilina; Bio-Optica). Infine, sono state eseguite indagini immunoistochimiche, schematicamente riassunte in Tabella 1.

Antigene	Target cellulare	Smascheramento antigenico	Anticorpo primario	Diluizione finale	Sistema di rivelazione
LYVE-1	Endotelio linfatico	Immersione in tampone citrato 0.01M (pH 6.01) e trattamento termico in forno a microonde (3x5 min a 750 W)	Abcam (ab33682)	1:200	ImmPRESS® Polymer kit (Vector laboratories)
MAC387	Istiociti/macrofagi		DAKO	1:50	
IBA1/AIF1	Istiociti/macrofagi		Millipore (WABN92)	1:400	
Citocheratine	Cellule epiteliali		Abcam (ab9377)	1:100	
Vimentina	Cellule mesenchimali		Abcam (ab45939)	1:100	

Tabella 1: Indagini immunoistochimiche; dettagli tecnici.
Table 1*: Immunohistochemistry; technical details.*

RISULTATI

1. ***Prevalenza dell'enfisema intestinale al macello***

Nella fase iniziale dello studio, sono stati osservati in totale 27 casi di EI, pari all'1.75% dei suini esaminati. Il numero di casi di EI/partita variava da 1 a 4 (media = 2.25).

Successivamente, è stato osservato un unico caso di EI sui 411 suini esaminati, a fronte di 119 animali con lesioni polmonari riferibili a polmonite enzootica.

2. ***Indagini istopatologiche, istochimiche e immunoistochimiche***

La presenza di cisti nello spessore della mucosa è stata evidenziata solo in 3 suini e in numero piuttosto esiguo, variabile da 2 a 15. Costante, invece, il coinvolgimento della sottomucosa, dove le cisti sono numerosissime (>50 per sezione tessutale) e talvolta di notevoli dimensioni, tanto da determinare l'atrofia da compressione delle tonache circostanti. La superficie interna delle cisti è delimitata da cellule di vario aspetto, spesso presenti contemporaneamente: simil-endoteliali, epitelioidi, giganti multinucleate tipo *Langhans* e tipo *Müller*. Inoltre, è di comune riscontro la presenza di veri e propri granulomi e di aggregati linfocitari nello spessore della sottomucosa e dei setti connettivali che delimitano le cisti. Più raro il riscontro di cisti gassose nella tonaca muscolare, localmente atrofica per l'azione compressiva esercitata dalle cisti. Il mesentere è il distretto anatomico di gran lunga più coinvolto, con presenza di un numero enorme, spesso difficilmente quantificabile di cisti gassose, le cui caratteristiche microscopiche non sono dissimili da quanto descritto per la tonaca sottomucosa.

Le indagini istochimiche (tricromica di *Masson*) dimostrano che i setti delimitanti le cisti – in particolare, quelle che impegnano la sottomucosa ed il mesentere – sono prevalentemente costituiti da tessuto connettivo fibroso (Figura 1A). Allo stesso livello, una marcata reazione fibrotica circonda alcuni granulomi, ben delimitati e ricchi di cellule giganti.

L'immunoistochimica dimostra che la parete delle cisti è costituita da cellule endoteliali linfatiche (immunoreattive per LYVE-1) e/o da macrofagi (immunoreattivi per vimentina, MAC387 e IBA1/AIF1) e cellule giganti multinucleate (immunoreattive per vimentina e IBA1/AIF1, incostantemente e debolmente reattive per MAC387; Figura 1B). Non rara l'osservazione di cellule macrofagiche e giganti immunoreattive nei confronti dello stesso marker LYVE-1, come pure l'interposizione di uno strato di cellule epitelioidi fra l'endotelio linfatico e il lume delle cisti. L'immunoistochimica nei confronti delle citocheratine marca intensamente le cellule dell'epitelio intestinale e quelle mesoteliali. Queste ultime sono talvolta in stretto contatto con la superficie delle cisti gassose e sembrano contribuire alla loro parete.

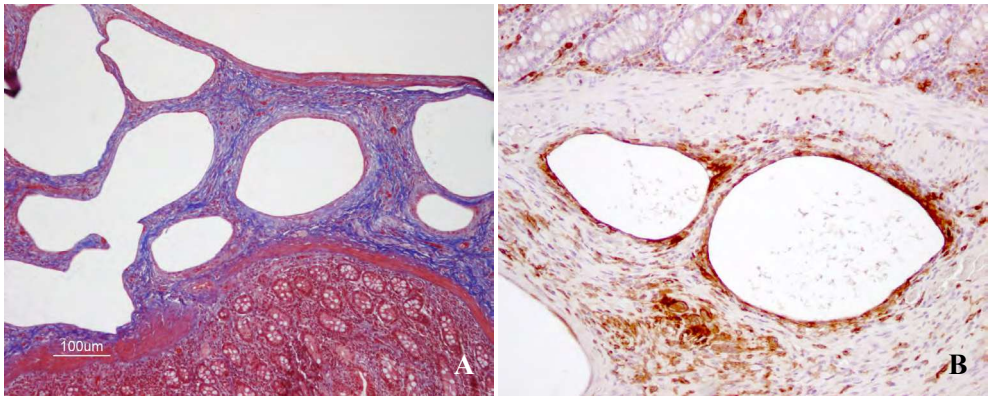


Figura 1. Enfisema intestinale. Indagini istochimiche e immunoistochimiche. (A) Presenza di numerose cisti nella tonaca sottomucosa, delimitate da setti connettivali (tricromica di *Masson*; ingrandimento finale x 100). (B) La parete di due cisti sottomucose è ricca di cellule immunoreattive per IBA1/AIF1. Lo stesso marker evidenzia un piccolo granuloma in prossimità delle cisti (immunoistochimica per IBA1/AIF1; ingrandimento finale x 200).

DISCUSSIONE

I risultati dello studio non intaccano la natura enigmatica dell'EI, la cui eziopatogenesi resta pressoché sconosciuta in patologia umana e veterinaria. Tuttavia, è possibile fare alcune considerazioni plausibili. Innanzitutto, le nostre indagini indicano che l'EI non è un riscontro ispettivo rarissimo, sebbene spesso ignorato e/o interpretato erroneamente.

In patologia umana è contemplata la cosiddetta "teoria polmonare", secondo la quale l'EI insorgerebbe secondariamente a broncopneumopatie croniche ostruttive, caratterizzate in sequenza dall'aumento della pressione all'interno dei sacchi alveolari, dalla rottura degli stessi e dall'infiltrazione di aria nell'interstizio polmonare, nel mediastino, nello spazio retroperitoneale e, infine, nel mesentere e nella parete intestinale (Di Pietropaolo *et al*., 2019; Ling *et al*., 2019). I dati raccolti e qui presentati non supportano alcuna relazione fra le patologie respiratorie e l'insorgenza di EI nella specie suina. Più verosimile l'insorgenza di EI a seguito di enteriti ad eziologia infettiva ("teoria batterica"), che siano in grado di alterare la permeabilità mucosale, così favorendo l'assorbimento di gas.

Le indagini immunoistochimiche supportano l'ipotesi che le cisti si sviluppino all'interno dei vasi linfatici. In tal senso andrebbero interpretate la loro distribuzione anatomica – prevalentemente a carico della tonaca sottomucosa e mesentere, dove più fitta è la rete di vasi linfatici – e la dimostrazione (seppure incostante) di elementi endoteliali LYVE-positivi. Di fatto, i risultati ottenuti concordano ampiamente con quanto riportato da Cui *et al*. (2014) nell'uomo: "*la teoria linfatica è molto probabilmente valida…e i vasi linfatici sono il percorso comune per il trasporto di gas in diverse condizioni in cui l'integrità della mucosa intestinale è compromessa*".

Infine, da sottolineare la presenza costante e pronunciata di infiammazioni a carattere granulomatoso, in stretta associazione con le cisti. Come osservato e discusso anche in patologia umana, è difficile stabilire se le reazioni granulomatose siano la causa o l'effetto della distensione gassosa dei vasi linfatici (Cui *et al*., 2014). Ad ogni modo, esse rappresentano un aspetto microscopico davvero pronunciato e caratteristico in corso di EI, tale da giustificarne l'inserimento in una futura definizione condivisa.

BIBLIOGRAFIA

1. Azzaroli F., Turco L., Ceroni L., Galloni S.S., Buonfiglioli F., Calvanese C., Mazzella G. (2011) "Pneumatosis cystoides intestinalis". World J Gastroenterol. 17(44):4932-6.
2. Cui C., Li L., Wu L., Wang X., Zheng Y., Wang F., Wei H., Peng J. (2023) "Paneth cells in farm animals: current status and future direction". J Anim Sci Biotechnol. 14(1):118.
3. Di Pietropaolo M., Trinci M., Giangregorio C., Galluzzo M., Miele V. (2020) "Pneumatosis cystoides intestinalis: case report and review of literature". Clin J Gastroenterol. 13(1):31-36.
4. Ling F., Guo D., Zhu L. (2019) "Pneumatosis cystoides intestinalis: a case report and literature review". BMC Gastroenterol. 19(1):176.
5. Marcato P.S. (1998), "Patologia suina" 1a ed., Bologna, Edagricole.

VALUTAZIONE DELL'ERUZIONE DELLA DENTIZIONE DECIDUA COME PARAMETRO ANIMAL BASED MEASURE PER LO SVEZZAMENTO NEI SUINETTI

ASSESSMENT OF DECIDUOUS TEETH ERUPTION AS ANIMAL BASED MEASURE FOR WEANING AGE IN PIGLETS

RAINERI S.[1], GAZZOLA A.[1], TONNI M.[1], ARIOLI E.[2], SANTUCCI V.U.[3], CASTELLUCCIO D.[3], SANTUCCI G.[1], SCALI F.[1], LORENZI V.[1], OSSOLA M.[1], VENTURA S.[1], DILIO G.[1], ALBORALI G.L.[1], MAGISTRALI C.F.[1], VEZZOLI F.[1], MAISANO A.M.[1]

[1]Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna (IZSLER) Bruno Umbertini;
[2]Libero professionista;
[3]Ministero della Salute

Parole chiave: denti, suinetti, svezzamento
Key words: teeth, piglets, weaning

Riassunto
Lo studio analizza l'eruzione della dentizione decidua nei suini ibridi commerciali, con l'obiettivo di identificare parametri cut-off per allo svezzamento. L'indagine, condotta in sala necroscopica su 327 carcasse provenienti da 72 allevamenti lombardi, ha preso in esame i denti incisivo 1 mascellare (i^1 max), premolare 3 mandibolare (p_3 mand) e premolare 4 mascellare (p^4 max). Le osservazioni sono state suddivise in quattro gruppi, sulla base dell'età degli animali: suinetti sottoscrofa <21 giorni, suinetti 21-28 giorni, svezzati >28 giorni fino a 10 settimane e suini all'ingrasso oltre le 10 settimane. I risultati evidenziano che nei suinetti <21 giorni i^1 max e p_3 mand sono presenti rispettivamente nel 42% e nel 12% dei soggetti, mentre p4 max è assente. Nei suinetti 21-28 giorni, p^4 max è presente nel 55%, i^1 max nel 100% e p_3 mand nel 98%. Per i suinetti >28 giorni e i suini oltre le 10 settimane, tutti i denti sono presenti nel 100% dei casi. Questi dati suggeriscono che solo a partire dai 28 giorni, età prevista dalla Direttiva 2008/120/CE per lo svezzamento, la dentizione è pienamente sviluppata per supportare l'alimentazione solida. Studi precedenti, come quelli di Tonge e McCance (1973), indicavano tempi di eruzione più precoci rispetto agli anni '70, con p3 e p4 presenti alla nascita. Tuttavia, nei suini moderni l'eruzione risulta posticipata, probabilmente a causa di cambiamenti genetici e gestionali. Questo ritardo potrebbe influenzare l'età di svezzamento, considerando che i suinetti iniziano a consumare alimenti solidi intorno ai 20-21 giorni di età. Un aspetto esplorato riguarda le differenze sessuali nell'eruzione dentale. Studi come quello di Tucker e Widowski (2009) indicano che nelle femmine di razza Yorkshire l'eruzione di incisivi e premolari avviene più precocemente rispetto ai maschi. Tuttavia, nel presente studio, tali differenze non sono state confermate per gli ibridi commerciali, nonostante percentuali leggermente superiori nelle femmine per alcuni denti. Lo studio sottolinea la necessità di ulteriori approfondimenti, includendo variabili come genetica, numero di parto e peso dei suinetti. Tuttavia, i risultati indicano che l'eruzione dentale può rappresentare un parametro oggettivo per stimare l'età e valutare la preparazione al cambio alimentare. Questo approccio potrebbe supportare una gestione sostenibile e conforme alle normative europee, garantendo il benessere animale e ottimizzando le performance produttive.

Abstract
The study examines the eruption of deciduous dentition in commercial hybrid pigs, aiming to identify potential cut-off parameters for weaning. Conducted in a necropsy room on 327 carcasses from 72 Lombardy farms, the investigation analysed the maxillary incisor 1 (i^1 max), mandibular premolar 3 (p_3 mand), and maxillary premolar 4 (p^4 max). Observations were categorized into four age groups: piglets <21 days, piglets 21–28 days, weaned piglets >28 days up to 10 weeks, and growing pigs over 10 weeks. The findings show that in piglets <21 days, i^1 max and p_3 mand are present in 42% and 12% of cases, respectively, while p4 max is absent. Among piglets aged 21–28 days, p^4 max is present in 55%, i^1 max in 100%, and p_3 mand in 98% of cases. For piglets >28 days and pigs over 10 weeks, all analysed teeth are present in 100% of observations. These results suggest that only from 28 days onward, which is the age defined by Directive 2008/120/EC for weaning, the dentition is sufficiently developed to support solid feeding. Previous studies by Tonge and McCance (1973) reported earlier eruption times, with p3 and p4 already present at birth. However, in modern pigs, teeth eruption appears delayed, likely due to genetic and management changes. This delay could impact weaning age, considering that piglets typically start consuming solid feed at around 20–21 days of age. The sexual differences in tooth eruption was also investigated, suggesting that the eruption of incisors and premolars occurs earlier in females than in males in Yorkshire breeds (Tucker and Widowski (2009)). In our study, we did not observe significant differences for commercial hybrids, despite slightly higher eruption rates in females for some teeth. Our study highlights the need for further research, including variables such as genetics, parity, and piglet weight. Nevertheless, the findings indicate that tooth eruption can serve as an objective parameter to estimate age and assess readiness for dietary transitions. This approach could support sustainable management practices that comply with European regulations, ensuring animal welfare and optimizing productive performances.

INTRODUZIONE

Il benessere animale negli allevamenti rappresenta una tematica di crescente importanza, sia per l'opinione pubblica che per la comunità scientifica. Negli ultimi decenni, l'attenzione verso la tutela degli animali si è progressivamente rafforzata, influenzando le scelte di consumo e orientando i mercati verso prodotti etici e sostenibili. Tale sensibilità riflette una consapevolezza diffusa circa il valore del benessere animale, considerato non solo un imperativo etico, ma anche un elemento chiave per la qualità dei prodotti derivati da queste filiere (Alonso et al., 2020). In particolare, la domanda dei consumatori si concentra su modelli produttivi che rispettino standard elevati di benessere in ogni fase del ciclo produttivo, evidenziando come questo aspetto stia diventando una componente determinante nelle preferenze di mercato.

Tra le diverse fasi dell'allevamento, lo svezzamento rappresenta un momento cruciale per la salute e il benessere degli animali, essendo considerato uno degli eventi più stressanti nel loro ciclo di vita. Nei suinetti, questa fase comporta numerosi cambiamenti fisiologici e comportamentali che aumentano significativamente il rischio di patologie infettive. Queste ultime possono compromettere le prestazioni produttive e causare gravi perdite economiche per gli allevatori (Campbell et al., 2013). La gestione dello svezzamento richiede quindi un approccio integrato che tenga conto non solo delle esigenze produttive, ma anche del benessere animale. In tale contesto, la preparazione fisiologica dei suinetti diventa un aspetto essenziale per affrontare con successo questa transizione. Uno dei fattori determinanti per il superamento dello stress da svezzamento è rappresentato dalla dieta, che riveste un ruolo cruciale nello sviluppo della dentizione. Quest'ultima è fondamentale per consentire ai suinetti di adattarsi al nuovo regime alimentare e ottenere prestazioni produttive ottimali (Campbell et al., 2013; Wensley et al., 2021). La ricerca scientifica ha evidenziato che l'eruzione completa dei premolari nei suinetti di età superiore ai 21 giorni è associata a migliori performance produttive, riducendo al contempo lo stress legato alla fase di svezzamento (Tucker et al., 2009). Nella pratica degli allevamenti intensivi, tuttavia, la necessità di ottimizzare l'utilizzo degli

spazi nelle sale parto porta spesso a ridurre i tempi di permanenza dei suinetti con le scrofe. Questo aspetto può generare criticità, poiché uno svezzamento precoce può aggravare lo stress degli animali e aumentare la loro suscettibilità alle malattie. Per mitigare tali effetti, numerosi studi si sono concentrati sull'identificazione di strategie alimentari e gestionali che facilitino la transizione, minimizzando l'impatto negativo sul benessere degli animali. Sul fronte normativo, la direttiva europea 2008/120/CE stabilisce che i suinetti non possano essere svezzati prima del ventottesimo giorno di vita, se non in casi specifici. L'eccezione è rappresentata da allevamenti dotati di strutture adeguate, in cui è possibile svezzare i suinetti a partire dal ventunesimo giorno. Pertanto, la stima accurata dell'età degli animali durante lo svezzamento risulta fondamentale per garantire il rispetto delle normative e il benessere animale. A tale scopo, il centro di referenza europeo per il benessere dei suini (EURCAW pigs) ha proposto un metodo indiretto basato su indicatori legati alla riproduzione delle scrofe. Tuttavia, questa metodologia presenta alcune limitazioni, poiché si basa principalmente su dichiarazioni degli operatori e non su misurazioni dirette sugli animali, rendendo difficile garantire la piena affidabilità dei dati raccolti. Un approccio più affidabile prevede l'utilizzo di parametri basati sull'osservazione diretta degli animali (animal-based measures, ABM), che consentono una valutazione oggettiva. I denti, ad esempio, rappresentano un indicatore particolarmente valido, grazie alla loro resistenza a fattori esterni e alla loro correlazione con lo sviluppo somatico e la maturazione sessuale (Garn et al., 1965). L'esame della dentizione, attraverso visite cliniche o ortodontiche, offre un metodo rapido, non invasivo e affidabile per stimare l'età dei suinetti, risultando meno influenzato da fattori esterni rispetto al peso corporeo (Garn et al., 1965). La dentizione del suino domestico comprende incisivi, canini, premolari e molari. La dentizione decidua, che include 28 denti, viene gradualmente sostituita dalla dentizione permanente, composta da 44 denti, entro i due anni di vita (Tonge and McCance, 1973). La letteratura scientifica sull'utilizzo della dentizione per stimare l'età nei suinetti è limitata e si concentra principalmente su razze pure, come il Large White (Tonge et al., 1965), lo Yorkshire (Tucker and Widowski, 2009), il maiale nero nigeriano (Okandeji et al., 2021) o gli incroci Large White x Landrace (Wenham and Fower, 1973). Studi condotti sui suini Yorkshire hanno mostrato che il premolare p3 erompe intorno al diciannovesimo giorno di vita, mentre il p4 emerge tra il ventitreesimo e il ventiquattresimo giorno (Tucker et al., 2010). Inoltre, l'occlusione iniziale tra p3 e p4 è stata osservata al ventesimo giorno (Tucker et al., 2010). Sono state identificate differenze significative nell'eruzione dentale tra maschi e femmine, con un anticipo medio nelle femmine rispetto ai maschi (Tucker e Widowski, 2009). Analogamente, variazioni sono state osservate tra razze diverse, indicando la necessità di ulteriori approfondimenti per comprendere meglio queste differenze (Okandeji et al., 2021). Nonostante queste informazioni, la maggior parte degli studi disponibili è stata condotta in contesti non europei e su razze pure, mentre la produzione suinicola europea si basa prevalentemente su ibridi commerciali con linee genetiche più complesse. Questa lacuna evidenzia l'urgenza di sviluppare ricerche specifiche applicabili al contesto europeo. La metodologia di valutazione della dentizione, tuttavia, appare facilmente trasferibile anche agli ibridi commerciali, offrendo un'opportunità per definire parametri oggettivi ("cut-off") utili a stimare con precisione l'età dei suinetti nella fase di svezzamento. L'obiettivo del presente studio è quello di proporre un protocollo standardizzato per la stima dell'età dei suinetti. Tale protocollo potrebbe rappresentare un passo avanti significativo nella gestione sostenibile degli allevamenti, garantendo uno svezzamento conforme alle normative europee e rispettoso della fisiologia degli animali. Un approccio di questo tipo non solo migliorerebbe il benessere degli animali, ma potrebbe anche contribuire a migliorare le prestazioni produttive e l'efficienza economica degli allevamenti, promuovendo al contempo una maggiore fiducia dei consumatori nei confronti dei prodotti di origine animale. In definitiva, l'implementazione di misure basate sulla dentizione come parametro oggettivo per la stima dell'età rappresenta una prospettiva promettente per migliorare la gestione del benessere animale negli allevamenti. La combinazione di osservazioni scientificamente standardizzate e protocolli pratici potrebbe contribuire a colmare le lacune attualmente presenti nella letteratura e nella pratica, favorendo lo sviluppo di sistemi produttivi sempre più sostenibili ed etici.

MATERIALI E METODI

Il presente lavoro è uno studio trasversale condotto in sala necroscopica, durante il quale sono state analizzate 327 carcasse di suini provenienti da 72 allevamenti lombardi. Gli animali sono stati conferiti presso le sedi di Lodi e Brescia dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia-Romagna. L'età di ciascun soggetto è stata determinata sulla base delle informazioni fornite dai conferenti, veterinari o allevatori. Successivamente sono state definite quattro categorie per classe di età, sulla base dei momenti critici nelle diverse fasi di allevamento: suinetti sottoscrofa < 21 giorni, suinetti sottoscrofa 21-28 giorni, suinetti svezzati >28 giorni fino le 10 settimane, suini all'ingrasso oltre le 10 settimane. L'esame ortodontico, condotto in sede anatomica, ha valutato esclusivamente la presenza o l'assenza di specifici denti, utilizzati come parametri per stimare l'età di svezzamento, in accordo con la letteratura (Tucker, 2010). La presenza di eventuali occlusioni è stata interpretata come assenza del dente. A livello mascellare, sono stati considerati l'incisivo 1 (i^1 max) e il premolare 4 (p^4 max), mentre per la mandibola è stato analizzato il premolare 3 (p_3 mand).\

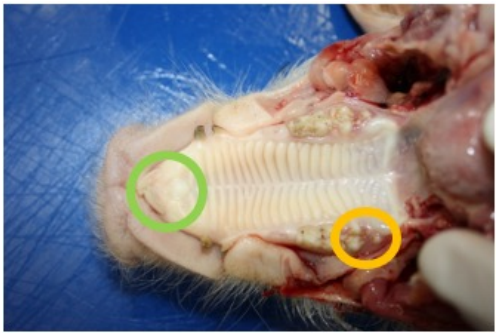


Figura 1

Figura 2

Mascella (figura 1) e mandibola (figura 2) di una carcassa di suinetto sottoposta a valutazione dei denti i^1 max (in verde), p^4 max (in giallo) e p^3 mand (in blu)

CATEGORIA	N° campioni
SUINETTO SOTTOSCROFA < 21 gg	60
SUINETTO SOTTOSCROFA 21-28 gg	49
SUINETTO SVEZZATO (> 28 gg fino a 10 sett.)	187
SUINI ALL'INGRASSO (da 10 sett - alla macellazione)	31
TOTALE CARCASSE	**327**

Tabella 1 - Suddivisione per classi di età delle 327 carcasse esaminate

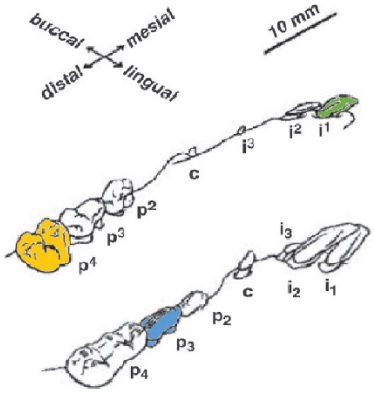


Figura 3 - schema dentizione decidua di un suinetto (Tucker, 2010 modificato). Sono stati evidenziati i denti interessati dalla valutazione

RISULTATI

I risultati ottenuti in questo lavoro hanno coinvolto 327 carcasse di suini ibridi commerciali. Le tabelle e i grafici riportati di seguito mostrano i dati di prevalenza e distribuzione nonché di significatività (test di Fisher), con i relativi intervalli di confidenza al 95%, delle eruzioni dei denti che sono stati definiti come possibili parametri valutativi per lo svezzamento dei suinetti. I dati riportati sono espressi accorpando le valutazioni effettuate sia sull'emiarcata destra che sinistra.

	ERUZIONE DENTALE								
CATEGORIA	**I1 MAX**	**± IC95%**	***p***	**P3 MAND**	**± IC95%**	***p***	**P4 MAX**	**± IC95%**	***p***
SUINETTO SOTTOSCROFA < 21 gg	42%	37-47%	*	10%	7-13%	*	0%	-	*
SUINETTO SOTTOSCROFA 21-28 gg	96%	94-98%		98%	96-100%		57%	52-62%	
SUINETTO SVEZZATO (> 28 gg fino a 10 sett.)	100%	-		100%	-		100%	-	*
SUINI ALL'INGRASSO (da 10 sett - alla macellazione)	100%	-		100%	-		100%	-	

*Tabella 2 – Prevalenza dell'eruzione dentale dei denti nelle diverse categorie con relativa significatività statistica - i^1 max = incisivo 1 mascellare; p3 MAND= premolare 3 mandibolare; p^4 max = premolare 4 mascellare - IC= intervallo di confidenza; *= p<0.05)*

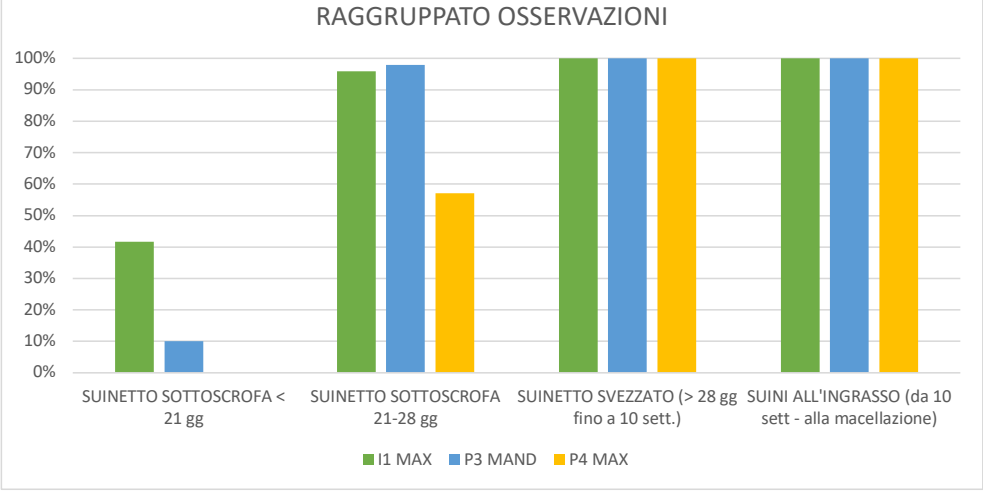


Grafico 1 - Distribuzione della prevalenza dell'eruzione dei denti nelle diverse categorie – i^1 max = incisivo 1 mascellare (I1); p3 MAND= premolare 3 mandibolare (P3); p^4 max = premolare 4 mascellare (P4)

		ERUZIONE DENTALE		
MASCHI	**N° campioni**	**I1 MAX**	**P3 MAND**	**P4 MAX**
SUINETTO SOTTOSCROFA < 21 gg	34	44%	6%	0%
SUINETTO SOTTOSCROFA 21-28 gg	27	96%	96%	63%
SUINETTO SVEZZATO (> 28 gg fino a 10 sett.)	101	100%	100%	100%
SUINI ALL'INGRASSO (da 10 sett - alla macellazione)	16	100%	100%	100%

Tabella 3 - Prevalenza dell'eruzione dentale dei denti suddivisi per sesso

		ERUZIONE DENTALE		
FEMMINE	**N° campioni**	**I1 MAX**	**P3 MAND**	**P4 MAX**
SUINETTO SOTTOSCROFA < 21 gg	26	38%	15%	0%
SUINETTO SOTTOSCROFA 21-28 gg	22	95%	100%	50%
SUINETTO SVEZZATO (> 28 gg fino a 10 sett.)	86	100%	100%	100%
SUINI ALL'INGRASSO (da 10 sett - alla macellazione)	15	100%	100%	100%

Tabella 4 - Prevalenza dell'eruzione dentale dei denti suddivisi per sesso

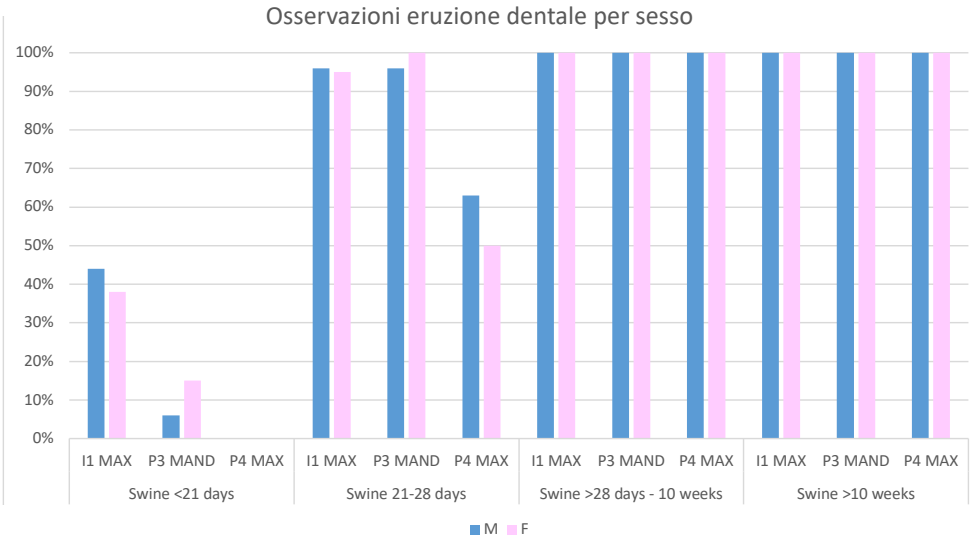


Grafico 2 - Distribuzione della prevalenza dell'eruzione dei denti nelle diverse classi di età suddivise per sesso – M=maschi, F=femmine

DISCUSSIONE

Questo studio si propone di analizzare l'eruzione della dentizione decidua nei suini ibridi commerciali, con l'obiettivo di identificare possibili parametri di riferimento (cut-off) utili allo svezzamento. In particolare, sono stati esaminati i denti incisivo 1 mascellare (i^1 max), premolare 3 mandibolare (p_3 mand) e premolare 4 mascellare (p^4 max), in continuità con un precedente studio longitudinale. Ricerche precedenti, come quella di Tonge e McCance (1973), hanno descritto lo sviluppo dentale nei suini di razze pesanti. Tuttavia, questi studi si sono limitati a osservazioni effettuate in intervalli specifici (alla nascita, a 4 settimane e a 4 mesi di età), senza distinguere tra dentatura mandibolare e mascellare. Altri autori, come Wenham e Fowler (1973), hanno riportato dati visivi privi di analisi statistiche riassuntive. Secondo Tonge e McCance, l'eruzione del dente i^1 avviene intorno al 93° giorno di gestazione, mentre i denti p_3 e p^4 sono già presenti alla nascita. Nel presente studio, però, nessuno di questi denti risultava presente alla nascita, suggerendo che nei suini commerciali moderni i tempi di eruzione dentale siano posticipati rispetto agli anni '70. Questo ritardo nell'eruzione potrebbe avere implicazioni rilevanti per l'età di svezzamento, considerando che il consumo di alimenti solidi composti, strutturati e grossolani nei suini commerciali inizia generalmente intorno ai 20-21 giorni di vita. Tra i 60 suinetti sottoscrofa di età inferiore a 21 giorni, l'eruzione completa di i^1 max e p_3 mand è stata osservata rispettivamente nel 42% e nel 10% dei soggetti, mentre il p^4 max era assente in tutti i campioni analizzati. Per i suinetti nella fascia 21-28 giorni, la presenza di p^4 max è stata registrata nel 57% dei casi su 49 animali osservati, mentre i^1 max era presente nel 96% e p3 mand nel 98%. Infine, per le categorie di suinetti di età superiore a 28 giorni fino a 10 settimane (n=187) e per i suini oltre le 10 settimane (n=31), tutti i denti analizzati erano presenti al 100%. Questi dati confermano ulteriormente il potenziale utilizzo di questi denti come strumento valutativo per stimare l'età di svezzamento. Tucker e Widowski (2009) hanno evidenziato differenze significative nell'eruzione dentale tra i sessi, osservando che, nella razza Yorkshire, le femmine tendono a essere più precoci rispetto ai maschi, con particolare riferimento all'eruzione dei premolari e degli incisivi. Nelle femmine, infatti, il p^4 max e l'i^1 max mostrano un'eruzione anticipata rispetto ai maschi. Nel presente studio, si è cercato di verificare tali differenze eseguendo test di significatività a supporto delle osservazioni. Come indicato dai dati percentuali di eruzione (tabelle 4 e 5, grafico 2), il p_3 mand nei suinetti <21 giorni era presente nel 6% dei maschi e nel 15% delle femmine, mentre il p^4 max nei suinetti tra 21 e 28 giorni mostrava un'eruzione nel 63% dei maschi e nel 50% delle femmine. Tuttavia, i test statistici (p_3 mand: p=0,9454; p^4 max: p=0,8312) non hanno rilevato differenze significative, indicando che per gli ibridi commerciali campionati in questo lavoro non è possibile confermare quanto riportato in altri studi. Sebbene il presente studio necessiti di ulteriori approfondimenti, in particolare per quanto riguarda variabili come la genetica, il numero di parto e il peso dei suinetti, i risultati ottenuti sono stati confermati tramite il test di Fisher e il test del Chi-quadrato. Questi test hanno evidenziato differenze significative nell'eruzione dentale tra i diversi gruppi di età. Considerando le date di svezzamento definite dalla Direttiva 2008/120/CE del Consiglio del 18 dicembre 2008, che stabilisce le norme minime per la protezione dei suini, emerge che per i suinetti di età inferiore a 21 giorni, età prevista per lo svezzamento precoce solo in siti specializzati, solo il 42% (25/60) dei suinetti presentava l'i^1 max e il 10% (6/60) il p_3 mand. ed in nessun caso era presente il p^4 max. Tra 21 e 28 giorni il 96% suinetti presentava l'i^1 max, il 98% il p_3 mand. e il 57% il p^4 max. Questi dati suggeriscono che, a questa età, la dentizione è solo parzialmente sviluppata per supportare il cambiamento alimentare richiesto nella fase di post-svezzamento. Al contrario, nelle classi di età superiori ai 28 giorni, che coincidono con la tempistica di svezzamento tradizionale prevista dalla normativa, tutti i denti analizzati (i^1 max, p_3 mand, p^4 max) erano presenti nel 100% degli individui osservati. Questi risultati evidenziano come una preparazione dentale completa, confacente fisiologicamente ad un'alimentazione

solida, sia fortemente legata all'età; difatti confermando l'appropriatezza del limite normativo per il benessere animale imposto a 28 giorni di vita o comunque da non effettuarsi mai al disotto dei 21 giorni di vita.

CONCLUSIONI

La definizione di "cut-off" di facile riscontro durante le operazioni di verifica all'interno degli allevamenti deve essere un obbiettivo da percorrere non solo per i veterinari ufficiali e aziendali ma anche per gli stessi allevatori, al fine di mantenere un elevato standard di benessere, ed un migliore management dei propri allevamenti. I risultati ottenuti nel presente studio suggeriscono che l'eruzione dentale possa rappresentare un parametro oggettivo per la stima dell'età dei suinetti, costituendo difatti un possibile strumento di controllo finalizzato a garantire sia il rispetto delle normative europee per la tutela del benessere animale che l'adeguatezza fisiologica dei suinetti allo svezzamento. Ulteriori indagini saranno necessarie ad ampliare sia la numerosità campionaria che le variabili analizzate al fine di porre maggiore validità ai risultati ottenuti in questo studio.

BIBLIOGRAFIA

1. Alonso, M. E., González-Montaña, J. R., & Lomillos, J. M. (2020). Consumers' concerns and perceptions of farm animal welfare. Animals, 10(3), 385.
2. Campbell, J.M., Crenshaw, J.D. & Polo, J. The biological stress of early weaned piglets. J Animal Sci Biotechnol 4, 19 (2013).
3. Garn, S. M., Lewis, A. B., & Kerewsky, R. S. (1965). Genetic, nutritional, and maturational correlates of dental development. Journal of dental research, 44(1), 228-242.
4. Tonge, C. H., McCance, R. A. (1973). Normal development of the jaws and teeth in pigs, and the delay and malocclusion produced by calorie deficiencies. Journal of anatomy, 115(Pt 1): 1–22
5. Tucker AL, Widowski TM (2009). Normal profiles for deciduous dental eruption in domestic piglets: effect of sow, litter, and piglet characteristics. J Anim Sci 87(7):2274-81.
6. Tucker AL, Duncan IJ, Millman ST, Friendship RM, Widowski TM (2010). The effect of dentition on feeding development in piglets and on their growth and behavior after weaning. J Anim Sci. 88(7):2277-88.
7. Wensley MR, Tokach MD, Woodworth JC, Goodband RD, Gebhardt JT, DeRouchey JM, McKilligan D (2021). Maintaining continuity of nutrient intake after weaning. II. Review of post-weaning strategies. Transl Anim Sci 5(1):1-16.
8. DIRETTIVA 2008/120/CE DEL CONSIGLIO del 18 dicembre 2008 che stabilisce le norme minime per la protezione dei suini.

CASO CLINICO: EPISODIO DI MORTALITÀ ACUTA PER AVVELENAMENTO IN UNO SVEZZAMENTO

PIERSANTI F.[1], LEPRI E.[2], MANUALI E.[1], CIUTI F.[1], BRISCOLINI S.[1], CUCCO L.[1], SIMONI E.[1], PANICCIA' M.[1], GUGLIOTTA A.[3]

[1] Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati";
[2] Università degli Studi di Perugia - Dipartimento di Medicina Veterinaria;
[3] Dvm, Gruppo Martini Spa

INTRODUZIONE

Lo scopo del presente report è descrivere un episodio di mortalità, protratta nell'arco di 15 giorni, verificatosi in un gruppo di lattoni in un sistema multisito di svezzamento. L'azienda in questione presentava un tasso di mortalità elevato, con decessi registrati principalmente nei lattoni di circa 40 giorni di età. A seguito della segnalazione di mortalità sospetta, il veterinario aziendale ha eseguito esami anatomopatologici su alcuni esemplari, evidenziando la presenza di ulcere gastriche ed esofagee.

Durante un'ispezione approfondita dell'azienda, è stato riscontrato l'uso improprio di pasticche di Tricloro isocianurato al 90%, inserite nel reattore dell'ozono del sistema di depurazione delle acque di abbeverata. Le acque sono state inviate per analisi all'ARPA UMBRIA, e nel frattempo, sono stati inviati ulteriori capi morti all'IZSUM per eseguire approfondimenti diagnostici.

Il Tricloro isocianurato, una sostanza chimica ampiamente utilizzata come disinfettante, può rilasciare derivati disciolti in acqua, i quali, secondo la letteratura scientifica, sono stati identificati come responsabili di danni significativi alla salute umana e animale. In particolare, sono descritti come causa di infiammazione acuta delle mucose e delle vie respiratorie (occhi, naso, faringe, laringe, trachea e bronchi), con sintomi che includono irritazione delle mucose, tosse, difficoltà respiratorie, raucedine e dispnea (Benjamin et al., 1997; Couto et al., 2021). Le lesioni più comuni, riscontrate in diversi studi, colpiscono principalmente le alte e basse vie respiratorie, con congestione vascolare e infiltrazione neutrofilica nel parenchima polmonare. Inoltre, sono stati osservati danni a carico dell'encefalo, con congestione capillare-venosa e segni marcati di edema, e ai reni, con congestione della corteccia e della midollare renale e focolai di nefrite interstiziale (Wiergowski et al., 2018; Watkins et al., 2021).

In numerosi studi autoptici di ustioni chimiche, è stato riscontrato che la mucosa esofagea e quella gastrica presentano una discromia tipicamente grigio-nera, segno distintivo di un'ustione chimica da Tricloro isocianurato (Adventier et al., 2014).

Questa relazione si propone quindi di analizzare l'episodio di mortalità, esaminando le cause possibili e correlando gli effetti tossici del Tricloro isocianurato con le lesioni riscontrate nei soggetti deceduti.

DESCRIZIONE

Il caso clinico in oggetto si è verificato nel mese di marzo 2024 in un sito di svezzamento da circa 10.720 lattoni all'interno di un gruppo integrato. L'episodio ha interessato due capannoni, con una capienza di circa 6.500 lattoni; se storicamente la mortalità media della struttura ruotava intorno al 5%, nell'evento in questione la mortalità totale è stata di 1392 capi, salendo così al 21,41%. I capannoni in oggetto si trovavano nelle vicinanze del sistema di disinfezione dell'acqua di abbeverata; mentre i capannoni non coinvolti si trovavano a circa 500 metri di distanza.

I lattoni, di 28 giorni di vita, arrivavano da un'unica scrofaia positiva per PRRS, ma stabile, e venivano regolarmente vaccinati contro il Micoplasma e Circovirus. Il periodo di permanenza nel sito durava circa 60 giorni, fino a un peso massimo di 35 kg. Prima della partenza, veniva effettuato un richiamo vaccinale per Micoplasma e PRRS. I lattoni venivano trattati principalmente per forme enteriche con amminosidina in acqua, per streptococcosi con amoxicillina e, per via parenterale, con sulfamidico e trimetoprim. L'alimentazione degli animali era suddivisa in due fasi specifiche in base all'età. L'acqua veniva disinfettata mediante un reattore per la produzione di ozono. Tuttavia, a seguito di una mancata riduzione dei coliformi, si erano attuate misure di controllo grazie al trattamento dell'acqua come indicato da uno specialista per rimuovere il biofilm dalle tubature.
Quando si è verificato l'episodio di mortalità, la situazione sanitaria appariva buona, con i lattoni che pesavano circa 10 kg e non ricevevano trattamenti farmacologici.
Gli esami anatomopatologici di prima istanza, svolti dal veterinario aziendale, sui soggetti morti hanno evidenziato diverse lesioni a carico del tratto digerente. In particolare, nell'esofago è stata riscontrata una completa erosione dell'epitelio, con ulcere profonde e lineari a margini netti e irregolari che occupavano circa il 20% della superficie. Lo stomaco presentava muco e sangue parzialmente digerito (gastrorragia), con mucosa gastrica iperemica e ulcere rotondeggianti e multifocali, anch'esse con margini netti e irregolari, che coinvolgevano circa il 5% della superficie esposta (fig.1). Si evidenziava anche meteorismo intestinale e lieve epatomegalia con colorazione bruno-giallastra. In generale, le lesioni osservate descrivevano un quadro erosivo-ulcerativo acuto a carico di stomaco ed esofago, in un contesto di diffusa iperemia.
Un sopralluogo in azienda ha evidenziato delle carenze manageriali e ha portato alla scoperta di pasticche di Tricloro isocianurato al 90% all'interno di una vasca di accumulo e distribuzione dell'acqua di abbeverata, associata a un impianto di depurazione ad ozono. L'analisi delle acque, eseguita dall'ARPA UMBRIA, ha evidenziato una concentrazione di cloriti di 1282 mg/L, ben oltre il limite massimo consentito di 700 mg/L. Gli operatori aziendali hanno riportato anche sintomi di arrossamento e irritazione agli occhi e alle vie aeree superiori, suggerendo un'esposizione acuta a sostanze chimiche.
Poiché il quadro anatomopatologico non risultava immediatamente riconducibile a una condizione patologica specifica, sono state poste in diagnosi differenziale con altre patologie comuni nella suinicoltura.
Nei giorni successivi, sono stati conferiti all'Istituto Zooprofilattico Umbria e Marche alcuni lattoni deceduti per ulteriori approfondimenti diagnostici, tra cui esami batteriologici, virologici (per la ricerca di PRRSv e PCV2), e istologici sui vari organi. Macroscopicamente i soggetti esaminati non mostravano lesioni analoghe ai primi soggetti, mentre l'esame istologico ha rivelato lesioni interstiziali linfocitarie nei polmoni, nell'encefalo, nel fegato e nel muscolo cardiaco. Inoltre, a carico dei reni è stata riscontrata una glomerulonefrite membranosa cronica segmentale moderata con proteinuria, mentre lo stomaco presentava una gastrite linfoplasmacitica ulcerativa multifocale cronica grave. I risultati hanno evidenziato la presenza di Streptococcus suis, PRRSv e PCV2, potenzialmente associati ad alcune lesioni istologiche osservate (flogosi interstiziale linfocitaria multi organica).
La nostra supposizione diagnostica ha ipotizzato una sequenza che ha visto in un primo momento la morte degli animali come conseguenza dell'azione caustica sulle mucose prodotta dai cloriti, seguita da una scia di decessi legata ad avvelenamento da cianuri, in cui sono assenti lesioni macro e microscopiche.

DISCUSSIONE

Le lesioni osservate non erano immediatamente attribuibili ad agenti infettivi comuni del suino, soprattutto in un contesto endemico, poiché la severità e l'aspetto acuto delle lesioni

suggerivano un danno citotossico acuto, che generalmente non è associato alle infezioni croniche tipiche di una condizione endemica.
La salmonellosi, ad esempio, tipicamente si manifesta con enterocoliti ulcerative, ma non è associata alla presenza di ulcere gastriche o esofagee, rendendo improbabile il coinvolgimento di Salmonella in questo caso. Lo stesso vale per le infezioni da *E. coli*, che potrebbero causare ulcere in una forma setticemica; tuttavia, in un contesto epidemiologico simile, queste ulcere sarebbero accompagnate da lesioni sistemiche evidenti, le quali non sono presenti nei soggetti in esame.
L'infezione virale da *Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome* (PRRS), che colpisce solitamente l'apparato respiratorio e riproduttivo, non è tipicamente associata a lesioni a carico dell'apparato digerente. Pertanto, le lesioni gastrointestinali acute riscontrate nei soggetti deceduti non erano compatibili con una patologia virale come la PRRS.
Una condizione che potrebbe essere presa in considerazione è la sindrome dell'ulcera gastroesofagea suina, che è frequentemente riscontrata nei suini, solitamente di età post-svezzamento o nei magroni. Tuttavia, questa sindrome di solito presenta un andamento cronico e le lesioni si limitano principalmente alla porzione esofagea dello stomaco, con formazione di fessurazioni lineari che possono confluire fino a coinvolgere la quasi totalità della pars esofagea. Le ulcere gastriche o esofagee riscontrate in questo caso non erano compatibili con la tipica presentazione della sindrome dell'ulcera gastroesofagea, poiché la distribuzione multifocale delle lesioni e la localizzazione alla mucosa ghiandolare non corrispondevano alla patologia descritta.
Un'altra possibile causa per la formazione di lesioni ulcerative è rappresentata dagli infarti venosi del fondo dello stomaco, che si manifestano come aree di colore rosso cupo con erosioni superficiali. Queste lesioni sono generalmente associate a una patogenesi vascolare indotta da agenti infettivi, endotossici o tossici. Tuttavia, la distribuzione e l'estensione delle lesioni osservate nei soggetti in esame rendevano improbabile questa patogenesi. Sebbene in alcuni soggetti le lesioni presentassero un aspetto compatibile, la loro gravità e l'estensione delle stesse le rendevano poco plausibili come infarti venosi. Tali lesioni, inoltre, si inseriscono in un contesto sistemico di tipo setticemico, caratterizzato da lesioni in altri organi ed apparati (petecchie emorragiche, splenomegalia, versamenti cavitari).
Una causa non comune di ulcerazione gastroesofagea è rappresentata dal contatto con sostanze di natura tossica, in particolare quando queste siano dotate di potere caustico e necrotizzante. Le lesioni osservate, in particolare quelle con margini di colore bruno-verdastro, sono fortemente suggestive del contatto con una sostanza caustica, che potrebbe aver indotto iperemia ed erosione superficiale delle mucose gastriche ed esofagee. La gravità delle lesioni e il loro aspetto morfologico indicano che la causa principale potrebbe essere il contatto con una sostanza caustica e irritante, che ha provocato il danno osservato.
Bisogna sottolineare che il cloro venendo a contatto con l'acqua ricca di ozono nel reattore incontra un ossidante più forte e viene decomposto in sottoprodotti a valenza ossidativa superiore come cloro gas (fortemente irritante anche per gli operatori) ed in sottoprodotti nocivi quali cloriti e clorati.
In aggiunta il cloro utilizzato è stato il tricloro isocianurato alla concentrazione del 90%. Prodotto non alimentare ma da piscina, che in presenza di ozono, se in concentrazione massiccia, oltre ai derivati del cloro, di cui sopra, può generare i velenosissimi cianurati.

Figura 1: Ulcera gastrica

Figura 2: Gastrorragia

In conclusione, alla luce del contesto epidemiologico e delle osservazioni anatomopatologiche, le lesioni riportate nei soggetti esaminati erano verosimilmente riconducibili al contatto con una sostanza tossica ad azione caustica. Questo tipo di esposizione sembrava essere la causa principale del danno gastroesofageo acuto riscontrato nei lattoni deceduti.
Nei primi lattoni inviati presso l'Istituto Zooprofilattico la ricerca era mirata solo ad escludere malattie infettive denunciabili, nei lattoni consegnati in un secondo tempo non erano più presenti le ulcerazioni lungo il tratto digerente ma dagli esami istologici dei reni si poteva ipotizzare l'avvelenamento da cianuri.

BIBLIOGRAFIA

1. Advenier AS, Dorandeu A, Charlier P, Lorin de la Grandmaison G. Microscopic acute lesions after caustic exposure. Forensic Sci Int. 2014 Jan; 234:57-63. doi: 10.1016/j.forsciint.2013.10.039. Epub 2013 Nov 12. PMID: 24378303.
2. Benjamin E, Pickles J. Chlorine-induced anosmia. A case presentation. J Laryngol Otol. 1997 Nov;111(11):1075-6. doi: 10.1017/s0022215100139386. PMID: 9472582.
3. Couto M, Bernard A, Delgado L, Drobnic F, Kurowski M, Moreira A, Rodrigues-Alves R, Rukhadze M, Seys S, Wiszniewska M, Quirce S. Health effects of exposure to chlorination by-products in swimming pools. Allergy. 2021 Nov;76(11):3257-3275. doi: 10.1111/all.15014. Epub 2021 Jul 30. PMID: 34289125.
4. Watkins R, Perrott R, Bate S, Auton P, Watts S, Stoll A, Rutter S, Jugg B. Development of chlorine-induced lung injury in the anesthetized, spontaneously breathing pig. Toxicol Mech Methods. 2021 May;31(4):257-271. doi: 10.1080/15376516.2021.1906808. PMID: 33929275.
5. Wiergowski M, Sołtyszewski I, Sein Anand J, Kaliszan M, Wilmanowska JA, Jankowski Z, Łukasik M. Difficulties in interpretation when assessing prolonged and subacute exposure to the toxic effects of chlorine. J Forensic Leg Med. 2018 Aug; 58:82-86. doi: 10.1016/j.jflm.2018.05.003. Epub 2018 May 8. PMID: 29775917.

PUNTEGGIATURA DELLE LESIONI CAUDALI DEL SUINO: CONCORDANZA FRA OSSERVATORI AL MACELLO E SU IMMAGINI DIGITALI

SCORING TAIL LESIONS IN PIGS: INTER-RATERS' AGREEMENT AT SLAUGHTER AND ON DIGITAL PICTURES

GOLUNOVA E.,[1] ROMANO A.,[2] LUISE D.,[1] GRAZIOSI M.V.,[1] BERNABÒ N.,[3] PETTINELLA S.D.,[4] CAPOBIANCO DONDONA A.,[4] MARA' M.,[2] MARRUCHELLA G.,[2] TREVISI P.[1]

[1]Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum-Università di Bologna;
[2]Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Teramo;
[3]Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università di Teramo;
[4]Farm4trade s.r.l., Atessa (CH).

Parole chiave: morsicatura della coda, punteggiatura, macello
Key words: *tail biting, scoring, slaughterhouse*

Riassunto

La morsicatura della coda è un problema frequente negli allevamenti suini, con ripercussioni importanti su benessere, salute e redditività aziendale. Nel corso degli anni, sono stati sviluppati vari sistemi di punteggiatura delle lesioni caudali. Tuttavia, la variabilità fra gli osservatori è spesso elevata e difficile da gestire. L'obiettivo di questo studio è valutare la concordanza tra osservatori, applicando un sistema semplificato di *score* delle lesioni riferibili a morsicatura della coda nei suini al macello.

Alle indagini hanno preso parte 4 osservatori indipendenti, che hanno esaminato le code al macello (n = 1893) o su immagini digitali (n = 1798), utilizzando un sistema di *score* semplificato: assenza di lesioni (punteggio 0); cicatrici, lesioni superficiali, lievi alterazioni del profilo della punta della coda (punteggio 1); lesioni profonde, fratture/lussazioni, perdita parziale o completa della coda (punteggio 2). Infine, è stata valutata la concordanza (coefficiente k di *Cohen*) inter- e intra-osservatori.

All'ispezione *post mortem* al macello, in media il 63,9% delle code è stato classificato come sano, il 22.5% ha ricevuto punteggio 1 e il 12,7% ha ricevuto punteggio 2. Complessivamente, il coefficiente k di *Cohen* è stato pari a 0.680; lo stesso coefficiente, calcolato a coppie tra gli osservatori, variava tra 0.771 e 0.848.

Valutando le immagini digitali, in media l'87.16% delle code è stato classificato come sano, il 5.22% ha ricevuto punteggio 1 e il 7.61% è stato classificato con punteggio 2. Complessivamente, il coefficiente k di *Cohen* è stato pari a 0.521; lo stesso coefficiente, calcolato a coppie tra gli osservatori, variava tra 0.536 e 0.778. Infine, la concordanza intra-osservatore è risultata complessivamente pari a 0.761 (coefficiente k di *Cohen*), variando tra 0.706 e 0.792.

I nostri dati indicano che standardizzare lo *score* delle lesioni della coda è un compito complesso, anche utilizzando metodi semplificati di punteggiatura. L'analisi delle immagini limita la rilevazione delle lesioni più discrete, invertendo così il rapporto tra punteggio 1 e 2. La consapevolezza delle difficoltà e della variabilità tra osservatori è fondamentale per ottenere dati robusti e comparabili.

Summary
Tail biting is common in pig farming and affects animal welfare, health, and farm profitability. Over the years, different scoring systems have been developed for tail lesions. However, variability among observers is often high and difficult to manage. The aim of this study is to assess the agreement between observers by applying a simplified scoring system for tail lesions in slaughtered pigs.
Four independent observers participated in the study, examining tails both at the slaughterhouse (n = 1893) and through digital images (n = 1798), using a simplified scoring system: absence of lesions (score 0); scars, superficial lesions, slight alterations in the tail tip profile (score 1); deep lesions, fractures/dislocations, partial or complete tail loss (score 2). Inter- and intra-observer agreement was assessed using Cohen's kappa coefficient.
At post-mortem, on average, 63.9% of tails were classified as healthy, 22.5% scored 1, and 12.7% scored 2. Overall, Cohen's kappa coefficient was 0.680, ranging between 0.771 and 0.848.
When evaluating digital images, on average, 87.16% of tails were classified as healthy, 5.22% scored 1, and 7.61% scored 2. Overall, Cohen's kappa coefficient was 0.521, ranging between 0.536 and 0.778. Intra-observer agreement was 0.761 (Cohen's kappa coefficient), ranging between 0.706 and 0.792.
Our data suggest that standardizing the scoring of tail lesions is a challenging task, even when using simplified scoring methods. Image analysis limits the detection of discrete lesions, thereby reversing the ratio between scores 1 and 2. Awareness of discrepancies between observers is essential to obtaining robust and comparable data.

INTRODUZIONE

La morsicatura della coda ("*tail biting*", TB) è un problema molto frequente negli allevamenti intensivi di suini, che può avere ripercussioni importanti sul benessere degli animali, sul loro stato di salute e sulla redditività aziendale. La caudectomia è stata a lungo praticata per prevenire/limitare il TB (Anonimo, 2007). Tuttavia, l'attuale normativa europea vieta il taglio di routine della coda, ammissibile qualora vi sia evidenza di lesioni riferibili a TB e siano state messe in atto altre misure manageriali per contenere il problema (Direttiva 2008/120/CE).
Le ispezioni al macello sono un valido strumento per valutare il benessere dei suini, offrendo una serie di vantaggi oggettivi: a) consentono la rapida osservazione di un numero elevato di animali; b) riducono il numero di visite aziendali e le relative implicazioni in termini di biosicurezza; c) le lesioni cutanee sono più visibili sulla carcassa rispetto al suino in allevamento (Carroll *et al*. 2016; van Staaveren *et al*. 2017). Nel corso degli anni, sono stati sviluppati e utilizzati vari sistemi di punteggiatura ("*score*") delle lesioni caudali (Amatucci *et al*., 2023; De Luca *et al*., 2021). Secondo Valros *et al*. (2020) lo *score* dovrebbe includere anche la misurazione della lunghezza della coda, ovviamente nel caso di suini non sottoposti a caudotomia.
In generale, standardizzare la punteggiatura delle lesioni è fondamentale per rendere possibile il confronto dei dati. D'altra parte, la variabilità fra gli osservatori – dovuta all'esperienza, alla sensibilità individuale, al livello di attenzione etc. – è spesso elevata e difficile da gestire (Blömke *et al*., 2020). L'obiettivo di questo studio è valutare il grado di concordanza tra osservatori, applicando un sistema semplificato di *score* delle lesioni riferibili a TB nei suini al macello.

MATERIALI E METODI

Punteggiatura delle lesioni caudali al macello

Le indagini sono state svolte presso un macello del centro Italia e le carcasse esaminate dopo passaggio nel vascone di scottatura, spazzolatura e flambatura. In totale, sono state esaminate 1893 carcasse, avendo la possibilità di manipolare la coda per visualizzarne tutte le sue componenti. Hanno preso parte allo studio 4 osservatori indipendenti, che hanno preliminarmente concordato di classificare le code come segue: assenza di lesioni (punteggio 0); cicatrici, lesioni superficiali, lievi alterazioni del profilo della punta della coda (punteggio 1); lesioni profonde, fratture/lussazioni, perdita parziale o completa della coda (punteggio 2).

Punteggiatura delle lesioni caudali su immagini digitali

In totale, sono state fotografate 1798 code, acquisendo tre immagini per ciascun suino (lato destro, frontale e lato sinistro) per una valutazione più dettagliata delle lesioni (Figura 1). Tutte le immagini sono state rese disponibili su un'apposita applicazione, che ha consentito di esprimere un punteggio complessivo per ciascun suino. Hanno preso parte allo studio 3 osservatori indipendenti, che hanno punteggiato le lesioni seguendo la griglia sopra specificata.

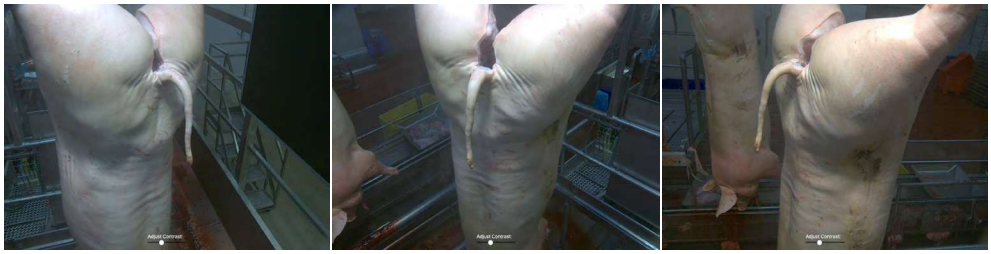


Figura 1. Esempio delle tre prospettive acquisite per ciascuna carcassa. Nel caso specifico, trattasi di un suino "a coda lunga", con lesioni profonde e perdita di sostanza (punteggio 2).
Figure 1*. Example of the three perspectives acquired for each carcass. In this case, it is a undocked-tailed pig, with deep lesions and tissue loss (score 2).*

Analisi statistica

I livelli di concordanza tra i diversi osservatori sono stati stimati calcolando il coefficiente k di Cohen. Inoltre, su 1373 carcasse è stato possibile valutare la concordanza intra-osservatore, mettendo a confronto i giudizi espressi sulle stesse code al macello e su immagini digitali.

RISULTATI

Punteggiatura delle lesioni caudali al macello

In media, il 63,9% delle code è stato classificato come sano dopo l'ispezione diretta al macello (intervallo 59.3-72.1%). Inoltre, il 22.5% delle code è stato classificato con punteggio 1 (intervallo 17,6-28%), mentre il 12,7% ha ricevuto punteggio 2 (intervallo 10.3-14.2%). Complessivamente, il coefficiente k di Cohen è stato pari a 0.680 ($p<0.001$); lo stesso coefficiente, calcolato a coppie tra gli osservatori, variava fra 0.771 a 0.848.

Punteggiatura delle lesioni caudali su immagini digitali

In media, l'87.16% delle code è stato classificato come sano (intervallo 81.9-91.6%), il 5.22% ha ricevuto punteggio 1 (intervallo 4.22-7.23%) e il 7.61% è stato classificato con punteggio 2 (intervallo 4.22-10.9%). Complessivamente, il coefficiente k di Cohen è stato pari a 0.521 ($p<0.001$); lo stesso coefficiente, calcolato a coppie tra gli osservatori, variava fra 0.536 a 0.778.

Infine, la concordanza intra-osservatore è risultata complessivamente pari a 0.761 (coefficiente k di Cohen), variando tra 0.706 e 0.792.

DISCUSSIONE

In accordo con quanto già riportato in letteratura (Blömke *et al*., 2020), i nostri dati indicano che standardizzare lo *score* delle lesioni della coda è un compito complesso, anche utilizzando metodi semplificati di punteggiatura. Ciò è dovuto principalmente alla frequente presenza di artefatti (ad esempio, abrasioni causate dalla spazzolatura) e alla variabilità nell'aspetto delle code tagliate. L'analisi delle immagini limita la rilevazione delle lesioni, specialmente quelle più discrete (ad esempio, cicatrici lineari), invertendo così il rapporto tra punteggio 1 e 2. La consapevolezza delle difficoltà e della variabilità tra osservatori è fondamentale per ottenere dati robusti e comparabili.

RINGRAZIAMENTI

Questo lavoro è stato realizzato nell'ambito e grazie al supporto del progetto "*TAILSCAN -Automatic and objective surveillance of short tails*" (Project: 101127986) finanziato da "*European Health and Digital Executive Agency (HaDEA)*".

BIBLIOGRAFIA

1. Amatucci L., Luise D., Luppi A., Virdis S., Prosperi A., Cirelli A., Bosco C., Trevisi P. "Evaluation of carcass quality, body and pulmonary lesions detected at the abattoir in heavy pigs subjected or not to tail docking". Porc Health Manag. 9:4.
2. Evaluation of carcass quality, body and pulmonary lesions detected at the abattoir in heavy pigs subjected or not to tail docking. Porc Health Manag. 2023; 9:4.
3. Anonimo (2007) "The risks associated with tail biting in pigs and possible means to reduce the need for tail docking considering the different housing and husbandry systems". The EFSA Journal 611:1-13.
4. Blömke L., Volkmann N., Kemper N. "Evaluation of an automated assessment system for ear and tail lesions as animal welfare indicators in pigs at slaughter". Meat Sci. 159:107934.
5. Carroll G.A., Boyle L.A., Teixeira D.L., van Staaveren N., Hanlon A., O'Connell N.E. "Effects of scalding and dehairing of pig carcasses at abattoirs on the visibility of welfare-related lesions". Animal 10(3):460-7.
6. De Luca S., Zanardi E., Alborali G.L., Ianieri A., Ghidini S. "Abattoir-Based Measures to Assess Swine Welfare: Analysis of the Methods Adopted in European Slaughterhouses". Animals 11(1):226.
7. Valros A., Välimäki E., Nordgren H., Vugts J., Fàbrega E., Heinonen M. "Intact Tails as a Welfare Indicator in Finishing Pigs? Scoring of Tail Lesions and Defining Intact Tails in Undocked Pigs at the Abattoir". Front Vet Sci. 7:405.
8. Van Staaveren N., Teixeira D.L., Hanlon A., Boyle L.A. "Pig carcass tail lesions: the influence of record keeping through an advisory service and the relationship with farm performance parameters". Animal 11(1):140-146.

STUDIO LONGITUDINALE DELLA CIRCOLAZIONE DEI VIRUS DELL'INFLUENZA SUINA IN DUE ALLEVAMENTI SUINI IN ITALIA

LONGITUDINAL STUDY OF THE CIRCULATION OF SWINE INFLUENZA VIRUSES IN TWO PIG FARMS IN ITALY

CHIAPPONI C.[1], PROSPERI A.[1], MORENO A.[1], MESCOLI A.[1], SOLIANI L.[1], DE MATTIA A.[1], TORREGGIANI C.[1], ZANNI, I.[1], GUADAGNINI G.[2], PONZONI D.[2], PILERI E.[3], LUPPI A.[1]

[1]*Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna (IZSLER);*
[2]*Libero professionista;*
[3]*CEVA Animal health*

Parole chiave: influenza A virus, studio longitudinale
Key words: influenza A virus, longitudinal study

Riassunto
La diversità genetica dei virus dell'influenza suina A (IAV-S) in Europa, con sottotipi come H1N1, H3N2, H1N2 e H1N1pdm09, rende difficile lo sviluppo di vaccini e solleva preoccupazioni sulla trasmissione da suino a uomo. IAV-S ha impatto anche nel settore suinicolo, richiedendo pratiche di gestione come vaccinazione e misure di biosicurezza. Il progetto ICRAD-PIGIE ha monitorato longitudinalmente la circolazione di IAV-S in due allevamenti suini italiani, a ciclo chiuso, campionando suinetti e scrofe in sala parto e in svezzamento. Un follow-up, ha valutato la circolazione di IAV-S dopo aver implementato strategie di vaccinazione, tra cui la vaccinazione di scrofe e suinetti. Abbiamo osservato la presenza di più ceppi di IAV-S nei due allevamenti, con virus come H1A.3.3.2N1 e H1C.2.4N2. L'immunità materna era talvolta inefficace nel prevenire le infezioni nei suinetti. Sulla base dei test HI, la diagnostica ha mostrato variabilità nel rilevare i ceppi. La diversità genetica dei ceppi riassortanti di IAV-S in Italia è stata confermata, con fonti esterne di trasmissione del virus che necessitano di ulteriori studi. Nonostante la vaccinazione e la dimostrazione di risposte anticorpali, non si è eradicata la circolazione virale, in particolare dei ceppi derivati dal lineaggio H1C.2.4 che necessitano di ulteriore attenzione.

Abstract
The genetic diversity of swine influenza A viruses (IAV-S) in Europe, with key subtypes like H1N1, H3N2, H1N2, and H1N1pdm09, makes vaccine development challenging and raises concerns about swine-to-human transmission. IAV-S also impacts the pork industry, necessitating management practices like vaccination and biosecurity measures. The ICRAD-PIGIE project monitored IAV-S circulation in Italian pig farms before and after a vaccination program. Two Northern Italian farrow-to-finish farms, with previous IAV-S infections, participated in a 2022 longitudinal study. Piglets and their sows were sampled across farrowing and nursery stages. A 2023 follow-up assessed IAV-S circulation after implementing different vaccination strategies on both farms, including sow and piglet vaccination. We examined the presence of multiple swine influenza strains on two farms, identifying strains such as H1A.3.3.2N1 and H1C.2.4N2. It found that maternal immunity was sometimes ineffective in preventing infections in piglets. Based on HI tests, diagnostics showed variability in detecting strains, raising concerns about specificity. Genetic diversity and reassortment of IAV-S strains in Italy were confirmed, with external virus transmission sources needing further study. While vaccination efforts showed responses, they did not eradicate viral circulation, especially of H1C lineage-derived strains

since broader antibody responses were detected but emerging H1C.2.4 strains need further attention.

INTRODUZIONE

La pandemia di influenza H1N1 del 2009 ha evidenziato il ruolo critico dei suini nell'ecologia e nell'evoluzione dei virus dell'influenza A, agendo ospite per il riassortimento genetico tra ceppi aviari e umani. I principali sottotipi di virus dell'influenza suina in Europa includono:

- H1N1 (H1avN1 o H1CN1): endemico dagli anni '70, ha una elevata complessità, e contribuisce alla diversità dei virus dell'influenza suina A.
- H3N2: Stabilitosi nei suini europei negli anni '70, ha subìto una significativa diversità genetica e si è riassortito con ceppi umani, con notevoli lineaggi che persistono a livello globale dagli anni '90.
- H1N2 (H1huN2 o H1BN2): Emerso dal riassortimento nei suini europei dagli anni '90 dai virus stagionali umani H1N1.
- H1N1pdm09 (H1AN1): Questo sottotipo, derivato dal lineaggio dell'influenza spagnola del 1918, si è affermato a livello globale nel 2009, continuando a circolare nell'uomo e a riassortirsi nei suini.

La prevalenza di questi sottotipi varia da regione a regione, influenzata dalle pratiche di allevamento, dai patogeni co-circolanti e dalle strategie di vaccinazione. La diversità genetica complica lo sviluppo dei vaccini e solleva preoccupazioni sulla trasmissione da suino a uomo, poiché gli attuali vaccini umani non cross-reagiscono con i ceppi suini circolanti. La sorveglianza continua nelle regioni ad alta diversità virale è fondamentale per monitorare l'evoluzione e valutare il rischio di pandemia. Le infezioni da IAV-S possono portare a impatti economici significativi nell'industria suina, richiedendo pratiche di gestione e programmi di vaccinazione per mitigare la diffusione. Il passaggio ad allevamenti di suini più grandi ha reso l'influenza suina endemica in molte aree del mondo, con un picco di infezioni in primavera e in inverno. Le misure di biosicurezza sono essenziali, poiché il virus si diffonde principalmente attraverso il contatto diretto e gli aerosol. Nel 2022, uno studio longitudinale autorizzato dal Ministero della Salute Italiano ha esaminato due allevamenti di suini lombardi inizialmente positivi a IAV-S nel 2020. L'azienda#1 era un allevamento a ciclo chiuso con 350 scrofe con gestione a bande trisettimanali con un settore parto, un reparto svezzamento e un reparto ingrasso.

L'azienda #2 era un allevamento a ciclo chiuso con 500 scrofe con gestione a bande trisettimanali con un settore parto, un reparto svezzamento e un reparto ingrasso.

- In entrambi gli allevamenti, l'unità da parto e le stanze di svezzamento erano gestite con un flusso *all-in-all-out*, ma nell'unità di ingrasso c'era un flusso continuo. All'inizio dello studio, nessuno degli allevamenti selezionati ha eseguito la vaccinazione antinfluenzale. Non c'è stata insufficienza riproduttiva o aborti, ma venivano riportato alcuni problemi respiratori, a volte con gravi segni clinici, circa 2 o 3 settimane dopo lo svezzamento. Durante questo periodo sono stati rilevati suini con viremia da PRRSV. Il periodo dello svezzamento era il periodo più critico in quanto la mortalità poteva raggiungere l'8%. Nell'unità di ingrasso, gli allevamenti hanno registrato perdite del 2%, soprattutto per diatesi emorragica instestinale (*Hemorrhagic Bowel Syndrome*) e zoppie. I suini da ingrasso sono stati venduti a 10 mesi di età a 175 kg di peso corporeo. Le scrofe sono state vaccinate con il vaccino PRRSV MLV ogni 3 mesi e durante l'allattamento con un vaccino per parvovirus, *Erysipelothrix rhusiopathiae* e leptospirosi. Durante il periodo di lattazione, i suinetti hanno ricevuto il vaccino contro il Mycoplasma e il vaccino contro il Circovirus allo svezzamento. La vaccinazione contro *Mycoplasma hyopneumonie* è stata ripetuta a 50 kg nell'unità di ingrasso con lo stesso vaccino monodose. Scopo del presente studio è stata una valutazione delle dinamiche di circolazione virale di IAV in due aziende, in gruppi di animali, in sala parto e durante lo svezzamento, prima e dopo un'implementazione della vaccinazione per influenza.

MATERIALI E METODI

2022 Campionamento longitudinale.

Lo screening virologico per IAV-S è stato condotto nel gennaio 2022, raccogliendo tamponi nasali da 33 suinetti in due lotti (batch) per ciascun allevamento. Il campionamento è avvenuto nell'unità parto e allo svezzamento, a circa 28 giorni e successivamente ogni due settimane. In occasione del primo e ultimo monitoraggio sono stati raccolti campioni di sangue.

Follow-up 2023

L'anno successivo allo studio longitudinale, i proprietari delle due aziende hanno implementato le vaccinazioni utilizzando approcci diversi in entrambi gli allevamenti. I campioni diagnostici sono stati raccolti e testati presso IZSLER per monitorare i patogeni respiratori virali e l'andamento delle vaccinazioni. Nel primo allevamento si è valutato l'impatto dell'immunizzazione delle scrofe sulla circolazione virale nella progenie, mentre nel secondo allevamento si sono valutati gli effetti della vaccinazione sia delle scrofe che dei suinetti.

L'azienda #1 ha condotto la vaccinazione antinfluenzale nelle scrofe, iniziando con una vaccinazione iniziale a tappeto utilizzando 2 ml di IM di Respiporc Flu 3 (CEVA), seguita da un richiamo tre settimane dopo. Un secondo richiamo è stato somministrato quattro mesi dopo, insieme a 1 ml di IM di Respiporc FluPan (CEVA) e un ulteriore richiamo tre settimane dopo. Una volta completate le vaccinazioni primarie, i richiami sono stati somministrati ogni tre mesi. Sono stati monitorati tre lotti di suinetti, a partire da tre settimane dopo la vaccinazione primaria delle scrofe. Un totale di 33 suinetti (3 suinetti da ciascuna delle 11 scrofe) sono stati campionati tramite tamponi nasali a 28 giorni (S1 - prima dello svezzamento), poi a 6 (S2), 8 (S3) e 10 (S4) settimane di età. I campioni di sangue sono stati raccolti anche durante il primo e il quarto campionamento.

Nell'azienda #2 sono stati monitorati 6 lotti di suinetti. Il primo gruppo (G0) comprendeva suinetti non vaccinati, mentre G3 e G4 comprendevano suinetti vaccinati con Respiporc Flu3+FluPan. Il G6 consisteva in un altro gruppo di suini non vaccinati, mentre il G7 e il G8 erano gli ultimi gruppi vaccinati. Un totale di 33 suinetti provenienti da 11 scrofe (3 suinetti/scrofa) sono stati campionati utilizzando tamponi nasali a varie età: 28 giorni (S1), 6 settimane (S2), 8 settimane (S3), 10 settimane (S4) e un ulteriore campione a 12 settimane (S5) per G2, G3 e G4. I campioni di sangue sono stati prelevati durante il primo e il quarto campionamento e i sieri sono stati raccolti in S5. Le 11 scrofe sono state campionate anche a S1.

Tabella 1: Schema di vaccinazione e campionamento dei lotti di suini dell'Azienda #2
Table 1: Vaccination and sampling scheme of pig batches from Farm #2

Vaccinazione	Id di vaccinazione (G) e id di campionamento (Batch)
NO	G0, **Batch1**
yes	G1 (no sampling)
yes	G2 (no sampling)
yes	G3, **Batch2**
yes	G4, **Batch 3**
NO	G5 (no sampling)
NO	G6, **Batch 4**
yes	G7, **Batch 5**
yes	G8, **Batch 6**

Test virologici.
L'RNA virale è stato estratto e la RT-PCR del gene M di IAV-S e la RT-PCR multiplex per tipizzare sono state eseguite su tamponi nasali, seguite dall'isolamento del virus e dall'analisi del genoma (Chiapponi, Chiara et al. 2021).
Test sierologici
I campioni di siero sono stati testati utilizzando NP ELISA (ID-VET ID Screen® Influenza A Nucleoprotein Swine Indirect) secondo le istruzioni del produttore. Il test di inibizione dell'emoagglutinazione (HI) è stato condotto con antigeni di routine (H1A3.3.2N1, H1B1.2.2N2, H1C.2.1N1, H3N2) e antigeni omologhi recuperati in azienda (Tabella 2). I campioni sono stati ritenuti positivi con titoli HI di 20 o superiori (WOAH. 2023).

Tabella 2. Antigeni utilizzati per i test sierologici per l'azienda #1 (a) e l'azienda #2 (b) nei campionamenti del 2022 e del 2023. I lineaggi genetici (Clades) di HA sono stati identificati secondo la nomenclatura di Anderson (Anderson, T. K. et al. 2016) con H1 subspecies classification. (https://www.bv-brc.org/app/SubspeciesClassification)
Table 2. Antigens used for serological tests for company #1 (a) and company #2 (b) in the 2022 and 2023 samplings. The genetic lineages (Clades) of HA have been identified according to Anderson's nomenclature (Anderson, T. K. et al. 2016) with H1 subspecies classification. (https://www.bv-brc.org/app/SubspeciesClassification)

(a)

ceppo		sottotipo	HA clade	test
Routine	A/swine/Italy/311368/2013	H1N1	H1C.2.1	HI 2022-2023
Routine	A/swine/Italy/284922/2009	H1N2	H1B1.2.2	HI 2022-2023
Routine	A/swine/Italy/282866/2013	H1N1	H1A3.3.2	HI 2022-2023
Routine	A/swine/Italy/311349/2013	H3N2	1970.1	HI 2022-2023
2022 Azienda#1	A/swine/Italy/91681-27/2022	H1N1	H1C2.5	HI 2022
2022 Azienda#1	A/swine/Italy/109125-1/2022	H1N1	H1A3.3.2	HI 2022
2022 Azienda#1	A/swine/Italy/75767-16/2022	H1N2	H1B1.2.2	HI 2022
2023 Azienda#1	A/swine/Italy/213602-2/2023	H1N2	H1C2.4	HI 2023
2023 Azienda#1	A/swine/Italy/296238-4 /2023	H1N2	H1C2.4	HI 2023

(b)

ceppo		sottotipo	HA clade	test
Routine	A/swine/Italy/311368/2013	H1N1	H1C.2.1	HI 2022-2023
Routine	A/swine/Italy/284922/2009	H1N2	H1B1.2.2	HI 2022-2023
Routine	A/swine/Italy/282866/2013	H1N1	H1A3.3.2	HI 2022-2023
Routine	A/swine/Italy/311349/2013	H3N2	1970.1	HI 2022-2023
2022 Azienda#2	A/swine/Italy/49701-6/2022	H1N2	H1C2.4	HI 2022
2022Azienda#2	A/swine/Italy/49701-24/2022	H1N1	H1C2.1	HI 2022
2022Azienda#2	A/swine/Italy/29548-31/2022	H1N1	H1A3.3.2	HI 2022
2023Azienda#2	A/swine/Italy/299242-4 /2023	H1N2	H1C2.4	HI 2023
2023 Azienda#2	A/swine/Italy/6097-4/2024	H1N2	H1C2.4	HI 2023

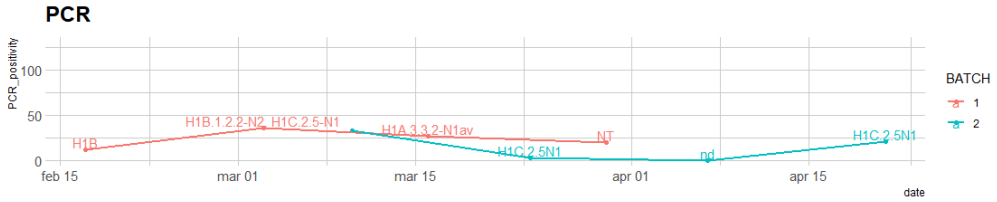
RISULTATI

Studio longitudinale 2022

L'azienda #1 ha mostrato più lineaggi H1 di IAV-S nel corso del tempo. I ceppi H1B1.2.2N2 erano presenti a gennaio e marzo 2022, seguiti da H1C.2.5N1 e H1A3.3.2N1 nel Batch1. I tassi di positività alla PCR dell'influenza sono stati del 12%-36% nel batch1 e del 3%-33% nel batch2 (Figura 1).

Figura 1. Percentuali di campioni positivi alla PCR nel batch 1 e nel batch 2 rilevati nel 2022 nell'azienda #1 (PCR). I sottotipi virali rilevati sono riportati per ogni campionamento (NT: positività rilevata, non tipizzabile, nd. non rilevato)

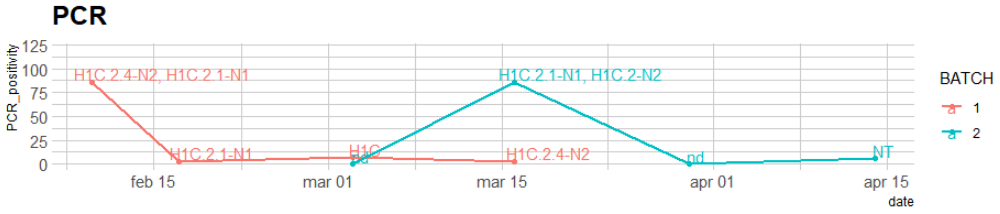
Figure 1. Percentages of PCR positive specimens in batch 1 and batch 2 detected in 2022 in company #1 (PCR). The viral subtypes detected are reported for each sampling (NT: positivity detected, not typable, nd. not detected)



Nell'azienda #2, sono stati inizialmente rilevati H1C.2.4N2 e H1A3.3.2N1, seguiti da H1C.2.1N1 e H1C.2.4N2 nelle infezioni miste. La positività alla PCR dell'influenza è stata dell'83%, 9%, 7% e 3% per il batch1 e dello 0%, 86%, 0% e 6% per il batch2 (Figura 2).

Figura 2. Percentuali di campioni positivi alla PCR nel Lotto 1 e nel Lotto 2 rilevati nel 2022 nell'Azienda #2 (PCR). I sottotipi virali rilevati sono riportati per ogni campionamento (NT: positività rilevata, non tipizzabile, nd. non rilevato).

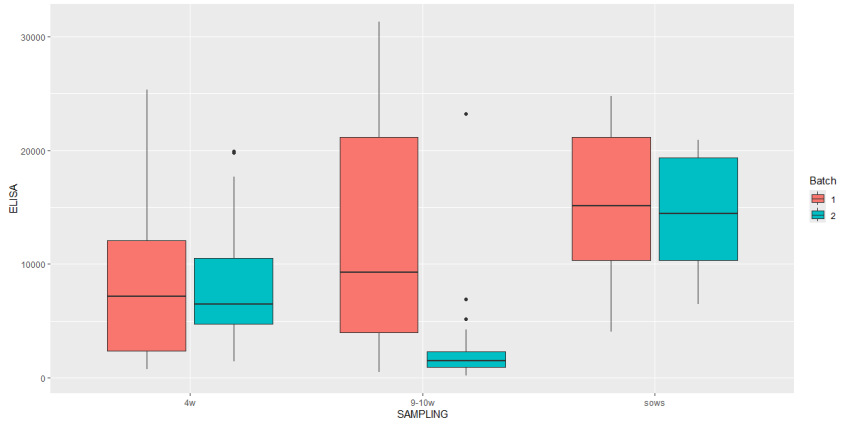
Figure 2. Percentages of PCR positive samples in Lot 1 and Lot 2 detected in 2022 in Farm #2 (PCR). The viral subtypes detected are reported for each sampling (NT: positivity detected, not typable, nd. not detected).



Risultati sierologici

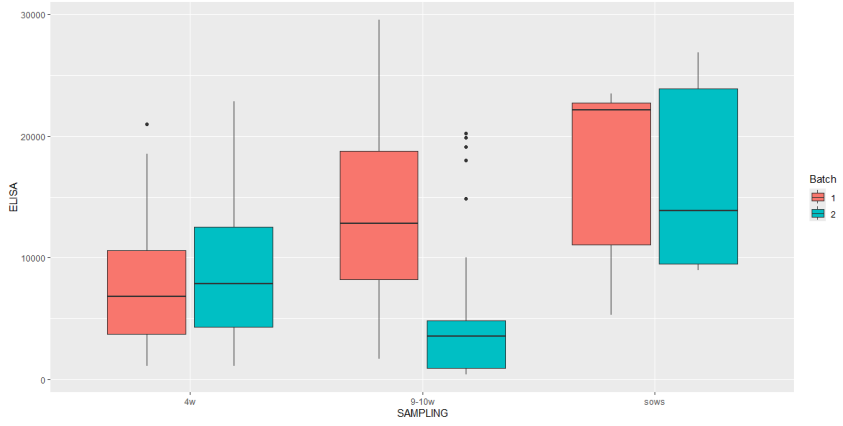
Nell'allevamento #1, il batch 1 ha mostrato che il 100% delle scrofe aveva anticorpi IAV, con il 91% e il 94% dei suinetti positivi all'ELISA nei campioni 1 e 4. Nel batch 2, tutte le scrofe e i suinetti erano positivi nel campionamento 1, ma solo il 70% dei suinetti era positivo nel campionamento 4, con titoli medi in calo (Figura 3).

Figura3. Titoli ELISA di sieri di suinetti rilevati ai due prelievi (4w and 9-10w) e di scrofe (sows) dei due lotti analizzati in azienda#1-2022.
Figure 3. ELISA titers of piglet sera (4w and 9-10w) and sow of the two batches analyzed on farm #1-2022.



Il test HI ha utilizzato 4 antigeni di routine e 3 antigeni omologhi di Azienda#1, tra cui H1C.2.1N1 e H1C2.5N1_2022. Le analisi hanno mostrato una diversa positività dei suinetti nel primo campionamento, mentre gli ultimi campioni non hanno mostrato sieroconversione. I ceppi omologhi hanno rivelato positività contro la variante H1C.2.5N1_2022 sia nei suinetti che nelle scrofe, che non è stata rilevata con il ceppo di routine H1C.2.1N1.
Presso l'Azienda #2, il batch 1 ha mostrato una positività anticorpale del 100% nelle scrofe, con il 93% dei suinetti positivi all'ELISA a 4 settimane e il 100% a 9-10 settimane. Nel batch 2, tutte le scrofe e i suinetti erano inizialmente positivi, ma solo il 69% dei suinetti è rimasto positivo nel campionamento finale con titoli bassi (Figura 4).

Figura 4. Titoli ELISA di suinetti rilevati ai due prelievi (4w and 9-10w) e sieri di scrofe (sows) dei due lotti analizzati in Azienda#2-2022.
Figure 4. Piglet ELISA titers (4w and 9-10w) and sow sera of the two batches analyzed on Farm#2-2022.



Gli antigeni HI testati includevano 4 antigeni di routine e 3 antigeni omologhi di Azienda#1 e Azienda#2. Le indagini hanno mostrato positività verso tutti e 4 i sottotipi in scrofe e suinetti. Il ceppo H1C2.1N1 del 2013 non era reattivo, mentre il ceppo Azienda#2 H1C2.1N1_2022 aveva più positivi. Inoltre, l'81% dei suinetti del batch#1 e il 93% del batch#2 hanno mostrato sieroconversione verso il virus H1C.2.4N2_2022.

Analisi genetiche 2022

Il sequenziamento dell'intero genoma di 83 campioni positivi per IAV-S ha rivelato più lineaggi H1 nei due allevamenti (H1N1 e H1N2) introdottesi negli allevamenti nel corso del tempo (Tabella 3). L'analisi filogenetica ha mostrato vari livelli di riassortimento, con ceppi collegati a recenti isolati provenienti da Italia e Danimarca (Chiapponi, Chiara et al. 2021).

Tabella 3. Le combinazioni genotipiche dei geni HA, NA, PB2, PB1, PA, NP, MP e NS sono state rilevate in questo studio negli allevamenti (1 e 2) nello studio del 2022 e nel follow-up nel 2023-2024. La definizione di sottoclade HA è stata definita nel https://www.bv-brc.org/ come descritto(Zhang et al. 2017)(Anderson, Tavis K. et al. 2021). I lineaggi NA sono stati assegnati come descritto (Watson, S. J. et al. 2015)(N2g Ghent-like; N2s, Scotland-like; It-N2; A/swine/Italy/4675/2003; N1av, avian-like A/swine/Italy/311368/2013. È stata aggiunta la nomenclatura alfabetica del genotipo (Watson, Simon J. et al. 2015; Henritzi et al. 2020; Chiapponi, C. et al. 2021).

Table 3. Genotypic combinations of the genes HA, NA, PB2, PB1, PA, NP, MP and NS were detected in this study in the farms (1 and 2) in the 2022 study and in the follow-up in 2023-2024. The definition of the HA subclade was defined in https://www.bv-brc.org/ as described (Watson, Simon J. et al. 2015; Henritzi et al. 2020; Chiapponi, C. et al. 2021).

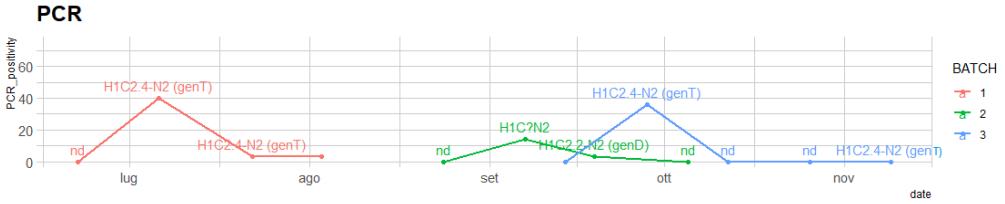
Anno	**Allevamento**	**Genotipo**								
		Nomenclatura	**HA**	**NA**	**PB2**	**PB1**	**PA**	**NP**	**MP**	**NS**
2022	1	F	1B.1.2.2	It-N2	av	av	av	av	av	av
		S*	1A.3.3.2	av	pdm	pdm	pdm	pdm	pdm	pdm
		A	1C.2.5	av	av	av	av	av	av	av
	2	S*	1A.3.3.2	av	pdm	pdm	pdm	pdm	pdm	pdm
		D	1C.2.4	N2g	av	av	av	av	av	av
		A	1C.2.1	av	av	av	av	av	av	av
2023-2024	1	D	1C.2.2	N2g	av	av	av	av	av	av
		T	1C.2.4	N2g	pdm	pdm	pdm	pdm	pdm	pdm
	2	35	1C.2.4	N2g	pdm	av	pdm	pdm	pdm	pdm
		D	1C.2.4	N2g	av	av	av	av	av	av

Follow-up del 2023

Dopo la vaccinazione in entrambi gli allevamenti, la situazione virologica è cambiata. Sono stati rilevati solo virus H1CN2, senza l'osservazione di ceppi H1A o H1B. Nell'azienda #1, IAV-S è stato trovato tra i suinetti da luglio a novembre 2023, identificando H1C2.4N2 (genotipo T) nei lotti 1 e 3, seguito dall'H1C2.2N2 (genotipo D) nel batch 2 (Figura 5).

Figura 5. Percentuali di campioni positivi alla PCR nel lotto 1-3 rilevati nel 2023 nell'azienda#1-2023 (PCR). I sottotipi virali rilevati sono riportati per ogni campionamento. Per distinguere i ceppi rilevati, nonostante lo stesso clade genetico H1, è stata aggiunta la nomenclatura alfabetica del genotipo (Watson, Simon J. et al. 2015; Henritzi et al. 2020; Chiapponi, C. et al. 2021).

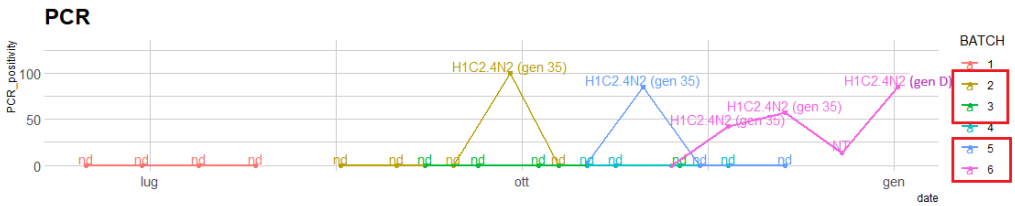
Figure 5. Percentages of PCR-positive samples in batch 1-3 detected in 2023 on farm#1-2023 (PCR). The viral subtypes detected are reported for each sampling. To distinguish the detected strains, despite the same H1 genetic clade, the alphabetical nomenclature of the genotype was added (Watson, Simon J. et al. 2015; Henritzi et al. 2020; Chiapponi, C. et al. 2021).



Nell'azienda #2, 3 dei 6 lotti di suinetti sono risultati positivi per IAV-S, in particolare i lotti 2, 5 e 6. Un ceppo H1C2.4N2 è stato prevalente da settembre a dicembre 2023, ed è stato rilevato un nuovo sottotipo nel gennaio 2024 con una positività dell'85% (Figura 6).

Figure 6. Percentuali di campioni positivi alla PCR nel lotto 1-6 rilevati nel 2023 nell'azienda #2 (PCR). I sottotipi virali rilevati sono riportati per ogni campionamento. Per distinguere i ceppi rilevati, nonostante lo stesso clade genetico H1, è stata aggiunta la nomenclatura alfabetica del genotipo (Watson, Simon J. et al. 2015; Henritzi et al. 2020; Chiapponi, C. et al. 2021). I lotti di suinetti vaccinati sono evidenziati in caselle rosse.

Figure 6. Percentages of PCR positive samples in batch 1-6 detected in 2023 in farm #2 (PCR). The viral subtypes detected are reported for each sampling. To distinguish the detected strains, despite the same H1 genetic clade, the alphabetical nomenclature of the genotype was added (Watson, Simon J. et al. 2015; Henritzi et al. 2020; Chiapponi, C. et al. 2021). Batches of vaccinated piglets are highlighted in red boxes.



Analisi genetiche 2023
L'analisi filogenetica dell'HA ha rivelato sottogruppi geneticamente distinti tra i ceppi di due allevamenti, con quattro ceppi circolanti (due per allevamento). In particolare, il genotipo 35 in Azienda#2 ha mostrato un nuovo pattern di riassortimento con geni interni di origine pandemica (Tabella 3).

Sierologia
Nell'azienda#1, le scrofe vaccinate hanno mostrato un'elevata reattività nei test ELISA e HI contro diversi ceppi. Questa immunità persisteva nei suinetti a 4 settimane, con positività osservata nel batch 3 a 9-10 settimane. La reattività è stata osservata contro due ceppi isolati, ma non si è verificata alcuna sieroconversione.
I dati sierologici in ELISA, dell'azienda#2, hanno mostrato una forte reattività nelle scrofe. L'immunità materna nei suinetti è diminuita a 9-10 settimane. La sieroconversione è stata osservata nel lotto 3 solo per il ceppo H1C.2.4N2-Gen35, mentre bassi titoli HI sono stati rilevati in 4 lotti, senza sieroconversione al campionamento successivo.

DISCUSSIONE
Gli studi longitudinali nel 2022 hanno identificato diversi lineaggi di influenza suina nei due allevamenti. In entrambi i casi sono stati osservati ceppi persistenti, ma non sono stati rilevati animali infetti in modo prolungato. Nonostante l'immunità materna, i suinetti si sono infettati ma, solo in un allevamento, è stata rilevata sieroconversione contro un ceppo H1C (H1C2.4N2). L'uso di virus omologhi in HI ha rivelato le varianti H1C.2.4 e H1C.2.5 e ha rilevato animali positivi precedentemente non rilevati.
Gli allevamenti studiati hanno mantenuto un ciclo chiuso senza introduzioni di nuovi animali, suggerendo la necessità di esplorare fonti di virus esterne, come la trasmissione aerea, il personale o la movimentazione dei mezzi. In particolare, in Italia non esiste un piano nazionale di sorveglianza IAV-S, il che rende difficile la comprensione del panorama epidemiologico.
Nel monitoraggio post-vaccinazione, la circolazione di ceppi H1N2 con emoagglutinina H1C.2.4, indica un'elevata fitness e una potenziale evasione immunitaria di questi lineaggi genetici. Se, da tipizzazione primaria, questi virus appartenevano tutti al sottotipo H1N2, l'analisi genetica ha mostrato grande diversità tra i virus, con ceppi distinti circolanti in ogni allevamento. Le scrofe vaccinate hanno dimostrato risposte robuste nei test HI contro vari ceppi confermando che i vaccini europei commerciali sono responsivi contro diversi ceppi. Tuttavia, le mutazioni nei siti antigenici della proteina H1 emoagglutinina possono portare ad una inferiore protezione, come nel caso del ceppo H1C2.4N2 che mostra una bassa reattività crociata, indicando potenziali lacune nella protezione contro i ceppi emergenti.

FINANZIAMENTI
Lo studio è stato finanziato da progetto ICRAD-PIGIE e da Ricerca Corrente PRC IZSLER 2020005.

BIBLIOGRAFIA
1. Anderson, T.K., Macken, C.A., Lewis, N.S., Scheuermann, R.H., Van Reeth, K., Brown, I.H., Swenson, S.L., Simon, G., Saito, T., Berhane, Y., Ciacci-Zanella, J., Pereda, A., Davis, C.T., Donis, R.O., Webby, R.J., Vincent, A.L., (2016). A Phylogeny-Based Global Nomenclature System and Automated Annotation Tool for H1 Hemagglutinin Genes from Swine Influenza A Viruses. mSphere 1: e00275–Dec.
2. Anderson, T.K., Chang, J., Arendsee, Z.W., Venkatesh, D., Souza, C.K., Kimble, J.B., Lewis, N.S., Davis, C.T., Vincent, A.L., (2021). Swine Influenza A Viruses and the Tan-

gled Relationship with Humans. Cold Spring Harb Perspect. Med. 11: a038737. doi: 10.1101/cshperspect.a038737.
3. Chiapponi, C., Prosperi, A., Moreno, A., Baioni, L., Faccini, S., Manfredi, R., Zanni, I., Gabbi, V., Calanchi, I., Fusaro, A., Beato, M.S., Cavicchio, L., Torreggiani, C., Alborali, G.L., Luppi, A., (2021). Genetic Variability among Swine Influenza Viruses in Italy: Data Analysis of the Period 2017-2020. Viruses 14: 10.3390/v14010047.
4. Chiapponi, C., Prosperi, A., Moreno, A., Baioni, L., Faccini, S., Manfredi, R., Zanni, I., Gabbi, V., Calanchi, I., Fusaro, A., Beato, M.S., Cavicchio, L., Torreggiani, C., Alborali, G.L., Luppi, A., (2021). Genetic Variability among Swine Influenza Viruses in Italy: Data Analysis of the Period 2017-2020. Viruses 14: 47. doi: 10.3390/v14010047.
5. Henritzi, D., Petric, P.P., Lewis, N.S., Graaf, A., Pessia, A., Starick, E., Breithaupt, A., Strebelow, G., Luttermann, C., Parker, L.M.K., Schroder, C., Hammerschmidt, B., Herrler, G., Beilage, E.G., Stadlbauer, D., Simon, V., Krammer, F., Wacheck, S., Pesch, S., Schwemmle, M., Beer, M., Harder, T.C., (2020). Surveillance of European Domestic Pig Populations Identifies an Emerging Reservoir of Potentially Zoonotic Swine Influenza A Viruses. Cell. Host Microbe .
6. Watson, S.J., Langat, P., Reid, S.M., Lam, T.T., Cotten, M., Kelly, M., Van Reeth, K., Qiu, Y., Simon, G., Bonin, E., Foni, E., Chiapponi, C., Larsen, L., Hjulsager, C., Markowska-Daniel, I., Urbaniak, K., Durrwald, R., Schlegel, M., Huovilainen, A., Davidson, I., Dan, A., Loeffen, W., Edwards, S., Bublot, M., Vila, T., Maldonado, J., Valls, L., ESNIP3 Consortium, Brown, I.H., Pybus, O.G., Kellam, P., (2015). Molecular Epidemiology and Evolution of Influenza Viruses Circulating within European Swine between 2009 and 2013. J. Virol. 89: 9920–9931.
7. Watson, S.J., Langat, P., Reid, S.M., Lam, T.T., Cotten, M., Kelly, M., Van Reeth, K., Qiu, Y., Simon, G., Bonin, E., Foni, E., Chiapponi, C., Larsen, L., Hjulsager, C., Markowska-Daniel, I., Urbaniak, K., Durrwald, R., Schlegel, M., Huovilainen, A., Davidson, I., Dan, A., Loeffen, W., Edwards, S., Bublot, M., Vila, T., Maldonado, J., Valls, L., ESNIP3 Consortium, Brown, I.H., Pybus, O.G., Kellam, P., (2015). Molecular Epidemiology and Evolution of Influenza Viruses Circulating within European Swine between 2009 and 2013. J. Virol. 89: 9920–9931.
8. WOAH, 2023. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.
9. Zhang, Y., Aevermann, B.D., Anderson, T.K., Burke, D.F., Dauphin, G., Gu, Z., He, S., Kumar, S., Larsen, C.N., Lee, A.J., Li, X., Macken, C., Mahaffey, C., Pickett, B.E., Reardon, B., Smith, T., Stewart, L., Suloway, C., Sun, G., Tong, L., Vincent, A.L., Walters, B., Zaremba, S., Zhao, H., Zhou, L., Zmasek, C., Klem, E.B., Scheuermann, R.H., (2017). Influenza Research Database: An integrated bioinformatics resource for influenza virus research. Nucleic Acids Res 45: D466–D474.

VALUTAZIONE NELLA SCROFA DEI PARAMETRI FISICI DELLA MAMMELLA E DELLE IMMUNOGLOBULINE COLOSTRALI IN UN'AZIENDA AD ELEVATO STATO SANITARIO

ASSESSMENT OF UDDER PHYSICAL PARAMETERS AND COLOSTRAL IMMUNOGLOBULINS IN SOWS ON A HIGH HEALTH STATUS FARM

CATELLANI G. [1], GALLI MC.[1], BRESCIANI C. [2], SCOLLO A. [3], MAZZONI C. [1]

[1]DVM, Suivet sas, Via Ernesto Che Guevara 55, 42123 Reggio Emilia, Italia;
[2]Dipartimento di Scienze Veterinarie, università di Parma, strada del Taglio;
[3]Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Torino, Grugliasco (TO);

Parole chiave: Immunoglobuline colostrali, refrattometro-Brix, termometro ad infrarossi
Key Words: Colostral immunoglobulins, Brix-refractometer, infrared thermometer

Riassunto
Nelle scrofe le caratteristiche del colostro sono soggette a variabili in funzione dell'ordine di parto o mammelle di provenienza. Lo studio ha valutato la qualità del colostro impiegando la temperatura corporea della scrofa, delle mammelle e le loro caratteristiche fisiche, con l'obiettivo di individuare corrispondenze tra questi parametri e prevenire e diagnosticare problematiche legate al trasferimento dell'immunità passiva. Ad ogni scrofa sono stati prelevati 0,3 ml di colostro, sia da mammelle craniali che da mammelle caudali, entro le 3 ore dal primo suinetto nato. Il secreto è stato esaminato impiegando un refrattometro Brix e tra le 5 e 12 ore dal prelievo del colostro, le scrofe sono state sottoposte ad esame clinico; anche i dati riguardanti lo svezzamento dei suinetti sono stati presi in considerazione. È emersa una relazione tra il grado di formazione delle mammelle e la temperatura corporea delle scrofe e le mammelle "arrossate" presentano bassi livelli di immunoglobuline, confermando l'influenza degli stati infiammatori mammari. Il livello di immunoglobuline era invariato confrontando il secreto delle mammelle craniali e caudali tra campioni di primipare e pluripare. I dati zootecnici dello svezzamento dei suinetti non hanno riportato alterazioni. Grazie all'impiego del termometro ad infrarossi è stato rilevato che la temperatura della mammella considerata era nei range quando associata ad una buona consistenza. Il termometro ad infrarossi ed il Brix si sono rivelati strumenti utili per un monitoraggio pratico, economico e precoce delle condizioni della mammella potendo così affiancare il professionista nella routine dell'attività di campo.

Abstract
In sows, colostrum characteristics are influenced by various factors, including parity and the mammary glands of origin. This study evaluated colostrum quality by assessing the sow's body temperature, mammary gland temperature, and their physical characteristics, aiming to identify correlations between these parameters and to prevent or diagnose issues related to passive immunity transfer. Each sow provided 0.3 ml of colostrum from both cranial and caudal mammary glands within 3 hours of the birth of the first piglet. The colostrum was analyzed using a Brix refractometer, and between 5 and 12 hours post-collection, the sows underwent clinical examination. Data on piglet weaning performance were also considered. The findings revealed a relationship between mammary gland

development and the sow's body temperature. Mammary glands showing redness had low immunoglobulin levels, confirming the impact of mammary inflammation..
The level of immunoglobulins was unchanged when comparing the secretion of the cranial and caudal udders between samples of primiparous and multiparous animals. The zootechnical data of the piglets at weaning did not show any alterations. Thanks to the use of the infrared thermometer, it was found that the temperature of the udder considered was within the range when associated with a good udder consistency. The infrared thermometer and the Brix have proven to be useful tools for practical, economic and early monitoring of the udder conditions, thus being able to support the professional in the routine of field activity.

INTRODUZIONE

Il colostro rappresenta il primo secreto prodotto dalle ghiandole mammarie e riveste un ruolo fondamentale per la sopravvivenza e lo sviluppo neonatale dei suinetti. La sua assunzione è indispensabile poiché garantisce tre benefici essenziali: trasferisce immunità passiva alla prole (Rooke & Bland, 2002), fornisce un apporto energetico cruciale per prevenire la sindrome ipoglicemia-ipotermia (Herpin et al., 2005; Le Dividich et al., 2005) e favorisce lo sviluppo intestinale attraverso la stimolazione di specifici fattori di crescita (Xu, 2003)
Esso è composto principalmente da proteine, per la maggior parte immunoglobuline G derivanti dal siero, in particolare 95.6 mg/ml di igG, 21,2 mg/ml di igA e 9,1 mg/ml di igM (Quesnel H at al., 2019), realizzando così la capacità di trasferire la protezione immunitaria passiva ai suinetti che lo ingeriscono.
Nei suini, il trasferimento delle immunoglobuline avviene solo per via orale, poiché la placenta epitelio-coriale impedisce il passaggio degli anticorpi durante la gravidanza.
Se l'assunzione del colostro avviene entro le prime tre ore di vita i neonati riescono ad acquisire la massima concentrazione di anticorpi possibile (Le Dividich et al., 2004), che invece si abbasserebbe assumendolo esclusivamente durante le ore successive, riducendosi della metà a 12h (Bland I.M. et al., 2003). La metodologia più classica per la misurazione delle immunoglobuline consiste nell'utilizzare il test Elisa in un laboratorio, sebbene Hasan et al, 2016 abbiano dimostrato come anche l'utilizzo in campo di un refrattometro portatile (Brix) dia risultati sovrapponibili. Paragonando infatti la quantità di mg/ml di Ig in laboratorio con la lettura del refrattometro in campo, il colostro può essere classificato di "livello basso" quando il valore del Brix è inferiore al 20%, "al limite" con letture Brix del 20%-24%, "adeguato" al 25%-29% e con un contenuto "molto buono" se superiori al 30%.
Non tutte le scrofe producono la stessa quantità di immunoglobuline e non tutte le mammelle la esprimono, esiste infatti una variabilità abbastanza elevata (Quesnel H et al., 2012) dovuta a genotipo, alimentazione ed ordine di parto. Risulta bene documentata la difficoltà da parte dei giovani riproduttori, scrofette in particolare, nel trasferire una adeguata quantità di immunoglobuline alla propria progenie che, in ogni caso, risulta minore rispetto alla stessa capacità delle scrofe più anziane (Friendhisp R.M. at al., 2015; Quesnel, 2011). Questa particolare condizione deriva dall'inevitabile minor tempo di contatto della scrofetta con gli antigeni aziendali durante la sua vita rispetto alle scrofe pluripare, tesi tuttavia che sempre più ricercatori stanno confutando (Ison S.H. at al., 2017; Kielland at al., 2019).
Un altro aspetto fondamentale che va a contribuire sulla qualità del colostro è lo stato delle mammelle. Fare una valutazione clinica di routine basata su ispezione e palpazione (Kaiser et al., 2020; Spiegel at al., 2022) permette di riconoscere una mammella sana: morbida ed elastica al tatto, non eccessivamente calda e non dolente, di colore rosato fatta eccezione

per i capezzoli di colore più scuro; essa produrrà colostro e latte di qualità e quantità maggiore, in quanto l'apparenza esterna rispecchia il corretto funzionamento degli alveoli all'interno della ghiandola mammaria.
Una mammella patologica affetta per esempio da mastite, che quindi avrà meno quantità di latte presente (Jeffrey J. Zimmerman et al. Diseases of Swine 11th edition, cap 6), apparirà inizialmente molto arrosata, edematosa, dolorante al tatto ed aumentata di volume fino a cronicizzarsi e diventare nodulosa.
Un metodo interessante e innovativo per diagnosticare precocemente una mastite è quello studiato da Rosengart et al. (2022), i quali grazie all'utilizzo di una termocamera ad infrarossi hanno assegnato ad ogni livello di severità della patologia un determinato grado di temperatura della mammella, rilevando come anche quella locale aumentasse significativamente; grazie a questo metodo in corso di sospetto di mastite o di carenza di colostro possiamo quindi andare a fare una diagnosi precisa e veloce in azienda, associandola ad una misurazione rettale per verificare un possibile coinvolgimento sistemico. La temperatura corporea dell'animale viene ritenuta adeguata nel postpartum fino a 39.5° C (Schmidt M. at al., 2013), valore che se si dovesse alzare andrebbe ad influenzare negativamente la produzione e la quantità di secreto in quanto il glucosio necessario per la produzione di latte (Zhang at al., 2018), verrebbe convertito in energia per sostenere il sistema immunitario e l'organismo durante il rialzo febbrile.

MATERIALI E METODI

Descrizione dell'azienda e della popolazione di studio

L'azienda aveva una consistenza numerica di circa 700 scrofe, di genetica ibrida olandese (T70 Topigs Norsvin®) con rimonta esterna, accasata con frequenza trimestrale in una struttura aziendale dedicata e debitamente separata dal resto dell'allevamento. Le scrofe dallo svezzamento al parto successivo seguivano un regolare flusso di movimentazione ottemperante alle normative vigenti in tema di benessere e biosicurezza
L'azienda veniva gestita in banda quadrisettimanale e lo svezzamento veniva effettuato con un particolare ritmo in cui il giorno dello svezzamento variava ad ogni banda, permettendo l'allungamento di 3-4giorni di lattazione ad ogni interparto. Lo stato sanitario del sito era definibile di "alto profilo" ed in particolare rogna negativo e virus della sindrome respiratoria e riproduttiva suina (PRRSv) negativo all'emosiero testicolare da 24 mesi.

Piano di campionamento

Il piano di campionamento, che si è svolto da aprile a giugno 2024, prevedeva la raccolta del colostro entro 3 ore dalla nascita del primo suinetto (Hasal et al., 2016). Per ogni scrofa erano stati prelevati due campioni, ognuno dei quali identificato con un numero associato alla scrofa e la sede del prelievo: 1 campione rappresentativo delle prime due mammelle craniali (di entrambe le linee mammarie), il 2 delle ultime due caudali (di entrambe le linee mammarie). Il colostro veniva raccolto fino a raggiungere un volume di almeno 0,3 ml, sufficiente per l'analisi con il refrattometro Brix.secondo quanto richiesto dalle istruzioni di utilizzo dello strumento (ATAGO®. *Digital Hand-held "Pocket" Refractometer, Cat. No. 3810*. 2020.). Il giorno stesso il colostro veniva valutato per il contenuto delle immunoglobuline nel laboratorio dell'allevamento.

Fra le 5 e le 12 ore successive alla raccolta del campione di colostro (nel pomeriggio per il parto della mattina o alla mattina successiva per i parti del pomeriggio) era stata svolta la valutazione clinica delle scrofe incluse nello studio, segnando su apposita scheda i seguenti parametri:

- Esaminazione di ogni singola mammella tramite ispezione e palpazione. Assegnazione di un punteggio da 0 a 2, secondo lo schema di Rosengart, et al., 2021 (Tabella 1);

Caratteristica	Score	Definizione
Grado di formazione	0	in lattazione, ben formata
	1	poco formata/in regressione
	2	non formata/senza produzione di latte
Arrossamento	0	colore fisiologico
	1	moderatamente arrossata
	2	molto arrossata
Consistenza	0	Elastica
	1	Rigida ma senza edema
	2	Dura e con edema
Presenza di noduli	0	Non presenti
	1	Noduli presenti nella cute/sottocute
	2	Noduli presenti nel parenchima mammario

Tabella 1 - *Parametri utilizzati per assegnare un valore alle mammelle delle scrofe*
Table 1 - *Parameters used to assign a value to sows' udders*

- Misurazione della temperatura della ghiandola mammaria tramite termometro a infrarossi, la misurazione è stata effettuata in entrambi i lati, con la scrofa possibilmente in piedi;
- Ordine di parto della scrofa;
- Informazioni cliniche: inappetenza, scolo vulvare purulento, riluttanza ad alzarsi ed eventuali informazioni cliniche rilevanti per lo studio.

Al termine della lattazione per ogni "covata" della scrofa prelevata erano stati inoltre segnati:
- Eventuale diarrea nella rispettiva covata durante la lattazione
- Numero di suinetti svezzati
- Numeri di suinetti tolti dalla covata dopo il pareggiamento (ritardatari)
- Numero di suinetti morti e causa della morte

Tutti i dati raccolti sono stati inseriti su un foglio di calcolo elettronico (Tabella 2)

Numero so	Banda	Parti	Sala	Ig cran	Ig caud	T° scro	T° mamm	Mammelle G.D.F	Mammelle G.D.	Mammelle arros.	Mammelle arros.	Mammelle cons.	Mammelle cons.	Noduli cr	Noduli c	Altro	Nati	SP	SD	A- N	SG	SD	DA
7011	2	2	12	26,9	26,6	38,5	36,7	1	0	2	2	1	1	0	0		16	0	2	0	0	0	0
14852	2	4	1	26,1	27,6	38,3	36,6	0	0	0	1	0	1	0	0	1 cpz caudale escoriato inut	13	0	0	0	0	0	0
8495	2	2	1	24,5	24,3	40,1	36,6	0	0	0	1	0	0	0	0		16	1	0	0	0	0	0
8395	2	2	4	27,1	26,9	38,6	36,7	2	0	1	1	0	1	0	0		18	1	0	0	0	0	0
13649	2	4	5	26,7	27,5	38,7	36,9	0	0	0	0	0	0	0	0	1 cpz craniale sovrannumer	23	4	0	0	0	0	0
19616	3	6	3	25,5	27,7	38,6	36,7	0	0	0	0	0	0	0	0		16	0	0	0	0	0	0
12453	3	1	14	23,6	22,8	39,4	36,9	1	1	1	1	1	1	0	0	poco latte mamm caudali	15	0	0	0	0	0	0
18810	3	6	1	23,4	24,9	39,4	37,3	1	1	0	0	0	0	0	0		14	0	0	0	0	0	0
12144	3	1	15	29	31,3	39,6	36,7	1	1	0	0	0	0	0	0	non mangia, poco latte mam	16	0	1	0	1	1	0
8976	3	2	6	23,6	24,1	39,5	37,2	1	1	0	0	0	1	0	0		9	0	3	0	0	0	0
9977	3	1	15	30,9	29,9	39,1	36,9	1	0	0	0	0	0	0	0	non mangia, edema e lacer	17	0	4	0	0	0	0
11758	3	5	11	24,6	24	38,8	36,6	1	0	0	0	0	1	0	0	ZM mamm caudali poco latt	11	0	0	0	0	0	0
12109	3	5	1	25,7	22,9	37,6	36,6	0	0	1	1	1	0	0	0	0	17	0	3	0	0	0	0
7019	3	3	2	25,6	26,6	39,2	36,7	0	1	0	0	0	0	0	0		17	1	3	0	0	0	0
12209	3	5	3	33,5	33	41,4	36,8	0	0	0	2	0	0	0	0	edema vulvare e poco latte i	15	0	3	0	0	0	0
17152	3	6	5	24,9		39,2	36,6	1	0	1	1	0	1	0	0	no latte mamm caudali	14	0	3	0	0	3	0
12505	3	1	15	25,6	24,5	38,7	36,7	1	0	1	1	1	0	0	0	edema vulvare	17	0	1	0	0	1	1
16552	3	3	3	21,6	22,6	39,2	36,6	0	1	2	2	1	1	0	0		18	0	0	0	0	0	0
12397	3	5	6	24	26	38	36,6	1	0	0	0	0	0	0	0	poco latte mamm caudali	14	0	3	0	0	0	0
6880	3	3	4	24	24,4	38,1	36,4	0	0	1	1	0	0	0	0	capezzoli non simmetrici	15	0	2	0	0	0	0
6980	3	2	6	22,7	18,2	39	36,6	1	0	1	1	0	1	0	0		14	2	0	0	0	0	0
6971	3	2	6	31,9	30,8	39,3	37,2	0	1	0	0	0	0	0	0	mangia poco e presenta cap	17	1	1	0	0	0	0
9004	3	2	12	23,4	23	38,7	36,7	0	0	0	1	0	0	0	0	non mangia	16	1	0	1	0	0	1
12533	3	1	15	24,6	23,5	39,6	36,7	1	0	1	1	1	1	0	0		15	1	1	0	0	0	0
6420	3	3	1	23,9	22,5	39,1	36,6	1	0	0	0	0	0	0	0	non mangia	21	0	0	0	5	0	0
12710	3	5	1			38,7	36,4	1	0	0	0	0	0	0	0	no latte	21	3	1	0	0	1	0
12457	3	1	13	25,3	26,3	39,2	36,7	1	1	0	0	0	0	0	0	mangia poco ed edema e la	20	1	1	0	0	0	0
8847	3	2	2	28,9	29,9	38,8	36,6	1	1	0	1	0	0	0	0		15	0	0	7	0	0	0
17065	3	7	7	28,3	25,8	39,2	37,3	0	1	1	2	0	0	0	1	capezzoli accessori	20	1	0	0	0	4	0
16389	3	3	7	31,8	32,1	38,8	37,4	0	0	0	0	0	0	0	0		16	0	0	0	0	3	0
19339	3	6	10	25,4	23,8	38,3	36,7	0	0	1	2	0	0	0	1	capezzoli non simmetrici	13	0	0	0	0	0	0
9049	3	2	6	26,1	27,4	39,2	37,2	0	1	1	0	0	0	0	0		15	1	0	0	0	0	0
32437	3	1	14	24,9	25,2	40,1	36,9	1	1	1	1	0	0	0	0		15	2	0	1	0	0	1
6933	3	3	2	25,5	24,6	39,6	36,3	0	1	1	1	0	0	0	0		20	2	0	0	0	1	0
14386	3	4	4	25,3	23,8	39	36,7	0	0	0	1	0	0	0	0		18	0	1	0	0	0	0
6934	3	2	2	26,1	28,6	39	36,6	0	1	0	0	0	0	0	0	poco latte	13	0	0	0	0	0	0
8956	3	2	2	31	29,2	39	36,4	1	0	0	1	0	2	0	2		12	7	0	0	0	2	0
19338	3	3	3	35,3		38,9	36,6	1	0	0	0	0	0	0	0	no latte mamm caudali	22	5	0	0	0	0	0

Tabella 2 - *Visualizzazione parziale del foglio di calcolo per l'analisi statistica.*
Table 2 *- Partial view of the spreadsheet for statistical analysis.*

Analisi statistica

Per l'analisi statistica dei dati ottenuti sono stati utilizzati test non parametrici (Kruskal-Wallis) dove la scrofa era l'unità sperimentale. Il software statistico utilizzato è stato XLSTAT 2022.2.1 (Lumivero™. Addison, TX, USA, 2022). Valori di probabilità inferiori a 0,05 sono stati utilizzati come criterio di significatività statistica, mentre valori inferiori a 0,10 sono stati considerati una tendenza.

RISULTATI

Il totale degli animali inseriti nella raccolta dati della prova, includendo tre bande consecutive, è di n. 82 soggetti.

Tuttavia, per l'esecuzione dei test statistici sui dati delle mammelle craniali e la quantità di immunoglobuline derivanti da esse sono stati esclusi 2 soggetti a causa di una quantità non sufficiente di secreto; con la stessa motivazione per l'analisi delle mammelle caudali e le rispettive immunoglobuline, sono stati esclusi 5 soggetti.

Il Grafico 1 mostra la correlazione negativa tra la temperatura della scrofa e il "grado di formazione delle mammelle caudali", in particolare su 77 campioni analizzati (Tabella 3), 26 (33.7%) si presentano con un punteggio del grado di formazione delle mammelle caudali corrispondente ad 1 (poco formata/in regressione,) e correlandolo alla temperatura rettale della scrofa è stata rinvenuta una differenza di significatività statistica (p=0,023). In questo contesto, pertanto, le scrofe con punteggio pari a 1 presentano una temperatura rettale aumentata rispetto a quelle con grado di formazione 0 (in lattazione/ben formata,)

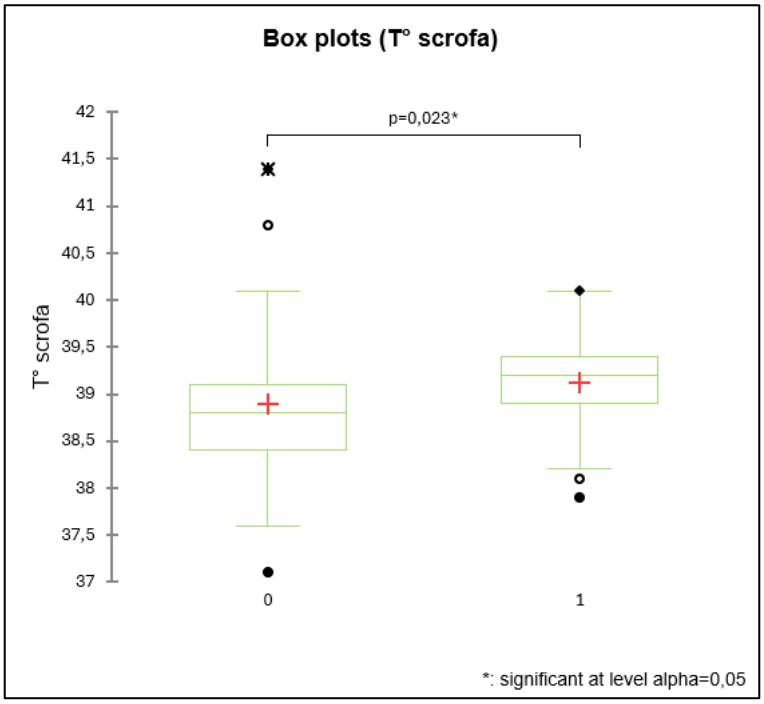


Grafico 1 - *La temperatura rettale della scrofa è maggiore con mammelle caudali aventi grado di formazione con punteggio 1 rispetto a quelle con punteggio 0*
Graph 1 - *The rectal temperature of the sow is higher with caudal breasts having degree of formation with score 1 than those with score 0*

Variabile	Punteggio	Soggetti	Frequenza	%
Mammelle G.D.F caudali	0	51	51	66,234
	1	26	26	33,766

Tabella 3 - *Dati utilizzati per l'analisi statistica sul grado di formazione delle mammelle caudali*
Table 3 - *Data used for statistical analysis on the degree of formation of caudal breasts*

Il Grafico 2 mostra la correlazione negativa tra il grado di arrossamento delle mammelle craniali e il livello di immunoglobuline nel colostro derivanti dalle stesse. Su 80 campioni analizzati (Tabella 4), 23 (28,7%) si presentano con un punteggio dell'arrossamento delle mammelle craniali corrispondente ad 1 (moderatamente arrossata,) e correlandolo al livello di immunoglobuline vi è una differenza di significatività statistica (p=0,014) evidenziando che tutte le scrofe con tale punteggio presentano livelli di immunoglobuline inferiori rispetto a quelle con punteggio di arrossamento pari a 0 (colore fisiologico,). Tale grafico mostra inoltre che i livelli di immunoglobuline delle scrofe con arrossamento 1 sono inferiori alle immunoglobuline di scrofe con punteggio 2.

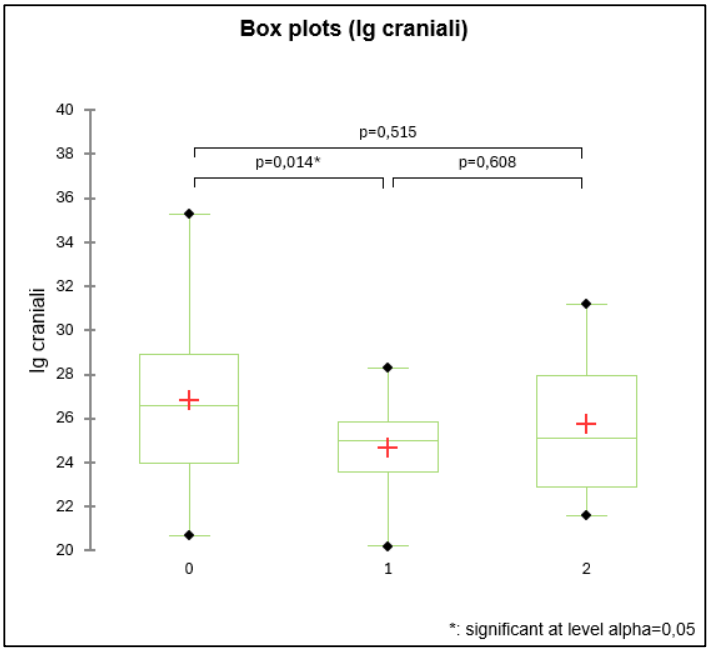


Grafico 2 - *Le mammelle craniali con punteggio 1 di arrossamento hanno livello di immunoglobuline minori rispetto a quelle di punteggio 0*
Graph 2 - *Cranial breasts with a redness score of 1 have lower immunoglobulin levels than those with a 0-score*

Variabile	Punteggio	Soggetti	Frequenza	%
Mammelle arros. craniali	0	53	53	66,250
	1	23	23	28,750
	2	4	4	5,000

Tabella 4 - *Dati utilizzati per l'analisi statistica sull'arrossamento delle mammelle craniali*
Table 4 - *Data used for statistical analysis on redness of cranial udders*

Il Grafico 3, mostra la correlazione tra il grado di consistenza delle mammelle craniali e la loro temperatura misurata a livello cutaneo con termometro infrarossi; su 80 campioni analizzati (Tabella 5), 57 (71,2%) sono quelle con consistenza pari a 0 (elastica,) e correlandolo alla temperatura misurata delle mammelle stesse vi è una differenza di significatività statistica (p=0,059) evidenziando che tutte le scrofe con punteggio pari a 0, presentano una temperatura cutanea della mammella minore rispetto a quelle di punteggio pari a 1 (rigida ma senza edema,) e punteggio 2 (dura e con edema).

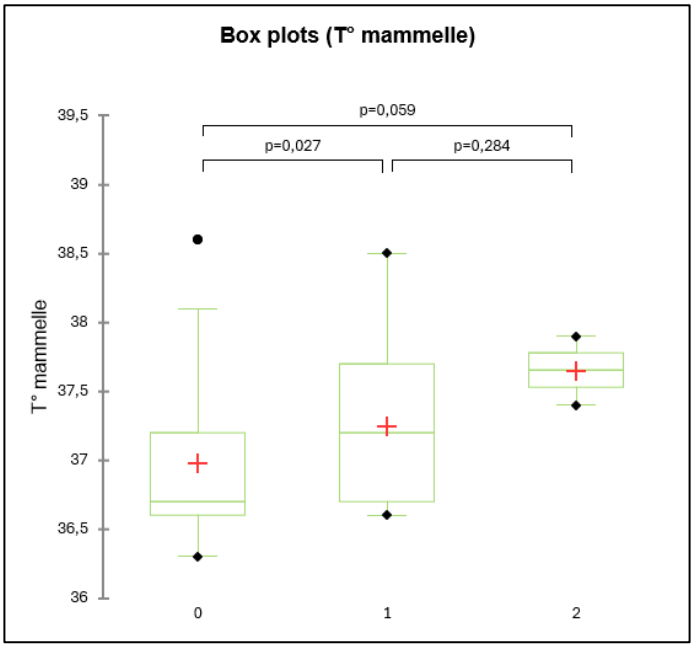


Grafico 3 - *Mammelle craniali con consistenza punteggio 0 presentano la temperatura delle mammelle è più bassa*
Graph 3 - *Cranial breasts with consistency score 0 have lower temperature of the breasts*

Variabile	Punteggio	Soggetti	Frequenza	%
Mammelle cons. craniali	0	57	57	71,250
	1	21	21	26,250
	2	2	2	2,500

Tabella 5 - *Dati utilizzati per l'analisi statistica sulla temperatura della mammella in base alla loro consistenza*
Table 5 - *Data used for statistical analysis on the temperature of the breast according to their consistency*

Ulteriori accertamenti statistici (test Kruskal-Wallis) sono stati condotti con il fine di evidenziare differenze tra immunoglobuline provenienti dal colostro di mammelle craniali e immunoglobuline provenienti dal colostro delle mammelle caudali della stessa scrofa e tra immunoglobuline di scrofe di diverso ordine di parto (inclusi tutti gli ordini di parto dalle primipare al settimo ordine), ma senza rilevarne differenze (p-value > 0,05).
Le diverse percentuali delle immunoglobuline delle mammelle craniali sono state inserite nella Tabella 6 secondo classificazione utilizzata da Hasan et al 2016

Classificazione Brix	Definizione	Numero di campioni raccolti	Percentuale
<20%	Livello basso	0	0%
21%-24%	Al limite	28	35%
25%-29%	Adeguato	41	51,2%
>30%	Molto buono	11	13,8%

Tabella 6 - *Qualità di immunoglobuline delle mammelle craniali*
Table 6 *- Cranial breast immunoglobulin quality*

Anche per quanto riguarda i dati produttivi raccolti, con particolare riferimento ai suinetti sottopeso morti, morti per schiacciamento, morti per diarrea, trasferimenti e svezzati per parto, non sono state rilevate differenze statisticamente significative (test Kruskal-Wallis) tra i vari gruppi (pvalue>0,05).

Variabili	Parti	Ig craniali	Ig caudali	T° scrofa	T° mammelle	Nati vivi	SP- Morti sottopeso	SCH - Morti schiacciati	DR - Morti per diarrea	SCA - Morti scarti	CAS - Morti da castrazione	Adottati	Svezzati
Parti	**0**	0,271	0,159	**0,001**	0,371	0,065	0,728	0,131	0,347	0,136	0,784	**0,000**	0,080
Ig craniali	0,271	**0**	**<0,0001**	0,961	0,422	0,069	0,908	0,062	0,795	0,406	0,289	**0,030**	0,061
Ig caudali	0,159	**<0,0001**	**0**	0,843	0,151	0,280	0,804	0,199	0,961	0,831	0,294	0,122	0,236
T° scrofa	**0,001**	0,961	0,843	**0**	**0,001**	0,758	0,076	0,323	0,269	0,517	0,380	0,209	0,075
T° mammelle	0,371	0,422	0,151	**0,001**	**0**	0,308	0,501	0,924	0,207	0,223	0,420	0,181	0,292
Nati vivi	0,065	0,069	0,280	0,758	0,308	**0**	0,070	0,431	0,351	0,818	0,741	**<0,0001**	0,059
SP- Morti sottopeso	0,728	0,908	0,804	0,076	0,501	0,070	**0**	0,095	0,350	0,516	0,310	0,602	0,785
SCH - Morti schiacciati	0,131	0,062	0,199	0,323	0,924	0,431	0,095	**0**	0,880	0,932	0,256	0,076	0,365
DR - Morti per diarrea	0,347	0,795	0,961	0,269	0,207	0,351	0,350	0,880	**0**	0,203	0,702	0,659	0,174
SCA - Morti scarti	0,136	0,406	0,831	0,517	0,223	0,818	0,516	0,932	0,203	**0**	0,937	**0,033**	0,558
CAS - Morti da castrazione	0,784	0,289	0,294	0,380	0,420	0,741	0,310	0,256	0,702	0,937	**0**	0,861	0,170
Adottati	**0,000**	**0,030**	0,122	0,209	0,181	**<0,0001**	0,602	0,076	0,659	**0,033**	0,861	**0**	0,233
Svezzati	0,080	0,061	0,236	0,075	0,292	0,059	0,785	0,365	0,174	0,558	0,170	0,233	**0**

Tabella 7 - *Tabella riassuntiva con valori di p-value per le correlazioni tra tutti i dati raccolti*
Table 7 *- Summary table with p-value values for correlations between all data collected*

DISCUSSIONE

Il primo risultato ottenuto è la correlazione tra le mammelle caudali con grado di formazione 1 (poco formate e/o in regressione) e la temperatura corporea della scrofa che risulta aumentata. Come osservabile nel Grafico 1, la temperatura è compresa tra i valori di 39°C e 39.5°C, è interessante sottolineare che come riportato da Messias de Bragança M. et al., le scrofe durante la lattazione subiscono continue fluttuazioni di temperatura. Possiamo quindi affermare che la temperatura delle scrofe riportata nel nostro studio risulta all'interno di un range di riferimento provocato da un'ipertermia metabolica e non correlata ad un rialzo febbrile (Furniss S. J., 1987). L'innalzamento della temperatura, quindi, non risulta preoccupante in questo contesto, soprattutto correlandolo anche alla presenza di ghiandole mammarie in regressione o poco formate, fatto che potrebbero essere dovuto a numerosi elementi come: genetica, caratteristiche individuali dell'animale, conseguenza di eventi negativi avvenuti precedentemente. Durante la lattazione una maggior produzione di secreto mammario viene favorita da uno svuotamento completo della mammella, questo favorirebbe l'involuzione degli alveoli riducendo l'apporto ematico al tessuto mammario (Thodberg K. e Sørensen M.T., 2006).

Il grafico 2 dimostra che le mammelle arrossate con punteggio 1, (moderatamente arrossate) producono un colostro con livelli di immunoglobuline minori rispetto a quelle di punteggio 0 (colore fisiologico). Come riportato in letteratura una mammella arrossata risulta essere uno dei sintomi della mastite, così come insieme ad infiammazione e edema della regione interessata, anoressia e rialzo febbrile (J. Zimmerman et al, 2019). Questi ultimi parametri clinici sono stati indagati nel corso dello studio, ma non sono state rilevate differenze significative, evidenziando quindi l'assenza di mastite all'inizio della lattazione. Il fatto che mammelle arrossate producano un colostro con un quantitativo inferiore di immunoglobuline, così come da noi ottenuto (grafico 2), si dimostra coerente con quanto riportato in letteratura (Aitken et al. 2003), pertanto uno stato infiammatorio delle ghiandole mammarie è spesso associato ad una ridotta capacità di trasferimento delle immunoglobuline dal sangue della scrofa al colostro.
Le mammelle con punteggio 2 di arrossamento (molto arrossate) risultano invece con livelli di immunoglobuline pari a mammelle fisiologiche, al contrario di quello che si potrebbe ipotizzare in presenza di un'infiammazione più grave; ciò potrebbe dipendere dalla variabilità individuale o da fattori non considerati, essendo i soggetti interessati 4 su 80 (tabella 4) e non costituendo quindi un campione sufficiente. In studi futuri sarà necessario aumentare il campione di scrofe con arrossamento severo per riuscire ad avere una statistica più solida.
Dal punto di vista pratico, i risultati del nostro studio sottolineano l'importanza del monitoraggio attento dello stato delle ghiandole mammarie durante il periparto. La semplice osservazione del colore della cute mammaria potrebbe permettere di anticipare il problema della mastite grazie ad un intervento tempestivo sul processo patologico, in modo da permettere un efficiente trasferimento dell'immunità ai suinetti.
Nel presente studio tutte le scrofe aventi una consistenza fisiologica ed elastica delle ghiandole mammarie avevano una temperatura locale minore. Rosengart S. et al. nel 2022 analizzarono le differenze nelle immagini termiche delle ghiandole mammarie di scrofe con differenti gradi di patologia e numero di parti, permettendone così la valutazione di variazioni di temperatura nelle mammelle, impiegando anche nel loro studio un termometro ad infrarossi. Sempre gli stessi autori confrontavano le produzioni zootecniche (ad es. la quantità di latte prodotto e la crescita dei suinetti) tra scrofe sane e non sane e tra scrofe giovani e più anziane. Le scrofe con problemi, come mastiti o altre infiammazioni, mostrano temperature maggiori nelle ghiandole mammarie rispetto ai soggetti sani. Inoltre, nel medesimo studio, è stata osservata una correlazione tra la temperatura delle mammelle e le produzioni zootecniche poiché ad una temperatura maggiore risulta associata una ridotta produzione di latte e, pertanto, suinetti con tassi di crescita inferiori (Rosengart S et al. del 2022). I risultati del nostro studio confermano che il termometro ad infrarossi è un valido strumento, utilizzabile da tutto il personale di stalla, per identificare precocemente disturbi mammari. Le osservazioni sui dati produttivi, tuttavia, non dimostrano differenze significative legate alla temperatura delle mammelle, risultando in disaccordo con lo studio di Rosengart S. et al. del 2022, così come per temperatura rettale della scrofa e la quantità di immunoglobuline. Di sicuro interesse è che questi parametri siano stati raccolti in un'azienda dall'elevato livello sanitario.
A conferma di ciò abbiamo che il 51,2% delle scrofe campionate, risulta con un livello di Ig "adeguato" (Hasan et al, 2016), permettendo ai suinetti un buon trasferimento di immunità passiva, in grado di influenzare positivamente la loro salute.
Nel nostro studio è stato dimostrato che la misurazione con Brix del colostro fresco delle scrofe possa essere un metodo economico, rapido e sufficientemente accurato per stimare la concentrazione di Ig. Infatti, il metodo di analisi scelto, è stato quello descritto da S.M.K

Hasan et al. nello studio del 2006. vale inoltre la pena sottolineare che dall'analisi dei nostri dati sulle immunoglobuline non sono emerse differenze significative tra il colostro raccolto dalle mammelle craniali rispetto a quelle caudali e nemmeno tra le scrofe di ordine di parto diverso; tali risultati si allineano con quanto riportato da Kielland at al., 2019. Ipoteticamente la spiegazione della mancata differenza di concentrazione di immunoglobuline potrebbe riguardare l'aspetto sanitario. Certamente impiegare l'organizzazione a banda quadrisettimanale è in grado di influenzare positivamente la sanità aziendale, come riportato da numerosi autori (Vangroenweghe, F. et al., 2012; Mekerke e Leneveu 2006).
Infine, è importante evidenziare che le scrofe coinvolte nel nostro studio appartengono ad una genetica iperprolifica Olandese (T70) di recente introduzione nel panorama mondiale, sebbene originata da una matrice genetica conosciuta (T60). Infatti, come tutte le genetiche iperprolifiche, potrebbe avere peculiarità distintive, non solo per i dati produttivi straordinari, ma anche per i suoi parametri fisiologici che potrebbero meritare ulteriori studi al fine di una loro nuova parametrizzazione.

CONCLUSIONE

Il presente elaborato ha evidenziato che esistono correlazioni tra lo stato di salute della scrofa, delle mammelle e del contenuto del colostro da esse derivante. Tali risultati possono essere di grande aiuto in azienda al fine di valutare, o prevedere, eventuali stati patologici della mammella. Da sempre la diagnosi precoce risulta il sistema più efficace per contrastare le patologie ed in questo caso il vantaggio sul tempo risulta davvero decisivo in quanto in grado di salvaguardare il corretto trasferimento dell'immunità passiva preservando così le nidiate da gravi conseguenze sanitarie tanto in sala parto quanto in svezzamento..
Crediamo inoltre interessante il fatto che, nel nostro studio, il livello di Ig risulti inalterato tra il primo paio di ghiandole mammarie craniali e l'ultimo paio delle caudali e tra scrofe di ordine di parto diverso dal momento che è in contrasto con quanto riportato dalla bibliografia lasciando ipotizzare che il ruolo della sanità possa avere una parte importante in questo contesto. .
Certamente di grande interesse pratico per la clinica di allevamento, si sono dimostrati tanto il Brix quanto il termometro ad infrarossi, strumenti semplici ed economici ottimali per essere inseriti nella routine della sala parto e di grande supporto per evidenziare disordini della mammella anche nelle fasi più precoci difficilmente evidenziabili in altro modo. Ulteriori pratiche che eviterebbero l'aggravarsi di mastiti sono l'ispezione visiva e la palpazione delle ghiandole mammarie durante il giro di controllo delle "nidiate", in grado di individuare le scrofe potenzialmente a rischio.
Sebbene lo studio abbia fornito un contributo pratico di interesse per l'attività di campo, questa ricerca potrebbe essere ulteriormente potenziata attraverso l'ampliamento del campione in modo da concentrarsi su aspetti specifici come, ad esempio, la genetica e la sua correlazione con la produzione di immunoglobuline.

BIBLIOGRAFIA

1. Aitken S.L., Corl C.M., Sordillo L.M. (2011) Immunopathology of Mastitis: Insights into Disease Recognition and Resolution. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 16, 291–304.
2. ATAGO® (2020) *Digital Hand-held "Pocket" Refractometer, Cat. No. 3810*. https://labfriendcoredataprod.blob.core.windows.net/labfriendcore-data-prod/files/Atago%20PAL-1%20Refractometer%20Instruction%20Manual.pdf
3. Bland I.M., Rooke J.A., Bland V.C., Sinclair A.G., Edwards S.A. (2003) Appearance of immunoglobulin G in the plasma of piglets following intake of colostrum, with or without a delay in sucking. *Anim. Sci.* 77, 277–286.

4. Le Dividich J., et al. (2004) Acquisizione dell'immunità passiva nei suinetti e produzione di colostro nella scrofa. *Journ. Rech. Porcine France* 36, 451–455
5. Friendship R.M., O'Sullivan T.L. (2015) Sow health. In: Farmer C., (ed.) *The Gestating and Lactating Sow*. Wageningen, The Netherlands, Wageningen Academic Publishers, 409–421.
6. Furniss S.J. (1987) Measurement of rectal temperature to predict mastitis, metritis and agalactia (MMA) in sows after farrowing. *Prev. Vet. Med.* 5, 133–139.
7. Herpin P., Louveau I., Damon M., et al. (2005) Environmental and hormonal regulation of energy metabolism in early development of the pig. In: Burrin D.G., Mersmann H. (eds.) *Biology of Metabolism in Growing Animals*. Amsterdam, Elsevier, 353–374.
8. Hultén F., et al. (2003) Clinical characteristics, prevalence, influence on sow performance, and assessment of sow-related risk factors for granulomatous mastitis in sows. *Am. J. Vet. Res.* 64(4), 463–469.
9. Ison S.H., Jarvis S., Ashworth C.J., Rutherford K.M.D. (2017) The effect of post-farrowing ketoprofen on sow feed intake, nursing behaviour and piglet performance. *Livest. Sci.* 202, 115–123.
10. Zimmerman J.J., Karriker L.A., Ramirez A., Schwartz K.J., Stevenson G.W., Zhang J. (2019) *Diseases of Swine*, 11th ed. John Wiley & Sons. ISBN: 978-1-119-35632-3.
11. Kaiser M., Jacobson M., Bækbo P., Dahl J., Jacobsen S., Guo Y.Z., Larsen T., Andersen P.H. (2020) Lack of evidence of mastitis as a causal factor for postpartum dysgalactia syndrome in sows. *Transl. Anim. Sci.* 4, 250–263
12. Kielland C., Rootwelt V., Reksen O., Framstad T. (2015) The association between immunoglobulin G in sow colostrum and piglet plasma. *J. Anim. Sci.* 93.
13. Le Dividich J., et al. (2004) Acquisition de l'immunité passive chez les porcelets et production de colostrum chez la truie. *Journ. Rech. Porcine France* 36, 451.
14. Le Dividich J., Rooke J.A., Herpin P. (2005) Importanza nutrizionale e immunologica del colostro per il maiale appena nato. *J. Sci. Agr.* 143(6), 469–485.
15. Mekerke B., Leneveu P. (2006) Modifications de conduite de bandes et impact sur la situation sanitaire: analyse de quelques exemples. *Proc. Assoc. Fr. Méd. Vét. Porcine*, Toulouse, France, 49–64.
16. Messias de Bragança M., Mounier A.A., Hulin J.C., Prunier A. (1997) La sous-nutrition explique-t-elle les effets d'une température ambiante élevée sur les performances des truies? *Journ. Rech. Porcine France*, 1997.
17. Quesnel H., Farmer C. (2019) Review: Nutritional and endocrine control of colostrogenesis in swine. *Animal* 13(S1), S26–S34. doi:10.1017.
18. Quesnel H. (2011) Colostrum production by sows: Variability of colostrum yield and immunoglobulin G concentrations. *Animal* 5, 1546–1553.
19. Quesnel H., Farmer C., Devillers N. (2012) Colostrum intake: Influence on piglet performance and factors of variation. *Livest. Sci.* 146(2-3), 105–114.
20. Rooke J.A., Bland I.M. (2002) The acquisition of passive immunity in the new-born piglet. *Livest. Prod. Sci.* 78(1), 13–23.
21. Rosengart S., Chuppava B., Trost L.S., Henne H., Tetens J., Traulsen I., Deermann A., Wendt M., Visscher C. (2022) Characteristics of thermal images of the mammary gland and of performance in sows during health status and parity. *Front. Vet. Sci.* 9, 920302.
22. Rosengart S., et al. (2021) Infrared Thermography of the Mammary Gland in Sows with Regard to Health and Performance. *Agriculture* 11, 1013.
23. Hasan S.M.K., Junnikkala S., Valros A., Peltoniemi O., Oliviero C. (2016) Validation of Brix refractometer to estimate colostrum immunoglobulin G content and composition in the sow. *Animal* 10, 1728–1733.
24. Schmidt M., Hoffmann G., Ammon C., Schön P., Manteuffel C., Amon T. (2013) Anwendung der Infrarotthermografie bei ferkelführenden Sauen. *Landtechnik* 68, 228–231.

25. Spiegel S., Spiegel F., Luepke M., Wendt M., von Altrock A. (2022) Ultrasonography and infrared thermography as a comparative diagnostic tool to clinical examination to determine udder health in sows. *Animals* 12, 2713.
26. Vangroenweghe F., Suls L., Van Driessche E., Maes D., De Graef E. (2012) Health advantages of transition to batch management system in farrow-to-finish pig herds. *Vet. Med.* 57(2), 83–91.
27. Xu R.J. (2003) Composition of porcine milk. In: Xu R.J., Cramwell P. (eds.) *Nutrition*. Nottingham, UK, Nottingham University Press, 213–246.
28. Zhang Y., Zhang S., Guan W., Chen F., Cheng L., Lv Y., et al. (2018) GLUT1 and lactose synthetase are critical genes for lactose synthesis in lactating sows. *Nutr. Metab. (Lond.)* 15, 40

SOSTENIBILITÀ DI *HERMETIA ILLUCENS* NELLA PRODUZIONE SUINICOLA: LE LARVE POSSONO MIGLIORARE IL BENESSERE DEI SUINETTI DOPO LO SVEZZAMENTO?

SUSTAINABILITY OF HERMETIA ILLUCENS IN SWINE PRODUCTION: CAN LARVAE ENHANCE THE WELFARE OF WEANED PIGLETS?

BELPERIO S.[1], NANNONI E.[1], MARTELLI G.[1], MENEGUZ M.[2], SARDI L[1].

[1]*Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna, Italy;*
[2]*BEF Biosystems, Torino, Italy*

Parole chiave: suinetti, larve, benessere
Keywords: piglets, larvae, welfare

Abstract
This research is part of a broader project on the use of Black Soldier Fly (BSF) larvae in swine production, focusing on rearing optimization, pig welfare, and sustainability within the circular economy framework.
This study assessed live BSF larvae as environmental enrichment for weaned piglets. Behavioral observations, stress biomarkers, body and tail lesions, and growth parameters were analyzed to determine whether live larvae could enhance the welfare by providing environmental stimulation. Two groups of 48 piglets were used: a control group (C), which received standard enrichments (chain and a wooden stick), and a group L, which received live larvae provided with a specifically made dispenser in addition to standard enrichments. No significant differences were found in growth performance, with an average of 72 g of larvae per piglet per day. Group L showed increased activity and reduced recumbency. Interaction with larvae and larvae dispensers occupied 13% of the observed time, and the oral manipulative behaviors directed to pen fixtures were reduced in L group compared to C ($p < 0.001$). Hair cortisol levels were significantly lower in L than in C ($p = 0.009$).
These findings highlight live BSF larvae as a promising enrichment strategy to enhance piglet welfare, reduce stress, and encourage natural behaviors. Further studies are needed to assess the long-term effects of live larvae on gut health.

Riassunto
Questa ricerca fa parte di un progetto più ampio sull'uso delle larve di Black Soldier Fly (BSF) nella filiera suinicola per migliorare l'allevamento, il benessere e la sostenibilità un un'ottica di economia circolare.
Lo studio ha valutato le larve vive di BSF come arricchimento ambientale per i suinetti svezzati. Sono stati analizzati comportamento, biomarcatori di stress, lesioni corporee e parametri di crescita, per determinare se le larve potessero migliorare il benessere attraverso un aumento della stimolazione ambientale. Sono stati utilizzati due gruppi di 48 suinetti: il gruppo C, con arricchimenti standard, e il gruppo L, che riceveva in aggiunta le larve vive tramite un dispenser apposito.
Non sono emerse differenze nelle performance di crescita, con un consumo medio di 72g di larve per suinetto al giorno. I suinetti del gruppo L hanno mostrato maggiore attività e minor tempo in decubito. L'interazione con le larve e il dispenser ha occupato il 13%

del tempo osservato, e si sono ridotti i comportamenti manipolativi orali diretti verso le strutture del box ($p<0,001$) rispetto al gruppo C. Il cortisolo nelle setole è risultato più basso in L rispetto a C ($p=0,009$).
Questi risultati suggeriscono che le larve di BSF rappresentino una strategia promettente per migliorare il benessere dei suinetti, ridurre lo stress e favorire i comportamenti naturali. Sono necessarie ricerche sugli effetti a lungo termine sulla salute intestinale.

INTRODUZIONE

La fase di post svezzamento nei suini è caratterizzata da eventi stressanti come la separazione dalla scrofa, le manipolazioni, le transizioni dietetiche, i cambiamenti nella gerarchia sociale, l'esposizione a nuovi ambienti e patogeni e, talvolta, il trasporto (Zappaterra et al., 2023; Tong et al., 2019; Jayaraman and Nyachoti, 2017; Campbell et al., 2013). Questi fattori possono avere conseguenze a lungo termine sulla salute e sul benessere dei suinetti, tra cui una maggiore aggressività, comportamenti orali manipolativi con possibili lesioni (come il morso della cosa e delle orecchie Colson et al., 2006; D'Eath, 2005) e una riduzione dell'assunzione di alimento (Wensley et al., 2021). In ambienti restrittivi, sono comuni comportamenti maladattivi come la masticazione a vuoto, il morso delle sbarre e il belly-nosing, spesso definiti stereotipie (Li and Gu, 2024). Lo stress compromette la composizione del microbiota intestinale, instaurando un circolo vizioso che aggrava ulteriormente le risposte allo stress e riduce il benessere complessivo. Al contrario, un microbioma equilibrato può modulare tali risposte e migliorare la resilienza agli stressor ambientali (Kobek-Kjeldager et al., 2022).
In ambienti privi di materiali di arricchimento, i suini hanno poche opportunità per esprimere comportamenti esplorativi, il che può portarli a reindirizzare le loro attività verso le strutture e i compagni di box, aumentando così lo stress e il rischio di lesioni (Oostindjer et al., 2010; Zonderland et al., 2008). L'arricchimento ambientale consente ai suini si manifestare un più ampio spettro di comportamenti specie-specifici (Van De Weerd and Day, 2009).
Ricerche recenti evidenziano il potenziale delle larve vive della mosca soldato nera (BSFL) come una soluzione multifunzionale che combina il valore nutrizionale con l'arricchimento ambientale. Ipema, et al., (2021a) hanno dimostrato che la somministrazione di BSFL vive migliora il benessere dei suinetti dopo lo svezzamento, riducendo i comportamenti legati allo stress senza compromettere le prestazioni di crescita. Inoltre, Ipema et al., (2021b), hanno riscontrato che i suinetti mostrano una forte preferenza BSFL rispetto ad altre opzioni di arricchimento, riflettendo la capacità di queste larve di stimolare i comportamenti esplorativi naturali e favorire un maggior coinvolgimento degli animali. Inoltre, il sapore appetibile delle BSFL ne accresce ulteriormente l'idoneità come supplemento alimentare, rendendole particolarmente attraenti per i suini (Hong and Kim, 2022).
Il presente studio si propone di indagare il potenziale delle BSFL vive come strategia innovativa e sostenibile di arricchimento ambientale per i suinetti. Per fornire una comprensione approfondita dei loro effetti, sono stati valutati sia le prestazioni di crescita sia i tratti comportamentali dei suinetti nelle cinque settimane successive allo svezzamento. Inoltre, sono state analizzate le lesioni corporee e i livelli di cortisolo nelle setole. Concentrandosi su questi aspetti, lo studio mira a evidenziare i potenziali benefici delle BSFL nel migliorare il benessere e, al contempo, nel promuovere pratiche di allevamento più sostenibili e innovative.

MATERIALI E METODI

Il protocollo applicato in questo studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'Università di Bologna.

2.1 Condizioni di stabulazione e gestione degli animali
L'esperimento, condotto presso l'Università di Bologna, ha coinvolto 96 suinetti di origine commerciale (Topig × Goland C21), svezzati all'età di 28 giorni. All'inizio della prova, i suinetti sono stati identificati con marche auricolari e pesati (peso medio iniziale: 7.45 kg). Durante lo studio, gli animali hanno avuto accesso *ad libitum* all'acqua tramite abbeveratoi a tettarella e al mangime sfarinato tramite una mangiatoia posizionata su uno dei lati corti del box, garantendo un accesso equo e senza restrizioni a tutti gli individui. I suinetti sono stati alloggiati in box da 6 animali ciascuno, con pavimentazione interamente grigliata in metallo, collocati in due stanze separate, identiche e a temperatura controllata.

2.2 Disegno sperimentale
I 96 suinetti sono stati assegnati in modo casuale a uno dei due gruppi sperimentali:
Gruppo C: controllo, sottoposto ad arricchimenti ambientali standard (catene metalliche e tronchetti di legno).
Gruppo L: arricchito con larve, ricevendo sia gli arricchimenti standard sia le larve vive.
Lo studio è iniziato a 28 giorni ed è proseguito per un totale di 39 giorni. Le larve di mosca soldato nera (*Hermetia illucens*) sono state fornite a intervalli regolari dalla BEF Biosystem (Torino, Italia).

2.3 Somministrazione di larve
Le larve vive sono state fornite al gruppo L tramite un distributore appositamente progettato, posizionato in un angolo di ciascun box. Le larve sono state somministrate due volte al giorno, con una dose iniziale di 300 grammi per box al giorno, suddivisa in due porzioni uguali. Successivamente, la dose è stata aumentata a 600 grammi al giorno, suddivisa in tre somministrazioni.

2.4 Parametri di crescita
I suinetti sono stati pesati per registrare il peso corporeo al giorno 1 e 39. È stato monitorato il consumo di alimento per ogni box. Per il gruppo L, l'assunzione di alimento è stata calcolata tenendo conto anche del consumo di larve. Sono stati calcolati l'incremento medio giornaliero e l'indice di conversione alimentare.

2.5 Osservazioni comportamentali
Il giorno precedente alle registrazioni video, i suinetti sono stati contrassegnati con un segno colorato per consentire l'identificazione individuale nei filmati. È stato utilizzato un Sistema digitale a circuito chiuso, il comportamento è stato registrato dalle 7:00 alle 19:00 nei giorni 8, 15, 26 e 38. Al termine della prova, sono state osservate le registrazioni video utilizzando la tecnica di *scan sampling* a intervalli di 10 minuti , seguendo un etogramma predefinito per i suini (Nannoni, et al., 2019). I dati sono stati espressi come proporzione del tempo totale osservato per ciascun comportamento (time budgets).

2.6 Valutazione delle lesioni e il cortisolo nelle setole
Il protocollo del Welfare Quality ® (2009) è stato applicato per valutare la presenza di lesioni cutanee e alla coda alla fine della prova. Le lesioni sono state conteggiate in cinque regioni corporee: orecchie, spalla, fianco, coscia e gamba. La coda è stata valutata separatamente.
Al termine dello studio, sono stati prelevati i campioni di setole tramite rasatura nell'area della groppa di ciascun suinetto. I campioni di setole sono stati sottoposti a estrazione steroidea e successiva quantificazione del cortisolo mediante *radioimmunoassay (*RIA) seguendo protocolli adattati da Elmi et al., (2024).

2.7 Analisi statistica

Le analisi statistiche sono state condotte utilizzando il software *Jamovi* (The Jamovi Project, 2021 version 2.0). I parametri di crescita, i livelli di cortisolo e i tratti comportamentali sono stati analizzati mediamente analisi della varianza (*one way* ANOVA), considerando il box come unità sperimentale. Il conteggio delle lesioni è stato analizzato con il test Kruskal-Wallis test (ANOVA non parametrica), mentre la distribuzione delle lesioni nelle diverse classi di gravità è stata analizzata mediante il test del chi-quadrato. Sono stati considerati statisticamente significativi i valori di p inferiori a 0.05.

RISULTATI

3.1 Parametri di crescita

Tutti i suinetti sono stati in buona salute per l'intera durata dello studio, senza segni di disagio o effetti avversi sulla salute. Non sono state riscontrate differenze significative tra i trattamenti nei parametri di crescita (BW, ADG and FCR) come riportato in Tabella 1.

Il consumo totale di larve nel gruppo L è stato di 16,9 kg per box durante l'intera sperimentazione, pari a 72 g per suinetto al giorno. In base al contenuto di sostanza secca (SS) del mangime (89%) e delle larve (69%), l'assunzione di SS da parte delle larve rappresentava circa il 5% dell'assunzione totale di SS.

Tabella 1 - Parametri di crescita dei due gruppi sperimentali (C=controllo, L=larve vive) (media ± deviazione standard).

Table 1 *- Growth parameters of the two experimental groups (C=control, L=live larvae) (mean ±standard deviation).*

Parameter	C (N=8)	L (N=8)	P value
PV finale (kg)	27.9±2.49	28.1±2.06	0.876
FI (kg)	0.915±0.10	0.906±0.09	0.858
IPG (kg)	0.526±0.05	0.530±0.04	0.837
ICA (kg/kg)	1.740±0.09	1.713±0.17	0.704

PV= peso corporeo; FI= assunzione di mangime (include l'assunzione di larve); IPG= incremento ponderale giornaliero; ICA= indice di conversione alimentare;

PV= Body Weight (BW); FI= Feed Intake (includes larvae intake); IPG=Average Daily Gain (ADG); ICA=Feed Conversion Ratio(FCR).

3.2 Osservazioni comportamentali

La tabella 2 riassume i modelli comportamentali osservati. I suinetti L hanno dedicato il 13% del loro tempo alle interazioni con le larve (comprese le larve vive, il distributore di larve e la mangiatoia per larve). Il confronto tra i gruppi ha rivelato che i suinetti L trascorrevano significativamente meno tempo in totale in decubito (cioè erano più attivi) rispetto a quelli C. Inoltre, i suinetti L hanno mostrato una riduzione del tempo trascorso a esplorare il pavimento del box, alla mangiatoia e all'abbeveratoio. Hanno anche effettuato meno interazioni neutre, interazioni con gli arricchimenti ambientali standard e interazioni con le strutture del box rispetto ai suinetti C.

Tabella 2 Comportamento diurno dei due gruppi sperimentali (C=controllo, L=larve vive), espresso come percentuale del tempo osservato (media ± deviazione standard).
Table 2 *Diurnal behaviour of the two experimental groups (C=control, L=live larvae), expressed as a percentage of observed time (mean ± standard deviation)*

Variable	C	L	P-value
In piedi inattivo	1.8±1.57	1.4±0.57	0.151
Seduto inattivo	1.0±0.76	0.8±0.48	0.178
Totale decubiti	51.2±3.55	48.4±4.02	0.004
Deambulano	2.9±1.64	3.1±1.4	0.584
Esplorare il pavimento	5.3±1.87	3.6±1.48	<.001
Mangiare	18.3±3.27	16.0±2.80	0.003
Bere	1.9±0.77	1.5±0.65	0.024
Interazioni neutre	8.6±2.7	6.3±1.61	<.001
Interazioni aggressive	1.9±1.15	1.6±1.20	0.317
Mordere la coda	0.5±0.61	0.3±0.3	0.111
Interazioni con l'arricchimento	3.4±2.06	1.2±0.97	<.001
Interazione con le larve	-	13.3±2.28	-
Interazione con il box	3.0±1.13	2.3±1.10	0.029

3.3 Punteggi delle lesioni e concentrazione di cortisolo
Non sono state osservate differenze significative tra i gruppi sperimentali nel numero di lesioni su spalle, fianchi, cosce e gambe (dati non mostrati). Le lesioni alle orecchie erano leggermente meno numerose nel gruppo C rispetto a L (1,3 vs 0,7 p = 0,009). Tuttavia, il numero totale di lesioni sul corpo non ha mostrato differenze significative tra i gruppi. La distribuzione per classi di gravità dei punteggi delle lesioni sul corpo e sulla coda per i due gruppi non ha mostrato differenze statisticamente significative tra i due gruppi (dati non mostrati).
Il cortisolo era significativamente più basso in L (8,02 ± 1,87 pg/m) rispetto a C (8,02 vs 11,07, p <0,01).

DISCUSSIONE
Questo studio ha analizzato l'impatto delle BSFL vive come arricchimento per i suinetti nella fase post-svezzamento, a seguito della recente nota ministeriale che ne autorizza l'uso come materiale di arricchimento in Italia (Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali, 2023).

4.1 Caratteristiche del Benessere
In linea con Ipema et al.,(2021 b), il nostro studio conferma che i suinetti sono fortemente attratti dalle BSFL vive, scegliendo di passare più tempo a interagire con le larve (e i dispenser di larve) rispetto agli arricchimenti standard (catene di legno e metallo). Questo spostamento dell'attenzione comportamentale può essere attribuito al maggiore impegno con le larve

vive, che hanno fornito un substrato stimolante e dinamico, diminuendo potenzialmente la motivazione dei suinetti a svolgere altre attività (Ipema et al., 2022). Mentre Ipema, et al. (2021a) hanno riportato un aumento dell'esplorazione diretta al pavimento nei suinetti che ricevevano le larve, il nostro studio ha osservato una riduzione significativa di questo comportamento. Questa discrepanza può essere dovuta a differenze nel metodo utilizzato per l'approvvigionamento delle BSFL vive, infatti nello studio di Ipema et al. (2021a) le larve sono state distribuite direttamente nella lettiera sul pavimento due volte al giorno.
Le ridotte interazioni tra i suinetti e l'esplorazione del pavimento osservate nel nostro studio potrebbero essere legate all'elevata attrattiva dell'arricchimento, che ha ridotto il comportamento esplorativo diretto verso i substrati meno interessanti (pavimento del box, strutture e arricchimenti standard). Sono necessari ulteriori studi, ad esempio osservando queste interazioni nel dettaglio (come le osservazioni in continuo).
Il numero di lesioni tra i due gruppi è risultato simile, e la distribuzione per classi di gravità delle lesioni sul corpo e sulla coda, data l'assenza di significatività suggerisce che, nonostante le larve non fossero disponibili per tutte le 24 ore, gli animali non abbiano mostrato un aumento dell'aggressività dovuto alla competizione per accedere alle larve. Tuttavia, questo aspetto meriterebbe ulteriori indagini in condizioni di campo.
A nostra conoscenza, i livelli di cortisolo non sono stati analizzati in animali esposti alle larve come parte del loro ambiente. È interessante notare che i nostri risultati indicano concentrazioni di cortisolo significativamente più basse nei campioni di setole, suggerendo che l'inclusione delle larve possa contribuire alla riduzione dello stress e al miglioramento del benessere degli animali.

4.2 Considerazioni nutrizionali

Considerando l'assunzione complessiva di mangime e larve, i due gruppi sperimentali hanno mostrato un consumo complessivo equivalente. Tuttavia, nel gruppo L l'assunzione di mangime commerciale era inferiore del 7% rispetto al gruppo C (dati non mostrati) compensata dall'ingestione di larve. Questa sostituzione non ha influenzato significativamente i parametri di performance, evidenziando che il pasto di larve sostituiva in modo ottimale il mangime commerciale. È noto che la composizione nutrizionale larvale è fortemente influenzata dalla dieta fornita alle larve (Belperio et al., 2024) quindi questo risultato è specifico dello studio e potrebbe non essere generalizzabile a tutti i prodotti derivati da BSFL. Un componente critico della BSFL è la chitina, un polisaccaride fibroso, resistente alla digestione da parte degli enzimi endogeni dei suini (Huang et al., 2001). Di conseguenza, l'azoto incapsulato nella chitina o legato alle proteine non è digeribile né assorbibile nell'intestino tenue. Tuttavia, i nostri risultati suggeriscono che questo aspetto non ha avuto un impatto significativo, poiché gli animali hanno mostrato prestazioni di crescita comparabili tra i gruppi.
Un altro componente notevole del BSFL è l'acido laurico, un acido grasso a catena media (MCFA) che può costituire fino al 70% del contenuto totale di acidi grassi saturi a seconda del substrato di allevamento delle larve (Spranghers et al., 2017). L'acido laurico e i suoi metaboliti sono noti per le loro proprietà antimicrobiche e antinfiammatorie, in particolare nell'intestino tenue (Spranghers et al., 2017; Mohana Devi and Kim, 2014). Queste proprietà rendono le BSFL, e i suoi derivati, una promettente alternativa agli antimicrobici nell'alimentazione, a sostegno della salute dell'intestino e del benessere generale nel periodo critico del post-svezzamento (Crosbie et al., 2021, 2020)gut morphology, and immune response. After weaning, pigs were placed in 24 pens (six pigs per pen. Il microbiota intestinale svolge un ruolo cruciale nella regolazione dell'asse intestino-cervello, influenzando le risposte allo stress e i modelli comportamentali.
Tuttavia, sebbene questi aspetti siano promettenti, sono necessarie ulteriori ricerche

focalizzate sulla salute intestinale dei suinetti per comprendere meglio il possibile ruolo della BSF in questo contesto.inoltre, sarà fondamentale condurre analisi economiche, non affrontate nel presente studio, per valutarne la sostenibilità e l'applicabilità su larga scala.

CONCLUSIONI

La somministrazione di BSFL vive come arricchimento ha stimolato comportamenti esplorativi quali l'esplorazione, il foraggiamento e l'annusare/mangiare le larve. Questo tipo di arricchimento ha ridotto i comportamenti di manipolazione orale diretti verso i compagni di box o le strutture, mantenendo alto l'interesse dei suinetti e favorendo così un ambiente più stimolante. Inoltre, ha contribuito alla riduzione dei livelli di cortisolo senza influenzare negativamente i parametri produttivi e le lesioni corporee. I risultati di questo studio evidenziano il potenziale delle BSFL vive come strategia di arricchimento ambientale innovativa e sostenibile per i suinetti. Tuttavia, è necessario migliorare l'attuale design del distributore di larve per garantire una disponibilità di larve più omogenea nel corso della giornata.

BIBLIOGRAFIA

1. Belperio, S., Cattaneo, A., Nannoni, E., Sardi, L., Martelli, G., Dabbou, S. and Meneguz, M. (2024). Assessing Substrate Utilization and Bioconversion Efficiency of Black Soldier Fly (Hermetia illucens) Larvae: Effect of Diet Composition on Growth and Development Temperature. *J. Anim.*, XIV (9), p.1340.
2. Campbell, J.M., Crenshaw, J.D. and Polo, J. (2013). The biological stress of early weaned piglets. *JASB*, 4(1).
3. Colson, V., Orgeur, P., Foury, A. and Mormède, P. (2006). Consequences of weaning piglets at 21 and 28 days on growth, behaviour and hormonal responses. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, XCVIII (1-2), pp.70–88.
4. Crosbie, M., Zhu, C., Karrow, N.A. and Huber, L.-A. (2021). The effects of partially replacing animal protein sources with full fat black soldier fly larvae meal (Hermetia illucens) in nursery diets on growth performance, gut morphology, and immune response of pigs. *Transl. anim. sci.*, V (2).
5. Crosbie, M., Zhu, C., Shoveller, A.K. and Huber, L.-A. (2020). Standardized ileal digestible amino acids and net energy contents in full fat and defatted black soldier fly larvae meals (Hermetia illucens) fed to growing pigs. *Transl. anim. sci.*, IV (3).
6. D'Eath, R.B. (2005). Socialising piglets before weaning improves social hierarchy formation when pigs are mixed post-weaning. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, XCIII (3-4), pp.199–211.
7. Elmi, A., Correa, F., Ventrella, D., Scozzoli, M., Vannetti, N.I., Govoni, N., Truzzi, E., Belperio, S., Trevisi, P., Bacci, M.L. and Nannoni, E. (2024). Can environmental nebulization of lavender essential oil (L. angustifolia) improve welfare and modulate nasal microbiota of growing pigs? *Res. J. Vet. Sci.*, CLXXI, p.105251.
8. Hong, J. and Kim, Y.Y. (2022). Insect as feed ingredients for pigs. *Anim. Biosci.*, XXXV (2), pp.347–355.
9. Huang, S.X., Sauer, W.C. and Marty, B. (2001). Ileal digestibilities of neutral detergent fiber, crude protein, and amino acids associated with neutral detergent fiber in wheat shorts for growing pigs. *Anim. Sci. J.*, LXXIX (9), p.2388.
10. Ipema, A.F., Bokkers, E.A.M., Gerrits, W.J.J., Kemp, B. and Bolhuis, J.E. (2021a). Providing live black soldier fly larvae (Hermetia illucens) improves welfare while maintaining performance of piglets post-weaning. *Sci. Rep.*, XI (1).
11. Ipema, A.F., Gerrits, W.J.J., Bokkers, E.A.M., Kemp, B. and Bolhuis, J.E. (2021b). Live

black soldier fly larvae (Hermetia illucens) provisioning is a promising environmental enrichment for pigs as indicated by feed- and enrichment-preference tests. *Anim. Behav. Sci.*, CCXLIV, p.105481.
12. Ipema, A.F., Gerrits, W.J.J., Bokkers, E.A.M., van Marwijk, M.A., Laurenssen, B.F.A., Kemp, B. and Bolhuis, J.E. (2022). Assessing the Effectiveness of Providing Live Black Soldier Fly Larvae (Hermetia illucens) to Ease the Weaning Transition of Piglets. *Front. vet. sci.*, IX.
13. Jayaraman, B. and Nyachoti, C.M. (2017). Husbandry practices and gut health outcomes in weaned piglets: A review. *Anim. Nutr.*, III (3), pp.205–211.
14. Kobek-Kjeldager, C., Schönherz, A.A., Canibe, N. and Pedersen, L.J. (2022). Diet and microbiota-gut-brain axis in relation to tail biting in pigs: A review. *Anim. Behav. Sci.*, CCXLVI p.105514.
15. Li, C. and Gu, X. (2024). Oral stereotypic behaviors in farm animals and their causes. *Anim. Res*. II (3), pp.337-351
16. Ministero dell'Agricoltura, della Sovranità Alimentare edelle Foreste. (2024). Regolamentazione sull'uso di insetti nell'alimentazioneumana. Allevamento di insetti ed uso di insetti vivi per l'alimentazione dianimali da al*levamento (pesci, pollame e suini)*. Nota0011399-05/05/2017-DGSAF-MDS-P. Roma, Italia
17. Mohana Devi, S. and Kim, I. (2014). Effect of medium chain fatty acids (MCFA) and probiotic (Enterococcus faecium) supplementation on the growth performance, digestibility and blood profiles in weanling pigs . *Vet. Med.*, LIX (No. 11), pp.527–535.
18. Nannoni, E., Sardi, L., Vitali, M., Trevisi, E., Ferrari, A., Ferri, M.E., Bacci, M.L., Govoni, N., Barbieri, S. and Martelli, G. (2018). Enrichment devices for undocked heavy pigs: effects on animal welfare, blood parameters and production traits. *Ital. J. Anim. Sci.*, XIIX(1), pp.45–56.
19. Oostindjer, M., Bolhuis, J. E., Mendl, M., Held, S., Gerrits, W., Van Den Brand, H., and Kemp, B. (2010). Effects of environmental enrichment and loose housing of lactating sows on piglet performance before and after weaning1. *J. Anim. Sci.,* LXXXVIII (11), 3554–3562
20. Spranghers, T., Ottoboni, M., Klootwijk, C., Ovyn, A., Deboosere, S., De Meulenaer, B., Michiels, J., Eeckhout, M., De Clercq, P. and De Smet, S. (2016). Nutritional composition of black soldier fly (Hermetia illucens) prepupae reared on different organic waste substrates. *J Sci Food Agric* , XCVII (8), pp.2594–2600.
21. Tong, X.Y., Shen, C., Chen, R., Gao, S., Liu, X., Schinckel, A.P. and Zhou, B. (2019). Reestablishment of Social Hierarchies in Weaned Pigs after Mixing. *J. Anim.*, X (1), pp.36–36.
22. Van De Weerd, H. A., and Day, J. E. L. (2009). A review of environmental enrichment for pigs housed in intensive housing systems. *Anim. Behav. Sci,* CXVI (1), 1–20.
23. Welfare Quality® Network. (2009). Welfare Quality® assessment protocolfor pigs (sows and piglets, growing and finishing pigs). Welfare Quality®Network. Retrieved from https://www.welfarequalitynetwork.net/media/1018/pig_protocol.pdf
24. Wensley, M.R., Tokach, M.D., Woodworth, J.C., Goodband, R.D., Gebhardt, J.T., DeRouchey, J.M. and McKilligan, D. (2021). Maintaining continuity of nutrient intake after weaning. I. Review of pre-weaning strategies. *Transl. anim. sci.*, V (1).
25. Zappaterra, M., Faucitano, L. and Nanni Costa, L. (2023). Road Transport: A Review of Its Effects on the Welfare of Piglets. *J. Anim.*, XIII (10), p.1604.
26. Zonderland, J.J., Wolthuis-Fillerup, M., van Reenen, C.G., Bracke, M.B.M., Kemp, B., Hartog, L.A. den and Spoolder, H.A.M. (2008). Prevention and treatment of tail biting in weaned piglets. *Anim. Behav. Sci.*,CX (3-4), pp.269–281.

VALUTAZIONE DELL'INTEGRAZIONE DI *ASCOPHYLLUM NODOSUM* E *LITHOTHAMNIUM CALCAREUM* COME ALGHE FUNZIONALI IN DIETE DI SUINETTI INFETTATI SPERIMENTALMETNE CON *ESCHERICHIA COLI* F4+

EVALUATION OF DIETARY SUPPLEMENTATION OF ASCOPHYLLUM NODOSUM AND LITHOTHAMNIUM CALCAREUM AS FUNCTIONAL ALGAE IN F4+ ESCHERICHIA COLI CHALLENGED PIGLETS

DELL'ANNO M.[1], FRAZZINI S.[1], REGGI S.[1], FERRI I.[1], SCAGLIA E.[1,2], SCHIASSELLONI L.[1], INGLESI A.[1], RIVA F.[1], VERDILE N.[3], PASQUARIELLO R.[3], ROSSI L.[1]

[1]*Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali*
DIVAS, Università degli Studi di Milano
[2]*Dipartimento di Ingegneria Civile, Architettura, Territorio, Ambiente e di Matematica*
DICATAM, Università degli Studi di Brescia
[3]*Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali - Produzione, Territorio, Agroenergia*
DISAA, Università degli Studi di Milano

Parole chiave: alternative agli antibiotici, nutrizione funzionale, salute intestinale
Keywords: alternatives to antibiotics, functional nutrition, gut health

Riassunto

Nonostante i progressi nella riduzione degli antibiotici in zootecnia, sono necessarie strategie innovative per limitarne l'uso e contrastare la resistenza antimicrobica. Nei suinetti, *Escherichia coli* patogeni restano una delle principali cause di disturbi gastrointestinali e di impiego di antibiotici. Le alghe rappresentano una soluzione nutrizionale sostenibile, ricca di molecole funzionali, con effetti benefici sulla salute. Questo studio ha valutato l'integrazione nella dieta di *Ascophyllum nodosum* e *Lithothamnium calcareum* sulla crescita, lo shedding di *E. coli* F4+, l'espressione genica e la morfologia intestinale in suinetti infettati sperimentalmente con *E. coli* F4+. Quarantotto suinetti svezzati sono stati suddivisi in un gruppo di controllo con dieta commerciale (CTRL, n = 24) e un gruppo trattato con dieta integrata con 1,5% *A. nodosum* e 0,5% *L. calcareum* (ALGAE, n = 24) per 27 giorni. Al giorno 13, il 50% dei suini ha ricevuto 10^8 UFC di *E. coli* F4+, formando due sottogruppi infetti (CTRL+ e ALGAE+). I suinetti ALGAE+ hanno mostrato un peso superiore rispetto ai CTRL+ dopo 7 giorni dal challenge ($p < 0,0001$). Nel digiuno, il gruppo CTRL+ ha evidenziato una riduzione dell'altezza e della larghezza dei villi, nonché del rapporto altezza villo/profondità cripte rispetto ad ALGAE+ ($p < 0,05$). I risultati suggeriscono che *A. nodosum* e *L. calcareum* possano supportare la salute intestinale e contribuire alla riduzione dell'uso di antibiotici in suinicoltura.

Abstract

Despite advances in reducing antimicrobial use in livestock, alternatives are needed to maintain efficacy and limit the antimicrobial resistance spreading. In piglets, pathogenic *E. coli* remain a leading cause of gastrointestinal diseases and antibiotic use. Algae offer a sustainable nutritional innovation, rich in functional molecules, supporting livestock health and sustainability. The aim of this study was to evaluate the dietary supplementation

of *Ascophyllum nodosum* and *Lithothamnium calcareum* on growth, F4+ *E. coli* shedding, intestinal gene expression, and morphology in F4+ *E. coli*-challenged piglets. Forty-eight piglets (28±2 days) were assigned to: the control group was fed a commercial diet (CTRL, n = 24), while the seaweeds group was fed a commercial diet supplemented with 1.5% *A. nodosum* and 0.5% *L. calcareum* (ALGAE, n = 24) for 27 days. On day 13, 50% of each group received an oral challenge with 10^8 CFU/dose of *E. coli* F4+, forming infected subgroups (CTRL+ and ALGAE+). Growth performance was monitored, and duodenum and jejunum samples were collected on day 27 for gene expression and histological analysis. ALGAE+ piglets showed significantly higher body weight than CTRL+ at 7 days post-challenge ($p < 0.0001$). Jejunum revealed lower villus height, villus width and villus height/crypt depth ratio in CTRL+ compared to ALGAE+ ($p < 0.05$). These findings suggest that *A. nodosum* and *L. calcareum* could support animal health and reduce antibiotic use in piglets.

INTRODUZIONE

Lo svezzamento rappresenta una delle fasi più critiche in suinicoltura, caratterizzata da stress fisiologici e ambientali, tra cui la separazione dalla madre, il cambiamento di dieta e la riorganizzazione sociale, con un sistema immunitario e digestivo ancora immaturo (1). Questa condizione aumenta la suscettibilità alle infezioni patogene, favorendo l'insorgenza di disturbi gastrointestinali come la diarrea post-svezzamento (PWD), principalmente causata da ceppi enterotossigeni di *Escherichia coli* (ETEC), noti per la loro elevata virulenza e resistenza ambientale (2, 3).

L'impiego profilattico di antibiotici per il controllo delle infezioni, ampiamente adottato in passato, ha contribuito alla diffusione della resistenza antimicrobica, suscitando preoccupazioni sanitarie e determinando l'introduzione di restrizioni normative volte a limitarne l'impiego in ambito veterinario (5–7). In questo contesto, la ricerca si è orientata verso strategie alternative, coerenti con l'approccio *One Health*, che prevedono l'adozione di strategie nutrizionali funzionali, il miglioramento delle condizioni igienico-sanitarie, manageriali e l'uso mirato di vaccini per ridurre la dipendenza dagli antimicrobici (8–10). Tra le strategie emergenti, l'integrazione di ingredienti funzionali nella dieta sta ricevendo crescente attenzione al fine di modulare il microbiota intestinale, migliorare la salute animale e prevenire le infezioni (11). In questo contesto, le alghe rappresentano una risorsa naturale ricca di composti bioattivi con potenziali effetti benefici sulla salute intestinale e risposta immunitaria (12).

Ascophyllum nodosum, un'alga bruna tipica dell'Atlantico nord-orientale, nota per il suo elevato contenuto di minerali, polifenoli e florotannini con proprietà antiossidanti e antimicrobiche (13,14). *Phymatolithon calcareum* (*Lithothamnium calcareum*), è un'alga rossa calcarea caratterizzata dal suo elevato contenuto di carbonato di calcio e polisaccaridi solforati, con effetti benefici sulla stabilità del pH intestinale e con potenziale antinfiammatorio (15, 16).

Recenti studi suggeriscono che la combinazione di *A. nodosum* e *L. calcareum* possa avere un effetto sinergico nel migliorare le prestazioni di crescita, la salute intestinale e nel contrastare la colonizzazione di *E. coli* patogeno nei suinetti (17,18). Alla luce di queste evidenze, il presente ha voluto di valutare gli effetti dell'integrazione della dieta di questa combinazione innovativa di alghe sulle performance di crescita, la morfologia intestinale e lo shedding fecale del ceppo challenge *E. coli* in suinetti svezzati infettati sperimentalmente con *E. coli* F4+.

MATERIALI E METODI

2.1 Composizione delle alghe

I campioni di *A. nodosum* e *L. calcareum* sono stati analizzati in duplicato per determinare il contenuto di sostanza secca (SS), proteina grezza (PG), estratto etereo (EE), fibra grezza (FG) e ceneri, secondo i Metodi Ufficiali di Analisi (16).

2.2 Animali e disegno sperimentale

Lo studio, approvato dall'Organismo Preposto al Benessere Animale dell'Università di Milano e dal Ministero della Salute (aut. n. 884/2021-PR), ha coinvolto 48 suinetti ibridi (*Landrace* × *Large White*), ospitati presso il Centro Zootecnico Didattico Sperimentale dell'Università degli Studi Milano. Gli animali, divisi in due gruppi bilanciati per peso e sesso, sono stati alimentati per 27 giorni con una dieta commerciale standard (CTRL, n=24) o la stessa dieta integrata con il 2% di miscela di alghe (1,5% *A. nodosum*, 0,5% *L. calcareum*) (ALGAE, n=24). I mangimi sono stati formulati con il software Plurimix e forniti da Ferraroni S.p.A. (Bonemerse, Italia).

2.3 Infezione sperimentale

Il giorno 13, 24 suinetti (12 per gruppo) sono stati infettati per via orale con *E. coli* F4+, secondo il protocollo di Rossi et al. (17). Gli animali infettati sono stati separati con barriere e misure di biosicurezza dai non infettati per evitare contaminazioni crociate, generando quattro gruppi sperimentali: CTRL+, ALGAE+ (infettati), CTRL−, ALGAE− (non infettati).

2.4 Performance e raccolta campioni

I suinetti sono stati pesati ai giorni 0, 7, 13, 20 e 27 per calcolare l'incremento ponderale medio giornaliero (IMPG), consumo di alimento (ADFI) e indice di conversione alimentare (ICA). Campioni fecali sono stati prelevati ai giorni 0, 13–20 e 27 per valutare l'eliminazione (shedding) di *E. coli* F4+ con analisi microbiologica e molecolare. Al giorno 27, 6 animali per gruppo sono stati macellati per prelevare campioni di duodeno e digiuno destinati a studi di espressione genica e analisi istologica. La salute è stata monitorata quotidianamente. La consistenza fecale è stata valutata su una scala a 4 livelli, mentre il colore fecale è stato classificato in tre livelli, secondo Rossi et al. (17). La Figura 1 riassume il design sperimentale e il campionamento.

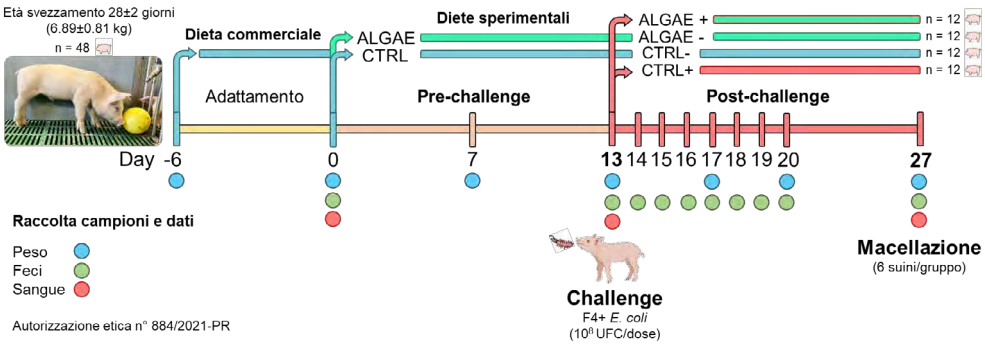


Figura 1. Disegno sperimentale e raccolta campioni.

2.8 Espressione genica e analisi istologica

L'RNA totale è stato estratto dal duodeno con TRIzol (Sigma-Aldrich) e retrotrascritto utilizzando il kit iScript™ (Bio-Rad). L'espressione genica relativa è stata quantificata tramite qPCR per i geni: COX1, COX2, IL-10, IL-8, OCLN, SOD1, TGF-β, NQ01, impiegando ACT-β come gene housekeeping (36). Campioni di duodeno e digiuno sono stati fissati in formalina, processati e colorati con ematossilina-eosina. La microscopia è stata condotta con il sistema ZEISS Axio Zoom.V16, e la morfometria villo-cripta è stata misurata con il software ZEISS ZEN (18).

2.12 Analisi statistica

Le analisi statistiche sono state condotte con GraphPad Prism 9.0. Dopo verifica della normalità (Kolmogorov–Smirnov, $p>0,05$), le performance zootecniche, lo shedding fecale del ceppo challenge e i parametri istologici sono stati analizzati con ANOVA a una via e test di Tukey. La frequenza della diarrea è stata valutata con test chi-quadrato, mentre i dati di qRT-PCR con Kruskal–Wallis. Le differenze sono state considerate significative per $p\leq0,05$.

RISULTATI

3. Risultati

3.1 Composizione nutrizionale delle alghe e delle diete sperimentali

A. nodosum e *L. calcareum* hanno mostrato alti valori di ceneri (25,33 e 92,75% tal quale), seguiti dal contenuto di fibra grezza (8,92 e 2,91% tal quale). Le diete sperimentali sono risultate bilanciate e l'aggiunta di alghe non ha alterato in modo sostanziale la formulazione, in linea con le richieste nutritive dei suinetti nel post-svezzamento (Tabella 1) (19).

Tabella 1. Composizione chimica delle alghe e delle diete sperimentali preparate per la prova sperimentale.

Analita (%, sul tal quale)	***A. nodosum***	***L. calcareum***	**CTRL**	**ALGAE**
Umidità	8.56	0.40	6.81	6.62
PG	6.93	0.21	18.38	18.35
EE	1.79	0.27	4.51	4.63
FG	8.92	2.91	2.74	2.66
Ceneri	25.33	92.75	4.82	4.89

PG: proteine grezze; EE: estratto etereo; FG: fibra grezza; CTRL: dieta controllo; ALGAE: dieta integrata con 1.5% di *A. nodosum* e 0.5% di *L. calcareum*.

3.2 Performance zootecniche

Tutti i suinetti hanno mostrato performance sovrapponibili nella fase pre-infezione sperimentale (0–12 giorni). Al passaggio alla fase post-infezione (13–27 giorni), si sono riscontrate differenze significative tra i quattro gruppi. In particolare, il peso corporeo (BW) del gruppo CTRL+ era significativamente minore al giorno 20 rispetto a ALGAE+ ($p < 0,05$) (Tabella 2). Tra i giorni 13 e 20, la crescita media giornaliera (ADG) era ridotta nei gruppi infettati (ALGAE+ e CTRL+), con un calo particolarmente marcato in CTRL+ che ha mostrato persino un decremento ponderale tra i giorni 17 e 20. Al contrario, ALGAE+ ha evidenziato un recupero e un ADG superiore agli altri gruppi in quello stesso intervallo. Il consumo di mangime (ADFI) non ha mostrato differenze significative, mentre l'indice di conversione alimentare (FCR) era più elevato in CTRL+ rispetto agli altri ($p < 0,05$), indicando un effetto negativo dell'infezione sperimentale sulla efficienza alimentare in assenza di integrazione con alghe. Durante il periodo di adattamento (0–7 giorni), la frequenza di diarrea è risultata del 2,08% delle osservazioni totali in CTRL e del 2,78% in ALGAE; tra il giorno 0 e 7 si è osservato un aumento significativo di diarrea nel gruppo CTRL (11,58%) rispetto a ALGAE (5,12%), seppur influito dalla presenza di un singolo suinetto con diarrea protratta. Tra 8 e 13 giorni, le frequenze di diarrea si sono abbassate (4,35% in CTRL e 3,33% in ALGAE). Nel periodo post-infezione (13–27 giorni), non si sono registrati episodi di diarrea, a indicare che la dose di E. coli F4+ utilizzata ha comportato più che altro uno stato di stress subclinico senza diarrea evidente.

Tabella 2. Performance zootecniche durante i periodi pre-challenge (0-12 giorni) e post-challenge (13-27 giorni) per i gruppi controllo (CTRL) e quelli che hanno ricevuto l'integrazione di alghe (ALGAE), suddivisi in gruppi non infettati (-) e infettati (+) durante il periodo post-challenge dopo il giorno 12.

	Periodo	Gruppi				*p-values*		
	Pre-challenge	CTRL	ALGAE			Time	Trt	Time x Trt
	d 0	7.66±0.18	7.68±0.19			<0.0001	0.2912	0.0332
	d 7	8.18±0.29	8.80±0.26					
Peso (kg)	Post-challenge	CTRL -	ALGAE -	CTRL +	ALGAE +			
	d 13	9.72±0.79	10.38±0.48	10.17±0.37	10.57±0.39	<0.0001	0.4839	<0.0001
	d 17	13.89±0.53	14.08±0.65	13.14±0.41	12.30±0.51			
	d 20	14.58±0.61^{ab}	15.08±0.70^{ab}	13.04±0.53^{b}	15.66±0.51^{a}			
	d 27	19.66±0.64	19.74±0.76	18.28±0.68	18.89±0.62			
	Pre-challenge	CTRL	ALGAE					
	d 0-7	73.38±31.08	78.57±50.00			0.0478	0.7029	0.6567
	d 7-13	276.19±37.33	208.33±75.00					
IPMG (g/giorno)	Post-challenge	CTRL -	ALGAE -	CTRL +	ALGAE +			
	d 13-17	1043.75±47.59^{a}	925.00±74.87^{a}	740.91±60.80^{b}	433.33±56.10^{c}	<0.0001	0.0003	<0.0001
	d 17-20	227.78±70.69^{a}	330.56±128.28^{a}	-33.33±121.02^{b}	1119.45±90.22^{c}			
	d 21-27	726±30.09	666.67±74.34	749.35±52.70	461.91±42.14			
	Pre-challenge	CTRL	ALGAE					
	d 0-12	535±35	547±33				0.7726	
ADFI (g/giorno)	Post-challenge	CTRL -	ALGAE -	CTRL +	ALGAE +			
	d 13-20	640±81	815±82	699±51	688±52	0.4371	0.3027	0.3323
	d 21-27	789±80	783±56	624±87	794±71			
	Pre-challenge	CTRL	ALGAE					
	d 0-13	2.55±0.52	2.53±0.17				0.9738	
ICA (rapporto)	Post-challenge	CTRL -	ALGAE -	CTRL +	ALGAE +			
	d 13-20	1.29±0.11^{a}	1.63±0.16^{a}	2.71±0.59^{b}	1.04±0.08^{a}	0.0278	0.1229	<0.0001
	d 21-27	1.11±0.07	1.33±0.16	0.9±0.05	1.82±0.13			

d: giorno sperimentale; IPMG: incremento ponderale medio giornaliero; ADFI: consumo di alimento medio giornaliero; ICA: indice di conversione alimentare; Trt: effetto trattamento; Time x Trt: interazione tra l'effetto tempo e trattamento.

3.3 Shedding fecale del ceppo usato per il challenge

Nei gruppi infettati, il conteggio su piastra ha evidenziato una positività per il ceppo infettante già 2–3 giorni dopo l'infezione, con persistenza fino al giorno 18. L'analisi con qPCR ha mostrato differenze significative nella quantità di DNA di *E. coli* F4+ nelle feci (Figura 2) ($p < 0,0001$). Il gruppo ALGAE+ presentava una maggiore quantità di DNA batterico dal giorno 15 al 17 rispetto a CTRL+, mentre al giorno 20 era quest'ultimo (CTRL+) a mostrare livelli più alti di *E. coli* F4+ ($p < 0,01$).

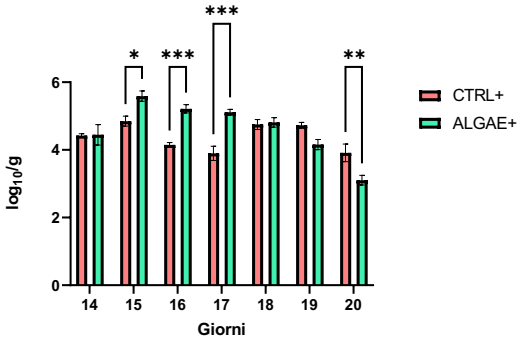


Figura 2. Abbondanza relativa di DNA del ceppo infettante nelle feci durante i 7 giorni successivi all'infezione sperimentale (giorni 13–20) nei gruppi di controllo infettato (CTRL+) e integrato con alghe (ALGAE+). I dati sono presentati come media ± errore standard di log10/g di feci fresche. **, *** Gli asterischi indicano che le medie sono significativamente diverse rispettivamente a $p < 0,05$, $p < 0,01$ e $p < 0,001$.

3.6 Espressione genica nel duodeno

Al giorno 27, l'analisi dell'espressione dei geni target non ha evidenziato differenze significative tra i quattro gruppi. Probabilmente il livello di stress infettivo moderato e la durata del periodo di prova non erano sufficienti per alterazioni marcate a livello di espressione genica nel duodeno.

3.7 Morfologia intestinale di duodeno e digiuno

All'esame istologico, il duodeno ha mostrato una riduzione significativa dell'altezza dei villi nei due gruppi infettati (CTRL+ e ALGAE+) rispetto ai corrispondenti gruppi non infettati (CTRL− e ALGAE−) ($p < 0,001$; Tabella 3). Nel digiuno, invece, l'altezza dei villi risultava ridotta in CTRL+ rispetto a tutti gli altri gruppi, mentre ALGAE+ manteneva valori paragonabili ai non infettati. Di conseguenza, il rapporto altezza villo/profondità cripta (VH:CD) era significativamente inferiore in CTRL+ rispetto agli altri gruppi, indicando un effetto protettivo dell'integrazione di alghe nella dieta contro le alterazioni morfologiche indotte dall'infezione sperimentale.

Tabella 3. Parametri di morfologia intestinale di duodeno e digiuno al giorno 27 nei gruppi di controllo (CTRL) e integrati con alghe (ALGAE), suddivisi in non infettati (−) e infettati (+).

Parameter	CTRL-	ALGAE-	CTRL+	ALGAE+	SEM	*p-value*
Altezza villi (µm)						
Duodeno	304.6[a]	285.2[a]	233.2[b]	229.2[b]	8.0	<0.001
Digiuno	328.5[a]	300.4[a]	218.9[b]	294.7[a]	10.3	<0.001
Larghezza villi (µm)						
Duodeno	131.1[a]	135.9[a]	114.5[b]	119.0[b]	3.2	<0.050
Digiuno	118.1[a]	115.6[a]	91.9[b]	119.8[a]	2.8	<0.001
Profondità cripte (µm)						
Duodeno	127.0	120.5	109.6	109.7	3.9	ns
Digiuno	97.7	84.8	78.8	92.6	2.7	ns
VH:CD rapporto						
Duodeno	2.5	2.7	2.3	2.8	0.2	ns
Digiuno	3.3[a]	3.4[a]	2.7[b]	3.1[a]	0.2	<0.050

VH:CD ratio: rapporto tra l'altezza dei villi (VH) e la profondità delle cripte (CD). I dati sono presentati come medie ± errore standard della media (SEM). [a,b] Lettere minuscole diverse indicano differenze statisticamente significative tra i gruppi ($p < 0,05$).

DISCUSSIONE

Effetti sulle performance di crescita

In condizioni sperimentali controllate, senza diarrea clinica, abbiamo riscontrato differenze significative nella crescita (misurata come BW e ADG) nei suini infettati sperimentalmente con *E. coli*, a seconda che ricevessero o meno la dieta con alghe (20). In particolare, i suinetti del gruppo CTRL+ (infettati ma non alimentati con alghe) hanno mostrato una crescita minore e un peggior indice di conversione alimentare nella prima settimana dopo l'infezione sperimentale, rispetto al gruppo ALGAE+ (infettati e integrati con alghe). Altri studi avevano già evidenziato che le alghe brune (come *A. nodosum*) sono fonti di composti bioattivi (ad esempio florotannini, fucoidani e alginati) con proprietà antimicrobiche, immunomodulanti e antiossidanti (14, 21). Analogamente, *L. calcareum* è ricca di carbonato di calcio ad alta biodisponibilità e può fornire oligoelementi utili al metabolismo e al mantenimento di un corretto equilibrio elettrolitico (22).

L'infezione sperimentale ha contribuito a uno "stress moderato" nei suinetti, come dimostrato dalla riduzione dell'accrescimento e dall'aumento dell'ICA in CTRL+. Al contrario, nei suini ALGAE+ l'impatto negativo dell'infezione sperimentale sulla crescita è risultato attenuato, evidenziando un possibile ruolo protettivo e funzionale della miscela di *A. nodosum* e *L. calcareum* (23).

Shedding fecale di *E. coli* F4+

L'analisi del DNA batterico (gene FaeG) e le conte su piastra hanno confermato le operazioni di challenge con *E. coli* F4+, e hanno mostrato che il 69,57% degli animali infettati presentava ceppo infettante nelle feci al giorno 16 (3 giorni dopo il challenge) (24). L'abbondanza di *E. coli* F4+ è rimasta rilevabile fino a circa il giorno 18. Da un lato, abbiamo notato che, nei primi giorni post-infezione, il gruppo ALGAE+ aveva una maggiore presenza di *E. coli* (in termini di DNA misurato) rispetto al CTRL+; dall'altro, dopo 7 giorni di distanza dall'infezione il gruppo CTRL+ mostrava una presenza più elevata di *E. coli* F4+ rispetto agli animali ALGAE+. Ciò potrebbe indicare, da un lato, un'interazione iniziale più elevata tra il patogeno e i tessuti intestinali nel gruppo ALGAE+, ma, dall'altro, una ridotta persistenza del patogeno dopo la prima settimana. Non abbiamo tuttavia registrato l'effetto di inibizione o riduzione netta della colonizzazione batterica con l'integrazione di alghe. Ipotizziamo che l'effetto benefico della miscela *A. nodosum* e *L. calcareum* consista nel migliorare l'integrità della barriera intestinale e lo stato immunitario complessivo dei suinetti, riducendo di conseguenza i danni associati all'infezione sperimentale, come anche emerso dal mantenimento di migliori performance di crescita (5, 25).

Espressione genica

Nel duodeno, non abbiamo rilevato differenze significative nell'espressione dei geni considerati. È noto dalla letteratura che l'espressione di alcune citochine infiammatorie può essere particolarmente intensa nelle prime 24-48 ore dal contatto con il patogeno, mentre i nostri campioni tissutali sono stati prelevati a 9 giorni dall'infezione sperimentale (26). Ciò potrebbe giustificare la mancata rilevazione di variazioni nell'espressione genica in questa fase più tardiva. Inoltre, la variabilità individuale nella risposta potrebbe aver mascherato piccole differenze tra i trattamenti.

Morfologia intestinale

Le analisi istologiche hanno rivelato alterazioni significative nel gruppo CTRL+ in termini di altezza dei villi e rapporto villo/cripta, specialmente nel tratto del digiuno (27). La riduzione dell'altezza dei villi e/o l'ipertrofia delle cripte rappresentano segnali di danno alla barriera

intestinale e implicano una ridotta capacità di assorbimento dei nutrienti. Nei gruppi integrati con alghe (ALGAE+ e ALGAE−), invece, la struttura dei villi si è mantenuta pressoché simile a quella dei suinetti non infettati (CTRL−), suggerendo un effetto protettivo sulle cellule dell'epitelio intestinale.
Nel duodeno, entrambi i gruppi infettati (CTRL+ e ALGAE+) hanno mostrato un calo dell'altezza dei villi rispetto ai gruppi non infettati, segno che l'infezione sperimentale in parte ha interessato anche il primo tratto intestinale e che la miscela di alghe potrebbe non essere stata sufficiente a prevenire completamente la riduzione in questo tratto. Nel digiuno, invece, la presenza di alghe ha protetto maggiormente la mucosa, con parametri istologici (altezza e larghezza dei villi, rapporto villo:cripta) simili a quelli dei suini non infettati (6, 24).
Questi risultati enfatizzano l'importanza di un'alimentazione funzionale capace di sostenere l'integrità della barriera intestinale in presenza di *E. coli* patogeni, anche in assenza di una sintomatologia clinica di diarrea. È verosimile che i composti bioattivi di *A. nodosum* e la componente minerale altamente biodisponibile di *L. calcareum* abbiano sostenuto il rinnovamento e la funzionalità della mucosa intestinale (15, 28, 29).
I dati ottenuti suggeriscono che l'integrazione con *A. nodosum* e *L. calcareum*, pur non sopprimendo completamente *E. coli* F4+ in fase iniziale, abbia comunque fornito un certo grado di protezione contro i danni intestinali e contro il calo di performance. Tali benefici appaiono più marcati a livello del digiuno, dove i parametri morfologici suggeriscono un migliore mantenimento dell'integrità della barriera intestinale nei suini infettati che ricevevano la dieta con alghe. In futuro, studi ulteriori potrebbero focalizzarsi sulla modulazione del microbiota intestinale e sull'analisi di parametri infiammatori ad azione più rapida, nonché sulla persistenza di eventuali effetti benefici a lungo termine (10, 17).
Tenendo conto dell'elevato valore pratico di questi risultati, la combinazione di queste alghe potrebbe essere considerata una strategia promettente di alimentazione funzionale nell'allevamento suino, con il potenziale di ridurre la frequenza di disturbi multifattoriali e la necessità di impiego di trattamenti con antibiotici (3, 7). In questo modo si promuoverebbe un approccio più sostenibile e rispettoso sia della salute animale sia dell'ambiente.

CONCLUSIONI

In conclusione, la miscela di alghe ha esercitato un effetto protettivo contro il danno intestinale causato dal challenge con *E. coli* F4+, indicando che l'integrazione con *A. nodosum* e *L. calcareum* può costituire una strategia interessante per supportare la crescita degli animali, migliorare lo stato di salute e ridurre i trattamenti antibiotici nei suinetti svezzati.

BIBLIOGRAFIA

1. Tang X., Xiong K., Fang R., Li M. (2022) "Weaning stress and intestinal health of piglets: a review". Front Immunol. 13, 1042778
2. Rymut H.E., Rund L.A., Bolt C.R., Villamil M.B., Southey B.R., Johnson R.W., et al. (2021) "The combined effect of weaning stress and immune activation during pig gestation on serum cytokine and analyte concentrations". Animals 11, 2274
3. Faccin J.E., Tokach M.D., Allerson M.W., Woodworth J.C., Derouchey J.M., Dritz S.S., et al. (2020) "Relationship between weaning age and antibiotic usage on pig growth performance and mortality". J Anim Sci. 98, skaa363
4. Regulation EU 6/2019 (2019) "Regulation (EU) 2019/6 of the European Parliament and of the council of 11 December 2018 on veterinary medicinal products and repealing directive 2001/82/EC (text with EEA relevance)".
5. Bosi P., Sarli G., Casini L., De Filippi S., Trevisi P., Mazzoni M., et al. (2007) "The influence of fat protection of calcium formate on growth and intestinal defence in *Escherichia coli* K88-challenged weanling pigs". Anim Feed Sci. Technol. 139, 170–185

6. Tang K.L., Caffrey N.P., Nóbrega D.B., Cork S.C., Ronksley P.E., Barkema H.W., et al. (2017) "Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: a systematic review and meta-analysis". Lancet Planet Health. 1, e316–e327
7. Baudoin F., Hogeveen H., Wauters E. (2021) "Reducing antimicrobial use and dependence in livestock production systems: a social and economic sciences perspective on an interdisciplinary approach". Front Vet Sci 8, 584593
8. Noyes N.R., Slizovskiy I.B., Singer R.S. (2021) "Beyond antimicrobial use: a framework for prioritizing antimicrobial resistance interventions". Annu Rev Anim Biosci. 9, 313–332
9. EMA, Committee for Medicinal Products for Veterinary Use and EFSA Panel on Biological Hazards; Murphy D., Ricci A., Auce Z., Beechinor J.G., Bergendahl H., et al. (2017) "EMA and EFSA joint scientific opinion on measures to reduce the need to use antimicrobial agents in animal husbandry in the European Union, and the resulting impacts on food safety (RONAFA)". EFSA J. 15, e04666
10. Dhama K., Chakraborty S., Kapoor S., Tiwari R., Kumar A., Deb R., et al. (2013) "One world, one health–veterinary perspectives". Adv Anim Vet Sci. 1, 5–13
11. Celi P., Cowieson A., Fru-Nji F., Steinert R., Kluenter A.-M., Verlhac V. (2017) "Gastrointestinal functionality in animal nutrition and health: new opportunities for sustainable animal production". Anim Feed Sci Technol. 234, 88–100
12. Pluske J.R. (2013) "Feed-and feed additives-related aspects of gut health and development in weanling pigs". *J. Anim.* Sci Biotechnol. 4, 1–7
13. Dell'anno M., Hejna M., Sotira S., Caprarulo V., Reggi S., Pilu R., et al. (2020) "Evaluation of leonardite as a feed additive on lipid metabolism and growth of weaned piglets". Anim Feed Sci Technol. 266, 114519
14. Makkar H.P., Tran G., Heuzé V., Giger-Reverdin S., Lessire M., Lebas F., et al. (2016) "Seaweeds for livestock diets: a review". Anim Feed Sci Technol. 212, 1–17
15. Mavrommatis A., Tsiplakou E., Zerva A., Pantiora P.D., Georgakis N.D., Tsintzou G.P., et al. (2023) "Microalgae as a sustainable source of antioxidants in animal nutrition, health and livestock development". Antioxidants 12, 1882
16. AOAC (2019) "Official Methods of Analysis". Washington, DC, Association of Official Analytical Chemists
17. Rossi L., Turin L., Alborali G.L., Demartini E., Filipe J.F.S., Riva F., et al. (2021) "Translational approach to induce and evaluate *Verocytotoxic E. coli* O138-based disease in piglets". Animals 11, 2415
18. Verdile N., Pasquariello R., Scolari M., Scirè G., Brevini T.A., Gandolfi F. (2020) "A detailed study of rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) intestine revealed that digestive and absorptive functions are not linearly distributed along its length". Animals 10, 745
19. NRC (2012) "Nutrient Requirements of Swine". Washington, DC, The National Academies Press
20. Turner J.L., Dritz S.S., Higgins J.J., Minton J.E. (2002) "Effects of *Ascophyllum nodosum* extract on growth performance and immune function of young pigs challenged with *Salmonella typhimurium*". J Anim Sci. 80, 1947–
21. Wang Y., Xu Z., Bach S., McAllister T. (2009) "Sensitivity of *Escherichia coli* to seaweed (*Ascophyllum nodosum*) phlorotannins and terrestrial tannins". Asian-Australas J Anim Sci. 22, 238–245
22. Dos Santos L.B.D.A., Genova J.L., De Oliveira Carvalho P.L., Rupolo P.E., Carvalho S.T. (2021) "Calcitic seaweed (*Lithothamnion calcareum*) as an organic source of calcium in piglet feeding". Anim Prod Sci. 61, 662–672
23. Dierick N., Ovyn A., De Smet S. (2010) "*In vitro* assessment of the effect of intact marine brown macro-algae *Ascophyllum nodosum* on the gut flora of piglets". Livest Sci. 133, 154–156

24. Girard M., Hu D., Pradervand N., Neuenschwander S., Bee G. (2020) “Chestnut extract but not sodium salicylate decreases the severity of diarrhea and enterotoxigenic *Escherichia coli* F4 shedding in artificially infected piglets”. PLoS ONE 15, e0214267
25. Bikker P., Stokvis L., Van Krimpen M., Van Wikselaar P., Cone J. (2020) “Evaluation of seaweeds from marine waters in northwestern Europe for application in animal nutrition”. Anim Feed Sci Technol. 263, 114460
26. Vodolazska D., Hedemann M.S., Lauridsen C. (2023) “Impact of liquid diet supplementation while suckling and weaning age on nutritional status, intestinal health, and immunity of piglets pre-and post-weaning”. J Anim Sci. 101, skad231
27. Bikker P., Stokvis L., Van Krimpen M., Van Wikselaar P., Cone J. (2020) “Evaluation of seaweeds from marine waters in northwestern Europe for application in animal nutrition”. Anim Feed Sci Technol. 263, 114460
28. Takiya C.S., Ribeiro V.C., De Almeida C., Bugoni M., Vittorazzi P. Jr., Chesini R.G., et al. (2023) “Feeding phytogenic ingredients combined or not with *Lithothamnium calcareum* and a mycotoxin binder to lactating cows: effects on performance, nutrient digestibility, physiological parameters, and nitrogen excretion”. Anim Feed Sci Technol. 303, 115718
29. Frazzini S., Scaglia E., Dell’anno M., Reggi S., Panseri S., Giromini C., et al. (2022) “Antioxidant and antimicrobial activity of algal and cyanobacterial extracts: an *in vitro* study”. Antioxidants 11, 992

EPIDEMIOLOGIA E DISTRIBUZIONE DEI PARASSITI GASTROINTESTINALI NEGLI ALLEVAMENTI DA INGRASSO IN NORD ITALIA

EPIDEMIOLOGY AND DISTRIBUTION OF GASTROINTESTINAL PARASITES IN FATTENING PIG FARMS IN NORTHERN ITALY

ALLIEVI C., VALLERI M., ZANZANI S.A., ZANON A., MORTARINO M., MANFREDI M.T.

Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali, Università degli Studi di Milano, Via dell'Università, 6, 26900 Lodi, Italia

Parole chiave: endoparassiti; sito di ingrasso; zoonosi
Keywords: endoparasites; fattening unit; zoonosis

Riassunto
In Italia l'allevamento suinicolo è principalmente di tipo intensivo e le malattie parassitarie presentano spesso un quadro subclinico, pur causando perdite economiche e una diminuzione del benessere animale.
Il presente studio indaga i principali endoparassiti nei suini da ingrasso mediante l'analisi di 880 campioni fecali raccolti in 22 allevamenti situati nel nord Italia in due momenti diversi del ciclo di ingrasso, ovvero al momento dell'accasamento e appena prima della macellazione. Per l'analisi dei campioni è stata utilizzata una tecnica copromicroscopica quali-quantitativa e per la conferma di uova di cestodi è stata eseguita una PCR convenzionale. Sono stati raccolti dati relativi alla gestione aziendale per valutare i fattori di rischio associati alla presenza di infezioni parassitarie. Un totale di 95 campioni (10,8%) è risultato positivo per almeno un taxon parassitario; il parassita più rilevato è stato *Ascaris suum* (7,6%), seguito da *Trichuris suis* (1,7%) e *Cystoisospora suis* (0,9%). In 16 campioni (1,8%) sono state trovate uova con caratteristiche morfometriche riconducibili a quelle di *Hymenolepis diminuta*, cestode specifico dei micromammiferi, e l'analisi molecolare ha confermato una completa omologia.
Questo studio fornisce dati aggiornati sulla prevalenza dei parassiti nei suini dimostrando la loro persistenza, seppur con basse prevalenze, e la necessità di adottare misure specifiche per ridurre gli effetti sulla salute e sulla produttività degli animali.

Abstract
In Italy pig farming is mainly intensive and parasitic diseases often present a subclinical pattern, while causing economic losses and a decrease in animal welfare.
The present study investigates the main endoparasites in fatteners by analysing 880 faecal samples collected from 22 farms located in northern Italy in two different sampling sessions, i.e. at the beginning of the fattening cycle and just before slaughter. A quali-quantitative copromicroscopic technique was used to analyse the samples and a conventional PCR was performed to confirm the identification of cestode eggs. Farm management data were collected to assess the risk factors associated with the presence of parasitic infections. A total of 95 samples (10.8%) were positive for at least one parasitic taxon; the most detected parasite was *Ascaris suum* (7.6%), followed by *Trichuris suis* (1.7%) and *Cystoisospora suis* (0.9%). In 16 samples (1.8%), eggs with morphometric characteristics similar to those

of *Hymenolepis diminuta*, a micro-mammal specific cestode, were found, and molecular analysis confirmed complete homology.
This study provides current data on the prevalence of parasites in pigs, demonstrating their persistence, albeit at low prevalences, and the need to take specific measures to reduce their effects on animal health and productivity.

INTRODUZIONE

In Italia l'industria suinicola si concentra nelle regioni settentrionali, dove si trova la maggior parte degli allevamenti suinicoli, principalmente caratterizzati da un sistema di tipo intensivo. L'aumento di questa tipologia di allevamento ha favorito un importante miglioramento delle pratiche di igiene e biosicurezza, grazie alla loro applicabilità su larga scala (Laanen et al. 2013; Stygar et al. 2020; Pettersson et al. 2021a).
I parassiti dei suini sono comuni in tutti i sistemi produttivi; in particolare, quelli con un ciclo di vita diretto, caratterizzati da elementi parassitari fortemente resistenti in ambiente, possono facilmente diffondersi anche nell'allevamento di tipo intensivo. Le infezioni parassitarie hanno spesso un andamento subclinico, con conseguente minore attenzione nei loro confronti da parte di allevatori e veterinari, e sono raramente incluse come diagnosi differenziale nei disturbi gastrointestinali. Tuttavia, i parassiti possono essere responsabili di sintomi clinici, come diarrea e vomito, predisponendo ad altre malattie e causando una riduzione del tasso di crescita e della conversione alimentare, un'alterazione della distribuzione del grasso e lo scarto degli organi parassitati al macello (Kipper et al. 2011; Roepstorff et al. 2011). Un altro aspetto importante è che alcuni parassiti rappresentano un rischio di infezione per i professionisti coinvolti nella catena alimentare per il loro potenziale zoonotico, sia per contatto diretto che per esposizione ad ambienti contaminati (Nejsum et al. 2012). A livello aziendale diversi fattori possono influenzare la presenza di parassiti, come il tipo di pavimentazione, la presenza di accesso all'esterno, l'uso di lettiere e l'utilizzo del sistema tutto pieno/tutto vuoto (Joachim et al. 2001; Kochanowski et al. 2017). Inoltre, la mancanza di protocolli standardizzati per l'applicazione dei farmaci antiparassitari ha portato a un loro frequente utilizzo metafilattico, che può aumentare la selezione di alleli di resistenza nella popolazione parassitaria e ridurre il benessere degli animali, dal momento che le concentrazioni sub-terapeutiche di antielmintici consentono a un maggior numero di parassiti di sopravvivere al trattamento (Macrelli et al. 2019; Hinney et al. 2020).

MATERIALI E METODI

Lo studio è stato condotto in 22 allevamenti di suini da ingrasso situati in diverse regioni italiane, 18 in Lombardia, 3 in Piemonte e 1 in Emilia-Romagna. Tutti gli allevamenti erano di tipo intensivo, in cui i suini venivano accasati all'età di tre mesi, con un peso compreso tra 30 e 50 kg, e macellati all'età di nove mesi, con un peso compreso tra 160 e 180 kg. Complessivamente, sono stati campionati 880 suini in due diverse sessioni di campionamento: al tempo 1 (T1), ovvero all'inizio del ciclo di ingrasso, e al tempo 2 (T2), appena prima della macellazione. In ogni allevamento sono stati raccolti 20 campioni fecali in maniera randomica da diversi box, direttamente dall'ampolla rettale per evitare contaminazioni (440 campioni al T1 e 440 al T2).
Gli animali campionati erano apparentemente sani, senza sintomi clinici riconducibili alla presenza di parassiti gastrointestinali. Dopo la raccolta, i campioni sono stati posti in contenitori di plastica, etichettati e trasferiti in laboratorio refrigerati. Un' aliquota di ciascun campione è stata conservata a -20 °C per le successive analisi molecolari. I dati riguardanti la gestione dell'allevamento, tra cui le dimensioni dell'azienda (<1900 animali, ≥1900 animali), il tipo di pavimentazione (pieno, grigliato, misto), l'accesso all'esterno (sì/no), l'applicazione

del sistema tutto pieno/tutto vuoto (sì/no) e l'applicazione del trattamento antiparassitario (sì/no) sono stati raccolti in ogni azienda.
L'analisi copromicroscopica è stata effettuata nei due giorni successivi alla raccolta mediante una tecnica di flottazione quali-quantitativa. Per ogni campione è stata utilizzata la tecnica FLOTAC, caratterizzata da una sensibilità analitica di due uova/oocisti/larve per grammo (UPG/OPG/LPG) di feci (Cringoli et al. 2010). Tutti i campioni sono stati analizzati utilizzando due diverse soluzioni di flottazione, rispettivamente FS2 (cloruro di sodio, NaCl; p.s. = 1200) e FS7 (solfato di zinco, ZnSO4; p.s. = 1350). Le UPG/OPG sono state calcolate per tutti i nematodi e i coccidi rilevati, mentre l'infezione da cestodi è stata valutata solo mediante analisi qualitativa.
Per i coccidi, l'isolamento e la successiva identificazione delle oocisti sporulate sono stati effettuati utilizzando la soluzione di Sheater a base di sale e zucchero (p.s. = 1290) (Harleman & Meyer 1984; Joachim et al. 2018).
Per identificare le uova di cestodi il DNA è stato estratto dalle feci risultate positive con la tecnica FLOTAC usando un kit commerciale (QIAamp® Fast DNA Stool Mini Kit, QIAGEN, Hilden, Germania). È stata quindi eseguita una PCR convenzionale che, utilizzando primer universali per cestodi, amplificava le sequenze nucleotidiche di una regione di 471 bp del gene mitocondriale NADH deidrogenasi 1 (Bowles e McManus 1993). I prodotti della PCR sono stati fatti correre su gel di agarosio all'1,5% contenente bromuro di etidio allo 0,05% in un buffer TBE per elettroforesi e visualizzati sotto luce ultravioletta su un transilluminatore. Le bande della dimensione prevista (circa 500 bp) sono state estratte dal gel di agarosio e purificate con un kit commerciale (NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up, Macherey-Nagel, Düren, Germania). I prodotti di PCR purificati sono stati poi inviati per il sequenziamento a un servizio commerciale e le sequenze sono state confrontate con quelle disponibili nel database GenBank utilizzando il programma BLASTn (Tamura et al. 2013).
L'analisi statistica è stata condotta solo sui campioni raccolti nella seconda sessione di campionamento (T2) e i valori di prevalenza di ciascun parassita sono stati associati alle caratteristiche gestionali delle aziende. Quindi, i dati di gestione dell'allevamento (dimensioni, tipo di pavimentazione, accesso all'esterno, applicazione del sistema tutto pieno/tutto vuoto, applicazione del trattamento antiparassitario) sono stati valutati come fattori di rischio per la presenza dei parassiti e introdotti in modelli misti lineari generalizzati come variabili indipendenti, mentre lo stato di positività/negatività ai parassiti è stato introdotto come variabile dipendente. L'analisi statistica è stata eseguita con il software SPSS.

RISULTATI

Su 880 campioni fecali individuali, 95 (10,8%) hanno mostrato positività ad almeno un taxon di parassiti, mentre a livello aziendale è stata registrata una prevalenza di 63,6% (14/22 aziende positive) (Tabella 1). Complessivamente, *A. suum* è stato il parassita più rilevato, in particolar modo, dieci aziende su 22 (45,4%) e 67 suini su 880 (7,6%) sono risultati positivi (Tabella 1). *Trichuris suis* è stato riscontrato in sei aziende su 22 (27,3%) e in 15 suini su 880 (1,7%), mentre le uova di Strongylida e le larve di nematodi broncopolmonari non sono state rilevate in nessun campione. Tutte le oocisti di coccidi sono state classificate come appartenenti a *Cystoisospora suis*, mentre il genere *Eimeria* non è stato rinvenuto. Le oocisti di *C. suis* sono state sporadicamente trovate in entrambe le sessioni di campionamento, con una prevalenza aziendale di 13,6% e con otto campioni positivi su 880 (0,9%). Infine, uova di cestodi appartenenti alla famiglia Hymenolepididae, con caratteristiche morfometriche compatibili con quelle di *Hymenolepis diminuta*, sono state evidenziate in 16 campioni su 880 (1,8%).

Tabella 1. Prevalenza di parassiti gastrointestinali negli allevamenti di suini da ingrasso del Nord Italia.
Table 1. Prevalence of gastrointestinal parasites in fattening pig farms in northern Italy.

Parassiti rilevati	Campioni positivi		Aziende positive	
	N°	Prevalenza% (95% CI)	N°	Prevalenza % (95% CI)
Ascaris suum	67/880	7,6 (5,9-9,6)	10/22	45,4 (24,4-67,8)
Cystoisospora suis	8/880	0,9 (0,3-1,8)	3/22	13,6 (3,1-35,1)
Trichuris suis	15/880	1,7 (1-2,8)	6/22	27,3 (10,7-50,2)
Hymenolepididae	16/880	1,8 (1-2,9)	6/22	27,3 (10,7-50,2)
Totale	**95/880**	**10,8 (8,8-13)**	**14/22**	**63,6 (40,7-82,8)**

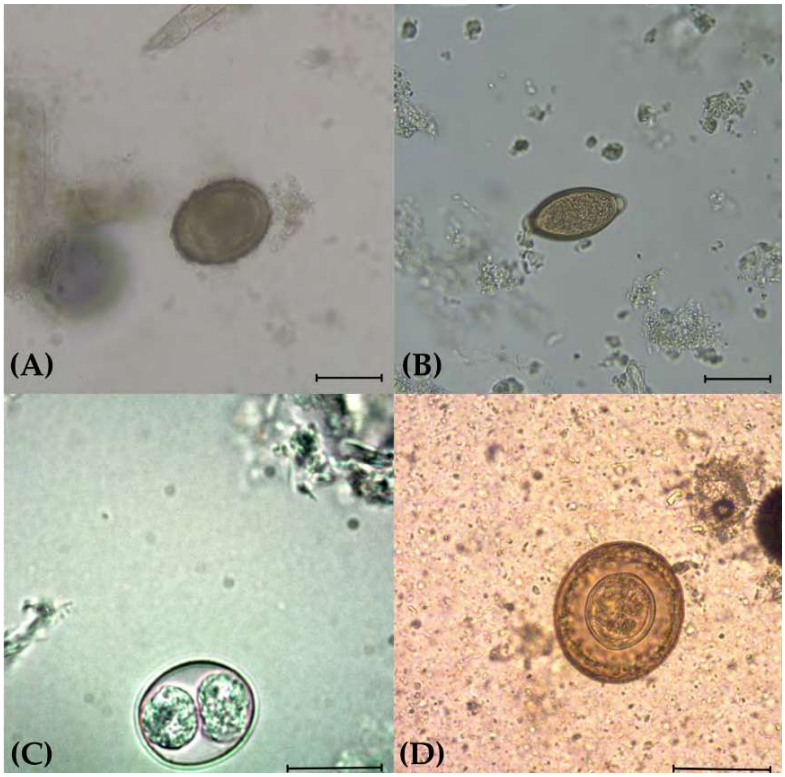


Figura 1. Uova di parassiti rilevati in campioni di feci di suino attraverso l'esame copromicroscopico condotto nel presente studio. A) Uovo di *Ascaris suum*, ingrandimento 200x, scala: 20 µm. B) Uovo di *Trichuris suis*, ingrandimento 200x, scala: 20 µm. C) Oocisti di *Cystoisospora suis*, ingrandimento 400x, scala: 15 µm. D) Uovo di *Hymenolepis diminuta*, ingrandimento 400x, scala: 50 µm.
Figure 1. Eggs of parasites detected in pig faeces by copromicroscopic analysis performed in the present study. A) Egg of *Ascaris suum*, magnification 200x, scale bar: 20 µm. B) Egg of *Trichuris suis*, 200x magnification, scale bar: 20 µm. C) Oocysts of *Cystoisospora suis*, 400x magnification, scale bar: 15 µm. D) Egg of *Hymenolepis diminuta*, 400x magnification, scale bar: 50 µm.

Le coinfezioni sono state osservate in 11 campioni su 880 (1,2%) e le associazioni più comuni sono state tra *A. suum* e *T. suis* (5/880) e tra *A. suum* e *H. diminuta* (5/880), mentre solo un campione è risultato positivo sia per *A. suum* che per *C. suis*. Per quanto riguarda le cariche parassitarie nei campioni positivi, la conta delle uova fecali di *A. suum* è variata da 4 UPG nella prima sessione di campionamento (T1) a 4900 UPG al T2. Per quanto riguarda *T. suis*, il picco di escrezione è stato di 186 UPG nella seconda sessione di campionamento, mentre quello di *C. suis* era di 460 OPG nella prima sessione di campionamento. Le distribuzioni di UPG/OPG fecali in ciascuna sessione di campionamento (T1 e T2) sono riportate nella Figura 2.

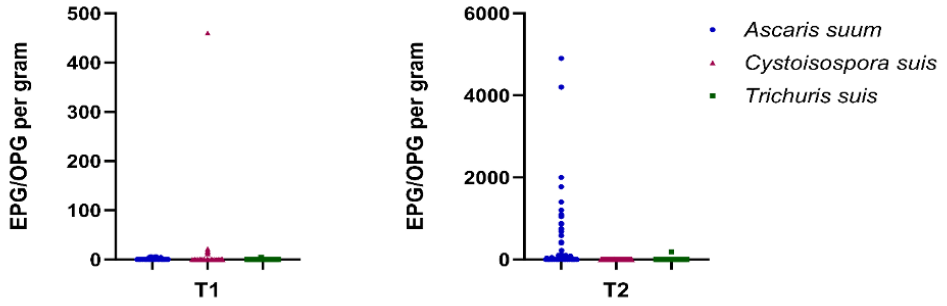


Figura 2. Distribuzione delle UPG/OPG fecali dei parassiti rilevati nei campioni positivi in T1 e T2.
Figure 2. Distribution of faecal EPG/OPG of detected parasites in positive samples according to T1 and T2.

L'estrazione di DNA e la PCR convenzionale sono state eseguite su 16 campioni che erano positivi alle uova di cestode all'esame copromicroscopico. Tutti i campioni sono risultati positivi al DNA di cestode e dei 16 ampliconi individuati, tutti sono stati sequenziati mostrando un'omologia del 100% con *H. diminuta*.
La maggior parte degli allevamenti applicava il sistema tutto pieno/tutto vuoto (16/22) e trattava i suini con antielmintici (benzimidazoli) dopo l'accasamento nel sito di ingrasso (18/22). L'accesso all'esterno era equamente distribuito nelle due categorie (sì/no); mentre per il tipo di pavimentazione, 12 allevamenti avevano un pavimento pieno, due pavimento misto (pieno + grigliato) e otto pavimento grigliato. I risultati dell'analisi statistica sono riportati nella Tabella 2: le aziende di grandi dimensioni e quelle che applicavano il sistema tutto pieno/tutto vuoto sono state associate a un minor rischio di infezioni da *A. suum* (p value* < 0.05). Per quanto riguarda *C. suis*, *H. diminuta* e *T. suis*, non sono stati evidenziati predittori significativi per le infezioni.

Tabella 2. GLMM finali dei fattori di rischio risultati come predittori significativi di infezione.
Table 2. Final GLMM of risk factors found to be significant predictors of infection.

Parassiti rilevati	Variabile	Categoria	Odds ratio (95% CI)	p-value
A. suum	Tutto pieno/tutto vuoto	No	34 (1-1132)	0,048*
		Sì (rif.)	1	
	Dimensione azienda	Grande ((≥1900 animali)	0,01 (0,03-0,2)	0,032*
		Piccola (<1900 animali) (rif.)	1	

DISCUSSIONE

I valori di prevalenza registrati in questo studio sono risultati bassi e l'utilizzo di un metodo diagnostico caratterizzato da un'elevata sensibilità, ha permesso di rilevare uova/oocisti anche in caso di ridotta escrezione (Cringoli et al. 2010). *Ascaris suum* è stato il parassita più rilevato: 67 suini su 880 sono risultati positivi, con una prevalenza di 7,6%, simile a quella riportata in altri Paesi europei, che variava da 0,9% a 9% (Kochanowski et al. 2017; Symeonidou et al. 2020; Pettersson et al. 2021b). Sebbene i soggetti eliminatori di uova siano pochi, il dato quantitativo dimostra che tali animali hanno una grande capacità escretrice, responsabile del mantenimento della contaminazione a livello ambientale e della conseguente infezione di altri suini. L'esame copromicroscopico potrebbe non identificare i soggetti positivi se l'infezione è allo stadio di prepatenza ma al macello potrebbero essere rinvenute le tipiche lesioni "milk spots". Infatti, l'infezione da *A. suum*, anche quando si presenta in forma subclinica, è responsabile di significative perdite economiche principalmente legate allo scarto dei fegati parassitati, ma anche alla riduzione dell'incremento ponderale giornaliero, alla diminuzione dell'efficienza di conversione alimentare e alla minore qualità della carne (Boes et al. 2010; Massaglia et al. 2018). L'aumento delle positività e delle cariche nella seconda sessione di campionamento potrebbe essere legato sia al lungo periodo di prepatenza di *A. suum* che alla persistenza di stadi infettivi resistenti dal ciclo precedente, che potrebbero aver favorito l'infezione dopo l'entrata nelle unità di ingrasso (Roepstorff et al. 2011; Symeonidou et al. 2020). Inoltre, la somministrazione di un unico trattamento antielmintico dopo l'accasamento, come si è verificato nella maggior parte degli allevamenti campionati, non garantisce la protezione dall'infezione, considerando che gli stadi larvali in migrazione potrebbero sfuggire al trattamento e la somministrazione del farmaco potrebbe essere stata effettuata prima dell'eventuale infezione (Joachim et al. 2001). L'analisi statistica ha dimostrato che due variabili erano associate a un rischio inferiore di infezione da *A. suum*; in particolare, le aziende di grandi dimensioni e quelle che applicavano il sistema tutto pieno/tutto vuoto presentavano un rischio inferiore. A tal proposito, diversi studi hanno evidenziato che la gestione dell'allevamento potrebbe influenzare notevolmente la presenza di ascaridi a livello aziendale; la numerosità giocherebbe un ruolo centrale in quanto le condizioni igieniche potrebbero essere meno adeguate e i sistemi di biosicurezza meno organizzati nelle realtà di piccole dimensioni rispetto a quelle di grandi dimensioni (Kochanowski et al. 2017; Pettersson et al. 2021a). Inoltre, l'applicazione di un sistema tutto pieno/tutto vuoto consentirebbe il lavaggio sistematico, la decontaminazione e l'asciugatura tra i lotti, riducendo la pressione parassitaria e la resistenza ambientale delle uova (Martínez-Pérez et al. 2017; Delsart et al. 2022).

Per quanto riguarda *T. suis*, è stata registrata una prevalenza di 1,7% e valori comparabili, compresi tra 0% e 1,4%, sono stati descritti anche in altri Paesi europei (Kochanowski et al. 2017; Symeonidou et al. 2020; Pettersson et al. 2021b). In generale, la presenza di *T. suis* negli allevamenti intensivi è sporadica dal momento che si tratta di un parassita caratterizzato da un lungo periodo di prepatenza e può non essere rilevato al momento dell'analisi copromicroscopica (Symeonidou et al. 2020). Inoltre, la gestione aziendale potrebbe influenzare la prevalenza; infatti, sono stati riportati tassi di positività più elevati in allevamenti di tipo non intensivo, caratterizzati da un accesso prolungato al pascolo (Delsart et al. 2022).
Le infezioni da coccidi della specie *C. suis* sono state trovate in tre allevamenti e otto campioni. Vale la pena notare che in un allevamento la circolazione di *C. suis* è stata dimostrata in entrambe le sessioni di campionamento, probabilmente a seguito della contaminazione persistente dei box, causata dalla resistenza delle oocisti ai comuni prodotti chimici disinfettanti (Straberg & Daugschies 2007). Al contrario, negli altri due allevamenti positivi, le oocisti sono state rilevate solo nella prima sessione di campionamento, quando, considerata la giovane età dei soggetti, la probabilità di infezione è maggiore (Pettersson et al. 2021b).
Infine, la presenza di uova di *H. diminuta* è interessante considerando che questo cestode zoonotico non era mai stato segnalato nei suini. Il rilevamento di queste uova potrebbe essere un caso di pseudo-parassitismo in seguito all'ingestione accidentale di carcasse o feci di roditori infetti, che rappresentano l'ospite definitivo del ciclo del parassita (d'Ovidio et al. 2015). Un'altra opzione plausibile è che si tratti di un caso di parassitismo attivo, per l'ingestione di ospiti intermedi del ciclo parassitario, ossia insetti che ospitano larve di cisticercoidi. Seguendo questa ipotesi, i suini potrebbero rappresentare un nuovo ospite definitivo, insieme ai roditori, all'uomo e ad altri primati non umani (Panti-May et al. 2020). A sostegno di ciò, un recente studio ha evidenziato la presenza di adulti di *H. diminuta* nell'intestino di cinghiali, sebbene questo dato non fosse associato alla presenza di uova del cestode all'analisi copromicroscopica (Lahmar et al. 2019). Alcuni studi hanno anche riportato la presenza di cestodi specifici del suino, appartenenti al genere *Hymenolepis* e filogeneticamente vicini a *H. diminuta*; tuttavia, per confermare la possibile inclusione dei suini tra gli ospiti definitivi del ciclo parassitario sono necessarie ulteriori indagini (Jia et al. 2016; Zhao et al. 2016).

CONCLUSIONI

I dati raccolti in questo studio hanno fornito una panoramica delle principali parassitosi nei suini da ingrasso in un'area dell'Italia particolarmente devota all'industria suinicola. I parassiti gastrointestinali sono stati rilevati nella maggior parte degli allevamenti campionati, sebbene con basse prevalenze, evidenziando la loro persistenza e sottostima durante tutto il ciclo di ingrasso. Risulta necessario mettere a punto misure di controllo adeguate agendo sui possibili fattori di rischio legati alla gestione aziendale, ad esempio promuovendo il flusso continuo, caratteristica del sistema tutto pieno/tutto vuoto, e sviluppando un approccio integrato, che includa adeguati piani di trattamento con antielmintici e analisi regolari delle feci per la ricerca di parassiti. Ulteriori sviluppi dovrebbero riguardare anche il ruolo di *H. diminuta* nei suini, poiché non era mai stata rilevata in questa specie animale.
Infine, la presenza di parassiti zoonotici, tra cui *A. suum* e *H. diminuta*, suggerisce che tutti i professionisti coinvolti nella catena alimentare possano essere esposti a un maggiore rischio di infezione, sottolineando l'importanza di sviluppare una certa consapevolezza riguardo alle potenziali zoonosi.

BIBLIOGRAFIA

1. Boes J., Kanora A., Havn K.T., Christiansen S., Vestergaard-Nielsen K., Jacobs J., Alban L. (2010) Effect of *Ascaris suum* infection on performance of fattening pigs. Vet Parasitol 172, 269-276.
2. Bowles J., McManus D.P. (1993) NADH dehydrogenase 1 gene sequences compared for species and strains of the genus *Echinococcus*. Int J Parasitol 23, 969-972.
3. Cringoli G., Rinaldi L., Maurelli M.P., Utzinger J. (2010) FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. Nat Protoc 5, 503-515.
4. Delsart M., Fablet C., Rose N., Répérant J.M., Blaga R., Dufour B., Pol F. (2022) Descriptive epidemiology of the main internal parasites on alternative pig farms in France. J Parasitol 108, 306-321.
5. d'Ovidio D., Noviello E., Pepe P., Del Prete L., Cringoli G., Rinaldi L. (2015) Survey of *Hymenolepis* spp. in pet rodents in Italy. Parasitol Res 114, 4381-4384.
6. Harleman J.H., Meyer R.C. (1984) Life cycle of *Isospora suis* in gnotobiotic and conventionalised piglets. Vet Parasitol 17, 27-39.
7. Hinney B., Cvjetković V., Espigares D., Vanhara J., Waehner C., Ruttkowski B., Selista R., Sperling D., Joachim A. (2020) *Cystoisospora suis* control in Europe is not always effective. Front Vet Sci 7, 113.
8. Jia Y.Q., Yan W.C., Du S.Z., Song J.K., Zhao W., Zhao Y.X., Cheng W.Y., Zhao G.H. (2016) *Pseudanoplocephala crawfordi* is a member of genus *Hymenolepis* based on phylogenetic analysis using ribosomal and mitochondrial DNA sequences. Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal 27, 1688-1692.
9. Joachim A., Dülmer N., Daugschies A., Roepstorff A. (2001) Occurrence of helminths in pig fattening units with different management systems in Northern Germany. Vet Parasitol 96, 135-146.
10. Joachim A., Ruttkowski B., Sperling D. (2018) Detection of *Cystoisospora suis* in faeces of suckling piglets – when and how? A comparison of methods. Porcine Health Manag 4, 20.
11. Kipper M., Andretta I., Gonzalez Monteiro S., Lovatto P.A., Lehnen C.R. (2011) Meta-analysis of the effects of endoparasites on pig performance. Vet Parasitol 181, 316-320.
12. Kochanowski M., Karamon J., Dąbrowska J., Dors A., Czyżewska-Dors E., Cencek T. (2017) Occurrence of intestinal parasites in pigs in Poland - the influence of factors related to the production system. J Vet Res 61, 459-466.
13. Laanen M., Persoons D., Ribbens S., de Jong E., Callens B., Strubbe M., Maes D., Dewulf J. (2013) Relationship between biosecurity and production/antimicrobial treatment characteristics in pig herds. Vet J 198, 508-512.
14. Lahmar S., Torgerson P.R., Mhemmed H., Tizaoui L., Mhadhbi N., Bani A., Driss H., Ghrissi N., Makhzoumi M., Houidi A.B., Dhibi M., Said Y., Pozio E., Boufana B. (2019) Cystic echinococcosis and other helminth infections of wild boar in northeastern and northwestern regions of Tunisia. Parasitology 146, 1263-1274.
15. Macrelli M., Williamson S., Mitchell S., Pearson R., Andrews L., Morrison A.A., Nevel M., Smith R., Bartley D.J. (2019) First detection of ivermectin resistance in *Oesophagostomum dentatum* in pigs. Vet Parasitol 270, 1-6.
16. Martínez-Pérez J.M., Vandekerckhove E., Vlaminck J., Geldhof P., Martínez-Valladares M. (2017) Serological detection of *Ascaris suum* at fattening pig farms is linked with performance and management indices. Vet Parasitol 248, 33-38.
17. Massaglia S., Merlino V.M., Borra D., Verduna T., Renna M., Rambozzi L. (2018) Impact of swine ascariasis on feeding costs and revenues in farms associated with the Italian PDOs dry-cured hams industry. Qual - Access Success 19, 146-154.

18. Nejsum P., Betson M., Bendall R.P., Thamsborg S.M., Stothard J.R. (2012) Assessing the zoonotic potential of *Ascaris suum* and *Trichuris suis*: looking to the future from an analysis of the past. J Helminthol 86, 148-55.
19. Panti-May J.A., Rodríguez-Vivas R.I., Luis García-Prieto L., Servián A., Costa F. (2020) Worldwide overview of human infections with *Hymenolepis diminuta*. Parasitol Res 119, 1997-2004.
20. Pettersson E., Sjölund M., Wallgren T., Osterman L.E., Höglund J., Wallgren P. (2021a) Management practices related to the control of gastrointestinal parasites on Swedish pig farms. Porcine Health Manag 7, 12.
21. Pettersson E., Sjölund M., Dórea F.C., Lind E.O., Grandi G., Jacobson M., Höglund J., Wallgren P. (2021b) Gastrointestinal parasites in Swedish pigs: Prevalence and associated risk factors for infection in herds where animal welfare standards are improved. Vet Parasitol 295, 109459.
22. Roepstorff A., Mejer H., Nejsum P., Thamsborg S.M. (2011) Helminth parasites in pigs: new challenges in pig production and current research highlights. Vet Parasitol 180, 72-81.
23. Straberg E., Daugschies A. (2007) Control of piglet coccidiosis by chemical disinfection with a cresol-based product (Neopredisan 135-1®). Parasitol Res 101, 599-604.
24. Stygar A.H., Chantziaras I., Toppari I., Maes D., Niemi J.K. (2020) High biosecurity and welfare standards in fattening pig farms are associated with reduced antimicrobial use. Animal 14, 2178-2186.
25. Symeonidou I., Tassis P., Gelasakis A.I., Tzika E.D., Papadopoulos E. (2020) Prevalence and risk factors of intestinal parasite infections in greek swine farrow-to-finish farms. Pathogens 9, 556.
26. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S (2013) MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Mol Biol Evol 30, 2725-2729.
27. Zhao G.H., Wang H.B., Jia Y.Q., Zhao W., Hu X.F., Yu S.K., Liu G.H. (2016) The complete mitochondrial genome of *Pseudanoplocephala crawfordi* and a comparison with closely related cestode species. J Helminthol 90, 588-595.

PREMIO
PIERFILIPPO GUADAGNINI 2025

VINCITORE

I MEZZI DI TRASPORTO ANIMALE QUALE FATTORE DI RISCHIO NELLA DIFFUSIONE DI PATOGENI DELL'ALLEVAMENTO SUINO

THE ROLE OF TRANSPORTATION IN THE SPREADING OF SWINE PATHOGENS

MASSERDOTTI M.

Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali (DIVAS), Università degli Studi di Milano

Biosicurezza, trasporto, antibiotico-resistenza
Biosecurity, trucks, antimicrobial-resistance

Riassunto

La presente tesi si è concentrata sull'indagine del ruolo dei veicoli per il trasporto animale quale mezzo di diffusione dei principali patogeni dell'allevamento suino, inclusi i batteri antibiotico-resistenti.

Sono stati effettuati tamponi ambientali sulle superfici interne di 42 camion all'ingresso in allevamento, dopo le procedure di disinfezione, e prima dell'uscita dall'allevamento, al termine del carico.

È stata determinata la conta batterica totale e la contaminazione da *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Brachyspira* spp., *Lawsonia intracellularis*, Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus, Porcine Epidemic Diarrhea Virus, e Rotavirus A, B, C, H. Inoltre, gli isolati di *E. coli* sono stati indagati per la produzione di beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL) e di carbapenemasi. Contestualmente, ai trasportatori è stato somministrato un questionario per registrare le procedure di pulizia e disinfezione cui il mezzo era stato sottoposto. Tali informazioni sono state integrate con i risultati delle indagini microbiologiche.

I risultati evidenziano una discreta attenzione verso le procedure di pulizia e disinfezione dei mezzi, ma emerge la necessità di implementare tali protocolli per diminuire ulteriormente il rischio di diffusione di patogeni, specialmente Rotavirus C e H, attraverso studi di efficacia, definizione di linee guida che ne permettano una maggiore uniformità, e una maggiore sensibilizzazione degli addetti a tali procedure.

Abstract

This thesis focused on investigating the role of animal transport vehicles as a means of spreading the main pathogens of pig farming, including antibiotic-resistant bacteria.

Environmental swabs were taken on the interior surfaces of 42 trucks upon entry to the farm, after disinfection procedures, and before leaving the farm after loading was completed.

Total bacterial counts and contamination by *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Brachyspira* spp., *Lawsonia intracellularis*, Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus, Porcine Epidemic Diarrhea Virus, and Rotavirus A, B, C, H. In addition, *E. coli* isolates were investigated for production of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) and carbapenemase. Concurrently, the carriers were administered a questionnaire to record the cleaning and disinfection procedures to which the medium had been subjected. This information was supplemented with the results of microbiological investigations.

The results show a fair amount of attention to the cleaning and disinfection procedures of the vehicles. Still, there is an emerging need to implement these protocols to further decrease the risk of spreading pathogens, especially Rotavirus C and H, through efficacy studies, the establishment of guidelines that would allow for greater uniformity, and increased awareness of these procedures among the employees.

INTRODUZIONE

Un approccio di prevenzione è cruciale nella zootecnia moderna (1), e a tal scopo, un elemento chiave è la biosicurezza, il sistema di misure volte a minimizzare il rischio di introduzione e diffusione di infezioni (2). Ridurre l'introduzione e/o la diffusione di patogeni all'interno dell'allevamento porta a sua volta ad una riduzione dell'uso di farmaci, soprattutto antimicrobici(3)and 421/609 farmers (69.1%. Per quanto riguarda specificamente l'allevamento suino, è stato quantificato un chiaro legame tra l'attuazione di misure di biosicurezza e il miglioramento dei parametri relativi all'uso di antimicrobici e produttivi (4,5).

In suinicoltura, il trasporto degli animali da e verso l'allevamento è comune (6) ed è uno dei rischi più critici per la biosicurezza aziendale, poiché comporta la violazione dell'interfaccia tra area pulita e area sporca dai principali carrier delle patologie che cerchiamo di escludere: gli animali stessi. Un'efficiente pulizia e disinfezione dei mezzi di trasporto animale è quindi fondamentale per la biosicurezza aziendale, ed è particolarmente critica relativamente alle superfici interne dei veicoli: mentre le superfici esterne sono solitamente disinfettate al momento dell'ingresso in azienda, la disinfezione dell'interno è affidata unicamente alla diligenza del trasportatore. Si potrebbe dubitare dell'importanza dell'igiene delle superfici interne, invece molto rilevante poiché le procedure di carico/scarico degli animali mettono l'azienda in comunicazione proprio con l'interno del mezzo. Tradizionalmente, gli sforzi legislativi e di ricerca nel campo del trasporto animale si sono concentrati soprattutto sul miglioramento delle condizioni di benessere, e gli studi sul ruolo dei camion come minaccia alla biosicurezza aziendale sono scarsi. La carenza di studi è ulteriore quando si considera specificamente la diffusione di patogeni antibioticoresistenti (AMR), come recentemente riportato dall'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA) (7)cattle and pigs, che sottolinea l'urgenza di indagare e quantificare l'impatto del trasporto di animali nella trasmissione e diffusione di AMR, valutando il ruolo di diversi fattori di rischio come l'igiene del veicolo.

Nel presente lavoro abbiamo valutato la contaminazione delle superfici interne dei veicoli per il trasporto di suini prima e dopo le procedure di carico, per valutare l'efficacia delle misure di pulizia e disinfezione a cui sono comunemente sottoposti. In particolar modo, si sono indagati i patogeni trasmissibili attraverso le feci: *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *Salmonella* spp.), *Brachyspira* spp., *Lawsonia intracellularis*, PRRSV (Porcine reproductive and respiratory syndrome virus), PEDV (Porcine epidemic diarrhea virus), Rotavirus A, B, C, H. Lo studio ha inoltre indagato le resistenze acquisite dai batteri della famiglia delle *Enterobacteriaceae* produttori di β-lattamasi a spettro esteso (ESBL) e di altre β-lattamasi (AmpC), e di carbapenemasi, che nel 2017 la WHO ha inserito nella lista di patogeni per i quali è prioritario lo sviluppo di nuovi antibiotici (8). Tra le *Enterobacteriaceae*, si è scelto *E. coli*, che può essere usato come indicatore di contaminazione ambientale e biomarker di antibioticoresistenza (9). Inoltre, contestualmente alle procedure di campionamento, sono stati intervistati i trasportatori con questionari indagavano le attività svolte per la pulizia e disinfezione del camion, e la cui integrazione con i risultati delle analisi microbiologiche era finalizzata a valutare l'efficacia di tali protocolli.

MATERIALI E METODI

Sono state incluse nello studio 11 aziende suinicole della Lombardia, che hanno partecipato su base volontaria. Le procedure di campionamento, effettuate da marzo a luglio 2023, sono consistite nella raccolta di tamponi ambientali dalle superfici interne di 42 camion per il trasporto animale all'arrivo dell'automezzo in allevamento, dopo che questo fosse stato sottoposto alle misure di disinfezione previste dall'azienda (campione "pulito"), e al termine delle procedure di carico, prima che l'automezzo lasciasse l'allevamento (campione "sporco") (*Tabella 1*, *Table 1*). Il campionamento avveniva sfregando tamponi di garza sterile sul pavimento e sulla porzione inferiore delle pareti interne della motrice e/o del rimorchio per una superficie di circa 1 m^2. I tamponi erano poi riposti in sacchetti sterili e trasportati al laboratorio per le analisi nel più breve tempo possibile. Contestualmente, i trasportatori erano sottoposti ad un questionario volto ad indagare le procedure di pulizia e disinfezione cui l'automezzo era stato sottoposto (***Allegato 1***).

Tabella 1 - Numero di camion e di campioni prelevati suddivisi per fase produttiva.
Table 1 - Number of trucks and samples taken broken down by rearing stage.

Fase produttiva	Numero di camion	Numero di campioni
Lattoni caricati per la fase di svezzamento	11	22
Magroni caricati per la fase di ingrasso	11	22
Grassi caricati per il macello	20	40
Totale	42	84

Gli esami di laboratorio erano volti alla determinazione della conta batterica totale (CBT) e all'individuazione di *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* (inclusi i produttori di ESBL/AmpC e carbapenemasi), *Salmonella* spp., *Brachyspira* spp., *Lawsonia intracellularis*, PRRSV, PEDV, Rotavirus A, B, C, H. I campioni positivi agli esami batteriologici sono stati poi sottoposti ad antibiogramma, determinazione delle minime concentrazioni inibenti (MIC) e caratterizzazione molecolare. I ceppi sono stati classificati come sensibili o resistenti basandosi sui valori di cut-off epidemiologici raccomandati dall'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).

Sono stati calcolati e valutati prevalenza assoluta e percentuale dei diversi patogeni indagati e la loro distribuzione sui campioni puliti e sporchi, distribuzione dei valori delle Enterobatteriacee e della conta batterica totale (CBT) sui tamponi puliti e sporchi, prevalenza delle caratteristiche di resistenza e della loro distribuzione su pulito e sporco. Al fine di valutare l'efficacia dei protocolli di pulizia e disinfezione, l'effetto della variabile indipendente "pulito/sporco" sulla presenza/assenza di diversi patogeni e sui valori di CBT ed *Enterobacteriaceae* è stato analizzato tramite Modelli Lineari Generalizzati (GLM) utilizzando il software SPSS Statistic 20.0®, e i risultati sono stati considerati statisticamente significativi quando $p<0.05$.

RISULTATI

La distribuzione dei valori è risultata significativamente più alta sui camion sporchi che su quelli puliti sia per *Enterobacteriaceae* ($p<0.001$) che per CBT ($p=0.002$) (*Figura 1 - Figure 1*). Le prevalenze dei patogeni considerati e la loro distribuzione sui camion puliti e sporchi è riportata in *Tabella 2 - Table 2*.

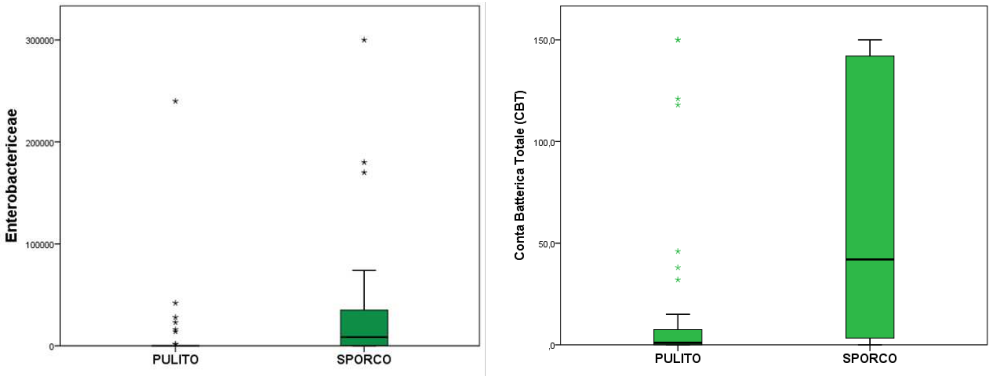


Figura 1 - Distribuzione dei valori riscontrati per le Enterobacteriaceae e per la CBT in camion puliti e sporchi.
Figure 1 - Distribution of values found in clean and dirty trucks for Enterobacteriaceae and TBC.

Tabella 2 - Prevalenza complessiva dei patogeni indagati e percentuale di positività riscontrata in tamponi effettuati su camion pulito e su camion sporco.
Table 2 - Overall prevalence of the investigated pathogens and positivity percentage found in swabs taken on clean and dirty trucks.

Microrganismo	**Prevalenza totale (%)**	**Prevalenza su sporco (%)**	**Prevalenza su pulito (%)**
E. coli indicatori	40,47% (34 / 84)	85,29% (29 / 34)	14,71% (5 / 34)
E. coli produttori di ESBL/AmpC	10,71% (9 / 84)	88,89% (8 / 9)	11,11% (1 / 9)
E. coli produttori di carbapenemasi	11,90% (10 / 84)	100% (10 / 10)	0%
Salmonella spp.	3,85% (3 / 84)	100% (3 / 3)	0%
Brachyspira spp.	0%	0%	0%
Lawsonia intracellularis	5,13% (4 / 78)	75% (3 / 4)	25% (1 / 4)
PRRSV	10,26% (8 / 78)	100% (8 / 8)	0%
PEDV	0%	0%	0%
Rotavirus A	16,67% (13 / 78)	84,62% (11 / 13)	15,38% (2 / 13)
Rotavirus B	33,33% (26 / 78)	65,38% (17 / 78)	34,62% (9 / 78)
Rotavirus C	56,41% (44 / 78)	47,73% (21 / 78)	52,27% (23 / 78)
Rotavirus H	5,13% (4 / 78)	25% (1 / 4)	75% (3 / 4)

Si apprezza una prevalenza maggiore nei tamponi effettuati sui mezzi sporchi per tutti i patogeni indagati, ad eccezione di Rotavirus C ed H.

Le prevalenze rilevate sui camion sporchi sono risultate significativamente maggiori che sui camion puliti per *E. coli* indicatori ($p<0.001$) ed *E. coli* produttori di ESBL/AmpC ($p=0.0036$) (*Figura 2 - Figure 2*), mentre *E. coli* produttori di carbapenemasi sono stati rilevati esclusivamente su mezzi sporchi. Si segnala che sia per i produttori di carbapenemasi, sia per i produttori di ESBL/AmpC, si apprezza una riduzione di positività con il procedere del ciclo produttivo, anche se non statisticamente significativa. Mentre per *E. coli* produttore di carbapenemasi la riduzione è progressiva (sei positività rilevate nei suinetti svezzati, tre nei suini al termine del magronaggio, e una nei suini al termine della fase di ingrasso) (*Figura 3 - Figure 3*), per *E. coli* produttori di ESBL/AmpC la decrescita con il procedere del ciclo è meno lineare (cinque positività negli svezzati, una nei magroni e due nei grassi).

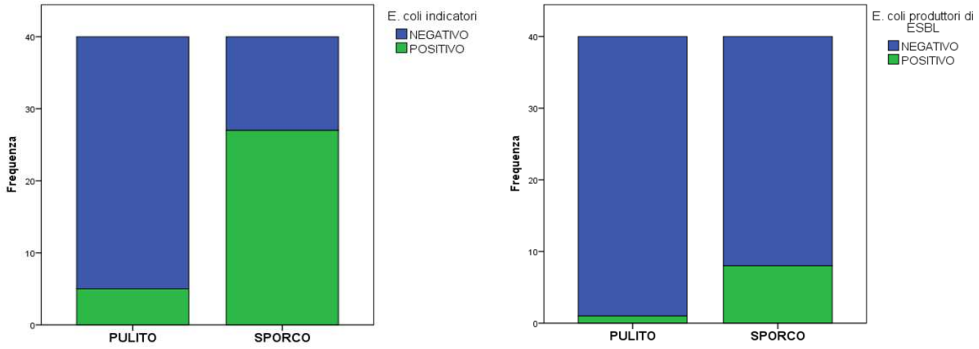


Figura 2 - Frequenza e distribuzione tra pulito e sporco di E. coli indicatori e di E. coli produttori di ESBL/AmpC
Figure 2 - Frequency and distribution of E. coli and ESBL/AmpC-producing E. coli on clean and dirty trucks

Le percentuali di resistenza degli isolati di *E. coli* indicatori, produttori di ESBL/AmpC e carbapenemasi sono riportate rispettivamente in *Tabella 3 - Table 3*, *Tabella 4 - Table 4*, e *Tabella 5 - Table 5*. Dei ceppi produttori di ESBL/AmpC (n=9) e carbapenemasi (n=10), rispettivamente 7 e 9 sono stati sottoposti ad indagine molecolare mediante PCR. Relativamente ai ceppi produttori di ESBL/AmpC, bla_{CTX-M} è stato il gene più frequentemente isolato, da solo (3/7) o in associazione a bla_{TEM} (2/7); un ceppo è risultato positivo ai geni bla_{CMY} + bla_{TEM}, e il ceppo restante non è risultato positivo a nessuno dei geni cercati. Invece, in tutti i ceppi produttori di carbapenemasi è stata riscontrata positività esclusivamente per il gene bla_{OXA-48}.

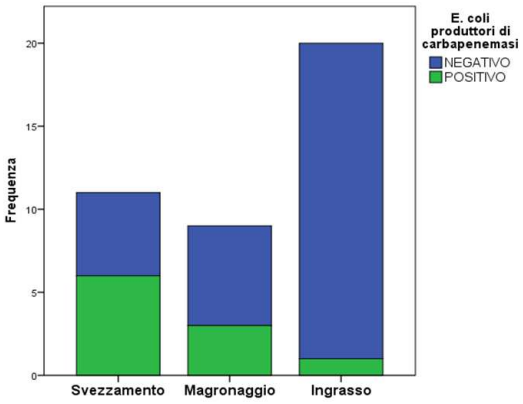


Figura 3 - Distribuzione di prevalenza di E. coli produttore di carbapenemasi tra le varie fasi produttive
Figure 3 - Prevalence distribution of carbapenemase-producing E. coli among different rearing stages

Tabella 3 - Percentuale di resistenza degli isolati di E. coli indicatori (n = 34) per ciascuna molecola analizzata, distribuzione di tali percentuali tra tamponi effettuati sul camion pulito e sul camion sporco, cut-off epidemiologico (ECOFFs, EUCAST, www.eucast.org, ultimo accesso 11 settembre 2023).
Table 3 - Percentage of resistance of E. coli isolates (n = 34) for each analyzed molecule, distribution of these percentages between swabs taken on clean and dirty trucks, epidemiological cut-off (ECOFFs, EUCAST, www.eucast.org, last accessed September 11, 2023).

Antibiotico	**Cut-off epidemiologico (T)ECOFF**	**% Resistenti sul totale**	**% Resistenti sullo sporco**	**% Resistenti sul pulito**
Ampicillina	8	64,71% (22 / 34)	90,91% (20 / 22)	9,09% (2 / 22)
Tetraciclina	8	61,76% (21 / 34)	85,71% (18 / 21)	14,29% (3 / 18)
Florfenicolo	16	55,88% (19 / 34)	89,47% (17 / 19)	10,53% (2 / 19)
Trimetosulfam	0,5	50% (17 / 34)	88,23% (15 / 17)	11,76% (2 / 17)
Enrofloxacin	0,125	32,35% (11 / 34)	90,91% (10 / 11)	9,09% (1 / 11)
Gentamicina	2	26,47% (9 / 34)	100% (9 / 9)	0%
Amoxiclav	(8)	23,53% (8 / 34)	100% (8 / 8)	0%
Flumequina	2	23,53% (8 / 34)	100% (8 / 8)	0%
Cefazolina	4	20,59% (7 / 34)	100% (7 / 7)	0%
Kanamicina	(16)	17,64% (6 / 34)	100% (6 / 6)	0%
Colistina	2	2,94% (1 / 34)	100% (1 / 1)	0%

*Tabella 4 - Percentuale di resistenza degli isolati di E. coli produttore di ESBL/AmpC (n = 9) per ciascuna molecola analizzata, distribuzione di tali percentuali tra tamponi effettuati sul camion pulito e sul camion sporco, cut-off di interpretazione (ECOFFs, EUCAST, www.eucast.org, ultimo accesso 14 settembre 2023). * Si segnalano 3 tamponi al valore di cut-off tra R e S.*
*Table 4 - Percentage of resistance of ESBL/AmpC-producing E. coli (n = 9) for each analyzed molecule, distribution of these percentages between swabs taken on clean and dirty trucks, epidemiological cut-off (ECOFFs, EUCAST, www.eucast.org, last accessed September 11, 2023). * 3 samples were at the cut-off value.*

Antibiotici	**Cut-off epidemiologico (T)ECOFF**	**% Isolati resistenti**	**% Resistenti sullo sporco**	**% Resistenti sul pulito**
Cefotaxime (FOT)	0,25	100% (9 / 9)	88,89% (8 / 9)	11,11% (1 / 9)
Cefepime (FEP)	0,125	88,89% (8 / 9)	87,50% (7 / 8)	12,5% (1 / 8)
Ceftazidime (TAZ)	1	55,56% (5 / 9)	100% (5 / 5)	0% (0 / 5)
Cefotaxime + acido clavulanico (F/C)	0,25	33,33% (3 / 9)	100% (3 / 3)	0% (0 / 3)
Cefoxitina (FOX)	16	33,33% (3 / 9)	100% (3 / 3)	0% (0 / 3)
Ertapenem (ETP)	0,03	33,33% (3 / 9)	100% (3 / 3)	0% (0 / 3)
Ceftazidime + acido clavulanico (T/C)	1	33,33% (3 / 9)	100% (3 / 3)	0% (0 / 3)
Temocillina (TRM)	16	11,11% (1 / 9)*	100% (1 / 1)	0% (0 / 1)
Imipenem (IMI)	0,5	0%	0%	0%
Meropenem (MERO)	0,06	0%	0%	0%

*Tabella 5 - Percentuale di resistenza degli isolati di E. coli produttore di carbapenemasi (n = 10) per ciascuna molecola analizzata distribuzione di tali percentuali tra tamponi effettuati sul camion pulito e sul camion sporco, cut-off di interpretazione (ECOFFs, EUCAST, www.eucast.org, ultimo accesso 14 settembre 2023). * Si segnala che i rimanenti tamponi considerati positivi erano al valore di cut-off tra S e R ** Si segnala un tampone considerato sensibile ma al valore cut-off tra S e R.*

*Table 5 - Percentage of resistance of carbapenemase-producing E. coli (n = 10) for each analyzed molecule, distribution of these percentages between swabs taken on clean and dirty trucks, epidemiological cut-off (ECOFFs, EUCAST, www.eucast.org, last accessed September 11, 2023). * the remaining samples were at the cut-off value. ** one sample was at the cut-off value*

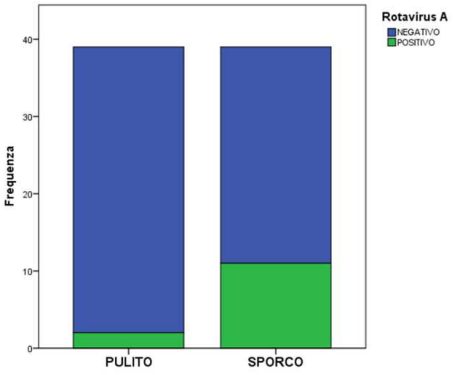
Antibiotici	**Cut-off epidemiologico (T)ECOFF**	**% Isolati resistenti**	**% Resistenti sullo sporco**	**% Resistenti sul pulito**
Ertapenem (ETP)	0,03	100% (10 / 10)	100% (10 / 10)	0% (0 / 10)
Temocillina (TRM)	16	100% (10 / 10)	100% (10 / 10)	0% (0 / 10)
Cefotaxime (FOT)	0,25	80% (8 / 10)	100% (8 / 8)	0% (0 / 8)
Meropenem (MERO)	0,06	80% (8 / 10)*	100% (8 / 8)	0% (0 / 8)
Cefotaxime + ac. clavulanico (F/C)	0,25	60% (6 / 10)*	100% (6 / 6)	0% (0 / 6)
Cefepime (FEP)	0,125	50% (5 / 10)	100% (5 / 5)	0% (0 / 5)
Imipenem (IMI)	0,5	20% (2 / 10)**	100% (2 / 2)	0% (0 / 2)
Cefoxitina (FOX)	16	10% (1 / 10)**	100% (1 / 1)	0% (0 / 1)
Ceftazidime (TAZ)	1	10% (1 / 10)	100% (1 / 1)	0% (0 / 1)
Ceftazidime + acido clavulanico (T/C)	1	10% (1 / 10)	100% (1 / 1)	0% (0 / 1)

Sono state rilevate tre positività a *Salmonella spp.*, di cui una *Salmonella* Typhimurium variante monofasica e due *Salmonella* Choleraesuis, tutte su tampone sporco e provenienti dallo stesso allevamento. Non essendo disponibili cut-off epidemiologici ECOFF per Salmonella spp., i profili di resistenza sono stati analizzati seguendo i cut-off clinici disponibili da metodo di prova interno IZSLER (10) (11) (12) (13) (14) (*Tabella 6 - Table 6*).

Tabella 6 - Percentuale di resistenza degli isolati di Salmonella spp. (n = 3) per ciascuna molecola analizzata
Table 6 - Percentage of resistant Salmonella spp. isolates (n = 3) for each analyzed molecule.

Antibiotico	**% Resistenti**	**% Intermedi**
Florfenicolo	33,33% (1 / 3)	33,33% (1 / 3)
Ampicillina	33,33% (1 / 3)	0% (0 / 3)
Colistina	33,33% (1 / 3)	0% (0 / 3)
Sulfisoxazolo	33,33% (1 / 3)	0% (0 / 3)
Tetraciclina	33,33% (1 / 3)	0% (0 / 3)
Sulfametoxazolo	0% (0 / 3)	33,33% (1 / 3)
Amminosidina	0% (0 / 3)	0% (0 / 3)
Amoxicillina + Ac. clavulanico	0% (0 / 3)	0% (0 / 3)
Enrofloxacina	0% (0 / 3)	0% (0 / 3)
Flumequina	0% (0 / 3)	0% (0 / 3)
Trimetoprim + Sulfametoxazolo	0% (0 / 3)	0% (0 / 3)

Per i Rotavirus, si è osservata una prevalenza maggiore sui camion sporchi rispetto a quelli puliti per Rotavirus A (significativa, p=0,014) e B (non significativa) (*Figura 4 - Figure 4*). Maggiore invece la positività sui camion puliti per Rotavirus C e H (*Figura 5 - Figure 5*), anche se statisticamente non significativa per il primo e statisticamente non indagabile per il secondo a causa del numero esiguo di campioni totali raccolti.



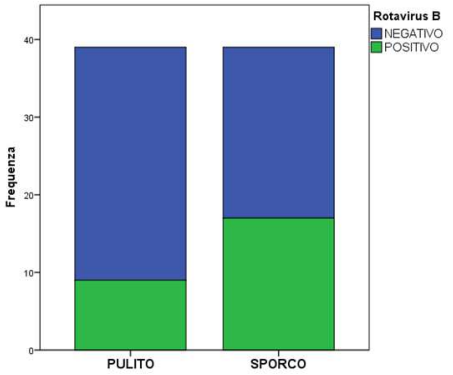
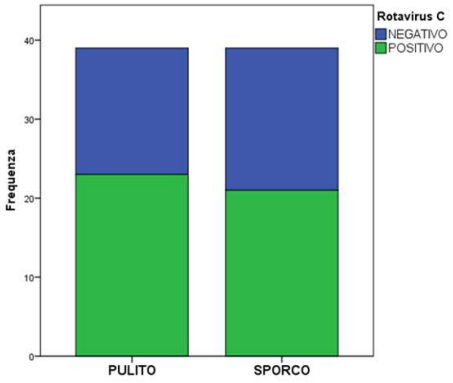


Figura 4 - Frequenza e distribuzione tra pulito e sporco di Rotavirus A (a sinistra) e B (a destra).
Figure 4 - Frequency and distribution between clean and dirty trucks of Rotavirus A (on the left) and B (on the right).



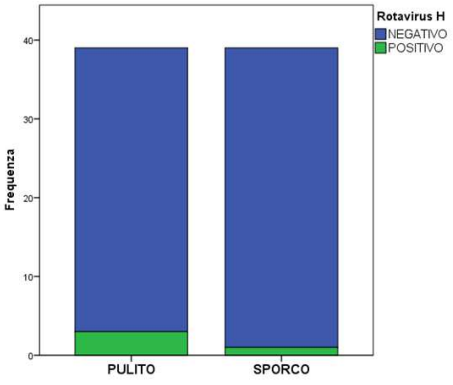


Figura 5 - Frequenza e distribuzione tra pulito e sporco di Rotavirus C (a sinistra) e H (a destra).
Figure 5 - Frequency and distribution between clean and dirty trucks of Rotavirus C (on the left) and H (on the right).

Relativamente ai questionari rivolti ai trasportatori, l'elevata eterogeneità delle risposte ha reso complessa la standardizzazione e l'analisi statistica dei dati raccolti. In generale, la procedura più comune consiste in un primo risciacquo con acqua a bassa pressione seguito dall'applicazione di uno schiumogeno, poi risciacquato con acqua ad alta pressione. Infine, l'applicazione del disinfettante, lasciato asciugare all'aria. Nonostante la forte difformità procedurale, sono stati indagati i casi in cui si era riscontrata positività al momento dell'ingresso in azienda, ma non è stata rilevata un'uniformità di procedura a parità di risultato microbiologico.

DISCUSSIONE

Relativamente ai protocolli impiegati per la pulizia e disinfezione dei camion, buoni risultati sono stati ottenuti nelle valutazioni della contaminazione da *E. coli* produttori di carbapenemasi, *Salmonella spp*. e PRRSV, rilevati solo sui camion "sporchi", in uscita dall'azienda: si tratta di un risultato incoraggiante, che indica l'efficacia dei protocolli di igienizzazione nei confronti di patogeni prioritari dal punto di vista zootecnico (PRRSV) e zoonosico (in particolare *Salmonella typhimurium*, ed *E. coli* produttori di carbapenemasi). È stata inoltre osservata una differenza significativa tra i camion all'ingresso e all'uscita, con prevalenze superiori nei secondi, per la CBT e per la contaminazione legata ad *Enterobacteriaceae*, *E. coli* indicatori, *E. coli* produttori di ESBL/AmpC e Rotavirus A. Nel complesso, tali risultati evidenziano una buona efficacia dei protocolli impiegati per la pulizia e disinfezione delle superfici interne dei mezzi dopo lo scarico degli animali e prima del successivo ingresso in azienda, ma sono da ritenere comunque migliorabili.

La maggiore inefficacia si segnala per i Rotavirus, in particolare C e H, per i quali è stata rilevata una maggiore contaminazione dei camion puliti rispetto a quelli sporchi, anche se non significativa. Ciò suggerisce che l'efficacia complessiva dei protocolli applicati sia da ritenere parziale, oltre a sottolineare come i mezzi di trasporto possano fungere da introduttori di patogeni.

Nel complesso, va sottolineata la carenza di linee guida o normative che regolino precisamente l'igiene dei mezzi di trasporto, cui si affianca quella di letteratura in materia. Gli studi disponibili sono per la maggior parte effettuati a seguito di un focolaio di cui costituiscono il follow-up, dunque relativi ad un solo patogeno (15–18): al meglio delle nostre conoscenze, non sono disponibili in letteratura studi che indaghino panel di patogeni, e che attribuiscano ai camion un ruolo di indicatore epidemiologico.

La presente tesi ha inoltre indagato il ruolo svolto dai mezzi per il trasporto animale nella diffusione di batteri AMR, aspetto che presenta gap conoscitivi e che necessita indagini dedicate (7). La sovrapponibilità dei dati di prevalenza ottenuti dal presente studio, ottenuti dai camion, con quelli reperibili in letteratura, raccolti a livello aziendale o mediante prelievo dall'animale, evidenziano la validità dei mezzi di trasporto come indicatore epidemiologico, e indirettamente il rischio legato ai mezzi di trasporto animale nella diffusione di microrganismi antibiotico-resistenti. Si evince che fenomeni di resistenza a molecole di più ampio impiego e di importanza meno critica per la medicina umana sono prevalenti, costanti nel tempo e geograficamente diffuse (19,20), mentre le resistenze a molecole clinicamente molto importanti in medicina umana, quali ad esempio i carbapenemi, il cui uso è vietato o fortemente scoraggiato in medicina veterinaria, continuino ad emergere nonostante gli sforzi legislativi per la lotta all'antibiotico-resistenza (21–23).

Anche la caratterizzazione genetica dei ceppi produttori di ESBL/AmpC e carbapenemasi ha evidenziato dati sovrapponibili a quelli reperibili in letteratura, confermando il prevalere del gene $bla_{\text{CTX-M}}$ relativamente ai ceppi ESBL/AmpC-produttori (22), del gene $bla_{\text{OXA-48}}$ per i ceppi produttori di carbapenemasi (24,25).

Le pratiche di pulizia e disinfezione effettuate sui camion sono state indagate mediante questionario (***Allegato 1***). L'eterogeneità delle risposte fornite ha reso difficile condurre un'analisi statistica, e l'ottenimento di risultati microbiologici difformi a parità di procedura svolta (dichiarata) ha sottolineato la necessità di verificarne in prima persona lo svolgimento. Tuttavia, tale indagine ha fatto emergere la necessità di fornire delle linee guida standardizzate che garantiscano una maggiore uniformità del grado di pulizia dei veicoli, e di sensibilizzare e formare ulteriormente i trasportatori sul tema al fine di ottenerne una migliore esecuzione. Inoltre, assistere alle procedure di carico dei suini ha permesso di osservare dei comportamenti critici per la biosicurezza aziendale che richiedono una

maggiore formazione e sensibilizzazione di trasportatori e allevatori: principalmente, l'uso scorretto degli archi di disinfezione e l'eccessiva libertà di movimento concessa ai trasportatori al momento del carico, oltre che un uso non corretto dei dispositivi di protezione individuale. Infine, una volta indossati tali dispositivi, non dovrebbe essere permesso al trasportatore di salire nell'abitacolo dell'automezzo e poi riscendere, perché ciò costituisce una fonte di introduzione nell'azienda di patogeni provenienti dall'esterno. Si sottolinea infatti che mentre il vano di carico del camion dovrebbe essere perfettamente pulito, tale grado di igiene non è richiesto per l'abitacolo.

CONCLUSIONI

Il presente lavoro di tesi ha fornito dati preliminari rispetto all'efficacia e alle carenze dei protocolli di pulizia e di disinfezione impiegati per i mezzi di trasporto di animali vivi, e costituisce uno dei primi studi ad aver indagato i camion come fonte di rischio microbiologico analizzando contemporaneamente più patogeni rilevanti per l'allevamento suino e la sanità pubblica. Le indagini microbiologiche svolte hanno evidenziato sia il rischio di introduzione di patogeni di interesse zootecnico, dimostrando dunque la parziale efficacia dei protocolli di pulizia e disinfezione attualmente in uso, sia il rischio di diffusione di patogeni di rilievo per la salute pubblica.

La determinazione delle resistenze dei ceppi di *E. coli* ha confermato la prevalenza di resistenze verso le molecole di più largo impiego (ampicillina, tetraciclina, florfenicolo e trimetoprim/sulfametoxazolo), sottolineando però anche la necessità di proseguire nel monitoraggio dei ceppi produttori di ESBL/AmpC e carbapenemasi, in virtù dell'emergenza del fenomeno nelle specie zootecniche e del rischio che questi microrganismi rappresentano per la salute pubblica.

Nel complesso, i risultati emersi suggeriscono che ci sia una discreta attenzione verso le procedure di pulizia e disinfezione dei mezzi di trasporto, ma che siano necessari un'implementazione degli studi di efficacia di tali protocolli (specialmente nei confronti di Rotavirus), la definizione di linee guida che ne permettano una maggiore uniformità, e una maggiore sensibilizzazione dei trasportatori o degli addetti a tali procedure, in modo che i protocolli vengano svolti con l'adeguata attenzione e quindi maggior efficacia.

Infine, poiché in occasione delle procedure di campionamento si è avuto modo di osservare l'attuazione di comportamenti che, insieme ad una scarsa igiene del veicolo che entra in azienda, concorrono ad aumentare il rischio microbiologico annesso al trasporto animale, dallo studio emerge la necessità di un'implementazione culturale delle norme di biosicurezza.

Allegato 1

PROTOCOLLO PULIZIA & DISINFEZIONE

1) Descriva in ordine e procedure che effettua (risposta attesa: lavaggio con acqua, detergente, secondo lavaggio con acqua, disinfettante – prendere nota di procedure diverse)
   ……
   ……
2) Il primo risciacquo lo effettua con acqua
   - Fredda/calda
   - Alta pressione / bassa pressione
3) Che detergente usa?
4) Il secondo risciacquo lo effettua con acqua
   - Fredda / calda
   - Alta pressione / bassa pressione
5) Che disinfettante usa?
6) Come asciuga il camion?

	SI/NO	PRODOTTO
RISCIACQUO		
DETERSIONE		
RISCIACQUO		
DISINFEZIONE		
ASCIUGATURA		

BIBLIOGRAFIA:

1. Carter E. A new Animal Health Strategy for the European Union (2007-2013) Where "Prevention is Better Than Cure". Anim welf. novembre 2007;16(4):525–6.
2. WOAH - World Organisation for Animal Health. Terrestrial Code Online Access. Disponibile su: https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access/
3. Ribbens S, Dewulf J, Koenen F, Mintiens K, De Sadeleer L, de Kruif A, et al. A survey on biosecurity and management practices in Belgian pig herds. Prev Vet Med. 17 marzo 2008;83(3–4):228–41.
4. Postma M, Backhans A, Collineau L, Loesken S, Sjölund M, Belloc C, et al. Evaluation of the relationship between the biosecurity status, production parameters, herd characteristics and antimicrobial usage in farrow-to-finish pig production in four EU countries. Porcine Health Management. 1 maggio 2016;2(1):9.
5. Laanen M, Persoons D, Ribbens S, de Jong E, Callens B, Strubbe M, et al. Relationship between biosecurity and production/antimicrobial treatment characteristics in pig herds. Vet J. novembre 2013;198(2):508–12.
6. Biosecurity in pig farms: a review | Porcine Health Management. Disponibile su: https://porcinehealthmanagement.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40813-020-00181-z
7. Hazards (BIOHAZ) EP on B, Koutsoumanis K, Allende A, Álvarez-Ordóñez A, Bolton D, Bover-Cid S, et al. Transmission of antimicrobial resistance (AMR) during animal transport. EFSA Journal. 2022;20(10):e07586.
8. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet DL, et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. Lancet Infect Dis. marzo 2018;18(3):318–27.
9. Brisola MC, Crecencio RB, Bitner DS, Frigo A, Rampazzo L, Stefani LM, et al. *Escherichia coli* used as a biomarker of antimicrobial resistance in pig farms of Southern Brazil. Science of The Total Environment. 10 gennaio 2019;647:362–8.
10. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. **11.0**, (2021).
11. Weinstein MP, Patel JB, Bobenchik AM, Campeau S, Cullen SK, Galas MF, et al. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.
12. Société Française de Microbiologie. *Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie RECOMMANDATIONS*. (2014)
13. Jean-Yves Coordonnateur, M. *et al. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie RECOMMANDATIONS VÉTÉRINAIRES 2020*. (2020)
14. Wayne & PA. Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria Isolated From Animals. A CLSI supplement for global application. *1st ed. CLSI supplement VET06* (2017).
15. Lowe J, Gauger P, Harmon K, Zhang J, Connor J, Yeske P, et al. Role of Transportation in Spread of Porcine Epidemic Diarrhea Virus Infection, United States. Emerg Infect Dis. maggio 2014;20(5):872–4.
16. Dee S, Deen J, Burns D, Douthit G, Pijoan C. An assessment of sanitation protocols for commercial transport vehicles contaminated with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Can J Vet Res. luglio 2004;68(3):208–14.
17. Boniotti MB, Papetti A, Bertasio C, Giacomini E, Lazzaro M, Cerioli M, et al. Porcine Epidemic Diarrhoea Virus in Italy: Disease spread and the role of transportation. Transbound Emerg Dis. dicembre 2018;65(6):1935–42.
18. Giacomini E, Gasparrini S, Lazzaro M, Scali F, Boniotti MB, Corradi A, et al. The role of transportation in the spread of Brachyspira hyodysenteriae in fattening farms. BMC Vet Res. dicembre 2018;14(1):1–6.

19. Antimicrobial resistance and population genomics of multidrug-resistant Escherichia coli in pig farms in mainland China | Nature Communications [Internet]. [citato 27 febbraio 2025]. Disponibile su: https://www.nature.com/articles/s41467-022-28750-6
20. AbuOun M, O'Connor HM, Stubberfield EJ, Nunez-Garcia J, Sayers E, Crook DW, et al. Characterizing Antimicrobial Resistant Escherichia coli and Associated Risk Factors in a Cross-Sectional Study of Pig Farms in Great Britain. Front Microbiol [Internet]. 25 maggio 2020 [citato 27 febbraio 2025];11. Disponibile su: https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2020.00861/full
21. Walsh TR. Emerging carbapenemases: a global perspective. International Journal of Antimicrobial Agents. 1 novembre 2010;36:S8–14.
22. Castanheira M, Simner PJ, Bradford PA. Extended-spectrum β-lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection. JAC Antimicrob Resist. settembre 2021;3(3):dlab092.
23. Codjoe FS, Donkor ES. Carbapenem Resistance: A Review. Med Sci (Basel). 21 dicembre 2017;6(1):1.
24. Köck R, Daniels-Haardt I, Becker K, Mellmann A, Friedrich AW, Mevius D, et al. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in wildlife, food-producing, and companion animals: a systematic review. Clinical Microbiology and Infection. 1 dicembre 2018;24(12):1241–50.
25. Irrgang A, Pauly N, Tenhagen BA, Grobbel M, Kaesbohrer A, Hammerl AJA. Spill-Over from Public Health? First Detection of an OXA-48-Producing Escherichia coli in a German Pig Farm. Microorganisms. 5 giugno 2020;8(6):855.

PREMIO
CASIMIRO TAROCCO 2025

VINCITORE

VALUTAZIONE DEI CONSUMI, DEI COSTI ALIMENTARI E DELL'USO PONDERATO DELL'ANTIBIOTICO NELLO SVEZZAMENTO IN RELAZIONE AL PESO INIZIALE DEL SUINO

ASSESSMENT OF FEED CONSUMPTION, COSTS AND PRUDENT ANTIBIOTIC USE DURING WEANING IN RELATION TO INITIAL PIG WEIGHT

FAVARO D. [1], CONTIERO B.[2], GOTTARDO F.[2], TONON F.[1,2]

[1]Medico Veterinario Libero Professionista - SUIVET;
[2]Dipartimento MAPS, Università di Padova, Legnaro (PD).

Parole chiave: svezzamento, consumo alimentare, uso ponderato dell'antibiotico
Keywords: weaning phase, feed consumption, prudent antibiotic use

Riassunto
L'obiettivo dello studio è stato quello di creare curve di consumo di mangime e di calcolare il costo dell'alimentazione dei suini durante la fase di svezzamento. Le curve sono state ottenute analizzando un campione di quasi 26.000 suini, utilizzando dati di campo raccolti in un allevamento suinicolo nel corso del 2024. La costruzione di queste curve può supportare il veterinario nella definizione della corretta quantità di mangime medicato da somministrare nei trattamenti di gruppo, evitando la necessità di pesare direttamente gli animali. Questo approccio consente un utilizzo più mirato e razionale degli antibiotici, contribuendo a una gestione più efficace e consapevole delle risorse. L'analisi statistica ha inoltre evidenziato che i suini con peso inferiore allo svezzamento hanno ricevuto una quantità maggiore di mangime medicato, a conferma della loro maggiore suscettibilità a problemi sanitari. Questo dato suggerisce che il raggiungimento di una soglia minima di peso allo svezzamento sia un fattore determinante per ridurre la necessità di trattamenti antibiotici, migliorare le condizioni di salute degli animali e favorire una gestione più sostenibile e ottimizzata dell'allevamento.

Abstract
The objective of the study was to create feed consumption curves and calculate the cost of feeding pigs during the weaning phase. The curves were obtained by analyzing a sample of nearly 26.000 pigs, using field data collected from a pig farm during 2024. The construction of these curves can assist veterinarians in defining the correct amount of medicated feed to be administered in group treatments, eliminating the need to weigh animals directly. This approach allows for a more targeted and rational use of antibiotics, contributing to more effective and resource-conscious management. Statistical analysis also showed that pigs with lower weaning weights received more medicated feed, confirming their greater susceptibility to health issues. This finding suggests that achieving a minimum threshold weight at weaning is a key determinant in reducing the need for antibiotic treatment, improving animal health conditions, and promoting more sustainable and optimized herd management.

INTRODUZIONE

La fase di svezzamento rappresenta un periodo cruciale nella produzione suinicola,

durante il quale i suini affrontano cambiamenti significativi nelle condizioni di gestione, alimentazione e ambiente. La composizione omogenea dei gruppi, basata sul peso, è una pratica comune per ridurre la competizione alimentare e migliorare le performance produttive, ottimizzando al contempo la gestione nutrizionale e sanitaria degli animali. In questa fase, l'efficienza alimentare, il peso di ingresso e la salute complessiva dei suini giocano un ruolo chiave nella determinazione delle performance produttive future [1]. Monitorare il consumo di mangime durante il periodo di svezzamento consente di ottenere informazioni fondamentali per migliorare la gestione nutrizionale e il benessere animale. Diversi studi hanno evidenziato come il peso al momento dello svezzamento possa influenzare significativamente la crescita successiva e ridurre il rischio di problematiche sanitarie post-svezzamento [2]. I suini svezzati con un peso inferiore presentano frequentemente una maggiore suscettibilità a disturbi intestinali e infezioni, in particolare a causa dell'alterazione della barriera intestinale e della proliferazione di patogeni [3], con una conseguente maggiore necessità di trattamenti antibiotici. L'uso di antibiotici negli allevamenti, incluso il loro impiego nei mangimi medicati, è una strategia diffusa per il controllo delle malattie durante la fase di svezzamento. Tuttavia, tale pratica è oggetto di crescente attenzione a causa delle preoccupazioni legate alla resistenza antimicrobica [4]. Inoltre, recenti studi sul microbiota intestinale dei suini hanno evidenziato come il cambiamento nella composizione microbica durante lo svezzamento possa influenzare la salute intestinale e le performance di crescita [5]. L'identificazione di curve di consumo specifiche, stratificate in base al peso di ingresso, può offrire al medico veterinario uno strumento pratico per ottimizzare l'uso del mangime medicato. Ciò contribuisce a evitare trattamenti eccessivi e a promuovere un uso responsabile degli antibiotici, in linea con le recenti normative europee sull'impiego prudente degli antimicrobici negli animali da produzione alimentare (Regolamento UE 2019/6). L'obiettivo del presente studio è stato quello di costruire curve di consumo e di costo del mangime in suini svezzati, analizzando le differenze tra categorie di peso dei suinetti all'inizio dello svezzamento e valutando l'impatto di tali parametri sulla gestione del mangime medicato. I dati sono stati raccolti in condizioni di campo per offrire una rappresentazione realistica delle dinamiche alimentari e fornire indicazioni operative utili alla pratica quotidiana in allevamento.

MATERIALI E METODI

Lo studio è stato condotto nel 2024 presso un allevamento suinicolo a ciclo aperto situato nella provincia di Treviso. I dati, raccolti nell'arco dell'intero anno, provengono da 39 gruppi di animali, per un totale di 25.971 suini. L'azienda è suddivisa in diverse unità strutturali destinate alla stabulazione degli animali. La scrofaia, che ospita 1.300 scrofe, si trova a una distanza adeguata dal sito di svezzamento, che accoglie i suini dopo la separazione dalla madre. Il capannone di svezzamento, di recente costruzione, è dotato di sistemi moderni per il controllo di temperatura, ventilazione e umidità: questi parametri sono costantemente monitorati e regolati automaticamente da centraline, per garantire condizioni ottimali durante l'intero ciclo di svezzamento. La capacità complessiva della struttura è di 7.700 posti, suddivisi in 10 stanze indipendenti (di cui una adibita a infermeria), collegate tra loro da un corridoio centrale che permette la movimentazione degli animali durante gli spostamenti. Ogni stanza contiene 16 valvole di distribuzione dell'alimento, ciascuna delle quali alimenta due box adiacenti di dimensioni 3,92 x 2 m che ospitano 23 capi ciascuno. I box sono dotati di arricchimenti ambientali, costituiti da tronchetti di legno e catene metalliche, per favorire il benessere degli animali e controllare comportamenti indesiderati, come il morso della coda. La presenza di un'adeguata zona filtro, posizionata all'ingresso del capannone, e di procedure di biosicurezza mantenute ai massimi livelli

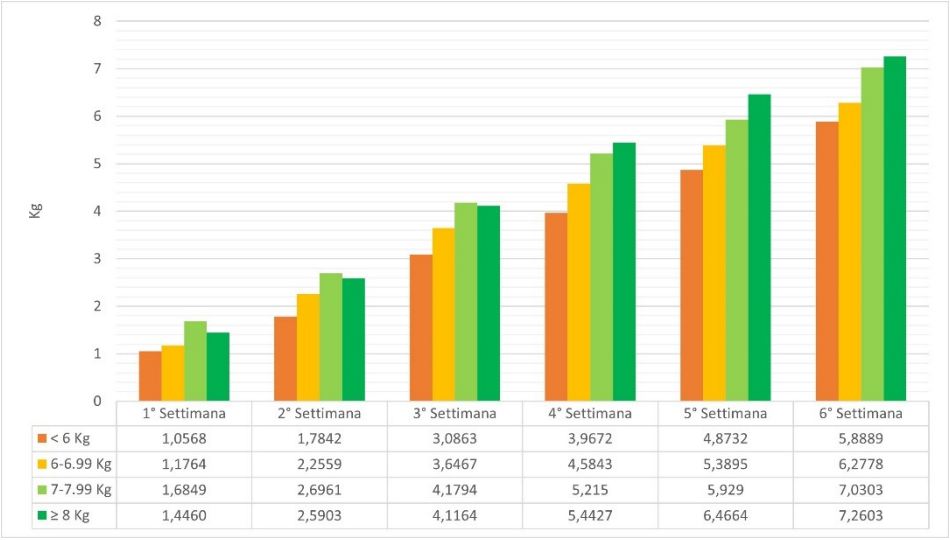
garantisce standard sanitari ottimali, riducendo al minimo il rischio di introduzione e diffusione di eventuali patologie. L'allevamento è gestito attraverso un sistema a bande trisettimanali: i nuovi suini nati vengono trasferiti con questa cadenza dalle sale parto ai capannoni di svezzamento. Il sistema a bande garantisce un utilizzo efficiente delle strutture, che vengono sottoposte a pulizia e disinfezione approfondite prima dell'arrivo di un nuovo gruppo di animali. Al momento dello svezzamento, l'allevatore redistribuisce gli animali della banda in tre gruppi, destinati a occupare tre stanze differenti del capannone. La suddivisione avviene in base al peso, per garantire omogeneità all'interno di ciascun gruppo. Ogni gruppo viene pesato con una bilancia in acciaio di dimensioni adeguate, posizionata all'inizio del corridoio principale che collega le stanze. Gli animali vengono pesati collettivamente sia all'ingresso sia all'uscita del capannone; il peso complessivo viene poi diviso per il numero totale di suini, così da ottenere il peso medio. In base ai dati raccolti, sono state definite quattro categorie di peso all'ingresso nello svezzamento:

- < 6 kg
- ≥ 6 kg e < 7 kg
- ≥ 7 kg e < 8 kg
- ≥ 8 kg

L'età media di ingresso nello svezzamento è stata di 24,6 giorni e le analisi relative alle quattro categorie di peso sono state covariate rispetto all'età di ingresso, al fine di standardizzare i dati e ottenere curve di alimentazione più precise. L'alimentazione fornita agli animali è costituita da mangime pellettato, suddiviso in quattro fasi di crescita (o periodi), somministrato in base all'età e al peso dei suini. La distribuzione avviene *ad libitum* tramite un sistema a vaschetta, che consente agli animali di mangiare e bere nella stessa postazione. Il consumo di alimento è stato misurato grazie a un sistema computerizzato, che registra i dati di carico nel miscelatore dai diversi silos che contengono le varie tipologie di mangime e i dati di scarico per ciascuna valvola di distribuzione che serve due box. I dati sono stati poi raggruppati per singola stanza e per periodi di tempo differenti. Le curve di consumo sono state definite sulla base dei dati settimanali, monitorati fino alla sesta settimana di svezzamento. In ciascuna settimana sono stati inclusi anche i suini deceduti, che hanno rappresentato l'1,26% del totale. Estendere la curva oltre la sesta settimana non è stato possibile, poiché parte degli animali poteva essere venduta anticipatamente, una volta raggiunto il peso richiesto o per esigenze commerciali legate al trasporto. Tuttavia, è stata eseguita una seconda analisi che ha considerato il consumo di mangime (totale e per tipologia) riferito all'intero periodo di svezzamento, e l'effettiva resa, in base all'accrescimento degli animali (differenza tra peso finale e peso iniziale) durante questa fase. Questa analisi ha permesso di calcolare il consumo di mangime suddiviso per tipologia (incluso quello medicato) e di valutarne la resa per ciascuna delle quattro categorie di peso.

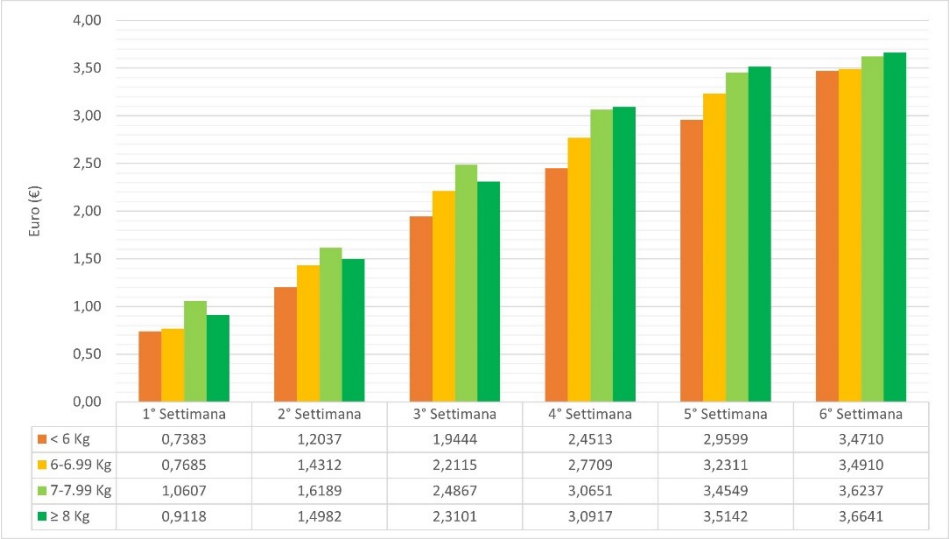
RISULTATI

La curva relativa ai consumi e quella legata ai costi dell'alimentazione non hanno evidenziato differenze significative considerando le diverse categorie di peso iniziale dei suinetti entro singola settimana ($P > 0,05$). Come era ovvio con il progredire delle settimane, si osservano invece un incremento costante del consumo e del costo, conseguenti alla crescita degli animali e al loro maggiore fabbisogno. Anche considerando la variazione negli incrementi settimanali (o pendenza della curva), non sono state rilevate differenze significative tra le categorie ($P > 0,05$).



	1° Settimana	2° Settimana	3° Settimana	4° Settimana	5° Settimana	6° Settimana
< 6 Kg	1,0568	1,7842	3,0863	3,9672	4,8732	5,8889
6-6.99 Kg	1,1764	2,2559	3,6467	4,5843	5,3895	6,2778
7-7.99 Kg	1,6849	2,6961	4,1794	5,215	5,929	7,0303
≥ 8 Kg	1,4460	2,5903	4,1164	5,4427	6,4664	7,2603

Grafico 1. Quantità media (kg) di mangime distribuito settimanalmente per animale in base alla classe di peso iniziale.
Graph 1. Average amount (kg) of feed distributed weekly per animal according to initial weight class.



	1° Settimana	2° Settimana	3° Settimana	4° Settimana	5° Settimana	6° Settimana
< 6 Kg	0,7383	1,2037	1,9444	2,4513	2,9599	3,4710
6-6.99 Kg	0,7685	1,4312	2,2115	2,7709	3,2311	3,4910
7-7.99 Kg	1,0607	1,6189	2,4867	3,0651	3,4549	3,6237
≥ 8 Kg	0,9118	1,4982	2,3101	3,0917	3,5142	3,6641

Grafico 2. Costo medio settimanale del mangime distribuito per animale in base alla classe di peso iniziale.
Graph 2. Average weekly cost of distributed feed per animal by initial weight class.

Se consideriamo il consumo settimanale di mangime (totale o per tipologia) nelle diverse categorie di peso dei suinetti non si evidenziano differenze statisticamente significative ($P > 0,05$): di fatto, l'utilizzo di una determinata tipologia di mangime non è risultato diverso tra le categorie. Tuttavia, analizzando il consumo complessivo di mangime medicato rispetto al peso iniziale dei suini, è emerso chiaramente come i suini più leggeri (< 6 kg) abbiano fatto registrare un consumo significativamente maggiore rispetto alle altre categorie ($P < 0,0001$). Tale risultato evidenzia una maggiore suscettibilità di questa categoria a problematiche sanitarie che hanno richiesto un maggiore intervento terapeutico attraverso l'alimentazione medicata.

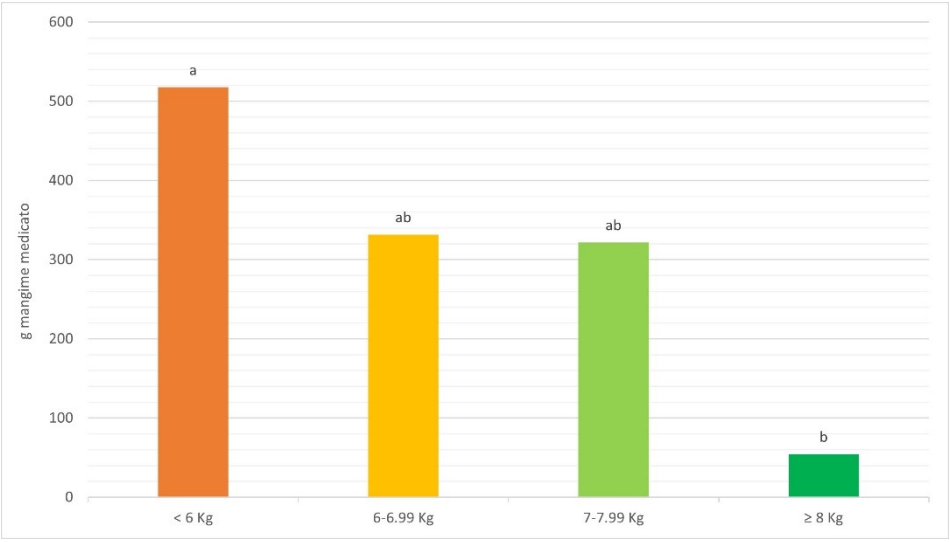
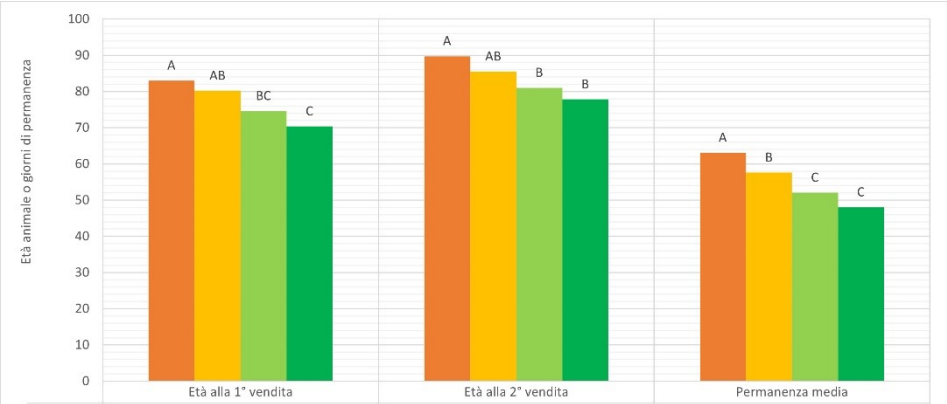


Grafico 3. Quantità media di mangime medicato (g) distribuita per kg di carne prodotta in base alla classe di peso iniziale.
Graph 3. Average amount of medicated feed (g) distributed per kg of meat produced by initial weight class.

L'analisi delle rese alimentari, calcolata sulla base della quantità di mangime consumato per chilogrammo di peso vivo prodotto, ha mostrato valori sovrapponibili tra le diverse categorie di peso, senza differenze statisticamente significative ($P > 0,05$). Tuttavia, l'analisi dell'età alla vendita ha mostrato che i suini con peso iniziale inferiore sono stati venduti ad un'età media significativamente maggiore rispetto a quelli più pesanti ($P \leq 0,001$) e hanno registrato un periodo di permanenza medio nelle strutture di svezzamento significativamente più lungo ($P \leq 0,006$). Questo aspetto si è tradotto in un incremento del costo di produzione per le categorie più leggere, dovuto agli ammortamenti legati alla prolungata occupazione degli spazi di allevamento.



	Età alla 1° vendita	Età alla 2° vendita	Permanenza media
< 6 Kg	83,00	89,75	63,05
6-6.99 Kg	80,18	85,50	57,59
7-7.99 Kg	74,58	81,00	52,04
≥ 8 Kg	70,33	77,80	48,00

Grafico 4. Età media alla vendita e durata media della permanenza nelle strutture in base alla classe di peso iniziale.
Graph 4. Average age at sale and average time at facility by initial weight class.

DISCUSSIONE

Nonostante le curve di consumo non mostrino differenze tra le diverse categorie di peso, è importante considerare l'utilità pratica di tali curve nella gestione quotidiana dell'allevamento. Disporre di una stima del consumo alimentare dei suini, basata sul peso di ingresso in svezzamento, può consentire al medico veterinario di quantificare con buona precisione la quantità di mangime medicato da somministrare durante un trattamento, senza necessariamente dover pesare gli animali al momento dell'intervento. La costanza della pendenza della curva di consumo settimanale, osservata indipendentemente dalla categoria di peso, conferma la stabilità del fabbisogno alimentare relativo durante il periodo di svezzamento. Questo dato suggerisce che, una volta definita una curva rappresentativa del consumo, è possibile prevedere con buona affidabilità i fabbisogni settimanali degli animali, semplificando così la gestione alimentare. Inoltre quando i suinetti vengono alimentati correttamente durante lo svezzamento migliorano le performance di crescita e l'efficienza alimentare, come evidenziato in precedenti studi [6]. I risultati indicano inoltre che svezzare suini con un peso iniziale maggiore può contribuire a migliorare la salute e il benessere animale, riducendo di conseguenza la necessità di interventi farmacologici. Tale evidenza è coerente con quanto riportato in letteratura, dove si evidenzia come un migliore stato di sviluppo al momento dello svezzamento favorisca una maggiore resistenza a condizioni potenzialmente stressanti [2,3]. Il dato emerso relativo alla categoria di peso inferiore a 6 kg conferma l'importanza di raggiungere questa soglia minima per ridurre la necessità di somministrazione di mangime medicato e, di conseguenza, di trattamenti antibiotici. Questo aspetto assume particolare rilevanza in un contesto in cui l'uso razionale degli antibiotici negli allevamenti suinicoli è oggetto di crescente attenzione a livello internazionale [4], a causa del rischio di selezione di ceppi batterici resistenti pericolosi anche per la salute umana. Oltre ai costi direttamente legati al consumo di alimento, è fondamentale considerare anche quelli associati alla permanenza degli animali nelle strutture. L'assenza di differenze significative nelle rese, calcolate sul totale dei chilogrammi di carne prodotti, tra le diverse categorie di peso, deve quindi essere interpretata anche alla luce della durata

della fase di svezzamento. I suini con peso d'ingresso inferiore, hanno raggiunto il peso ottimale di svezzamento ad un'età significativamente maggiore rispetto a quelli più pesanti, e hanno fatto registrare un periodo di permanenza più lungo nel sito 2. Questo prolungamento del ciclo di allevamento ha determinato un aumento dei costi di stabulazione, sia per la maggiore occupazione delle strutture, sia per l'impatto sulla gestione complessiva del ciclo produttivo. Come riportato in letteratura, un'età maggiore allo svezzamento è associata a una migliore efficienza alimentare e a una riduzione dei costi complessivi [2,6], mentre un prolungamento della fase di svezzamento può determinare un incremento dei costi di stabulazione [6]. Pertanto, svezzare animali con peso superiore ai 6 kg non solo ha consentito di ridurre il consumo di mangime medicato, ma ha anche migliorato l'efficienza complessiva dell'allevamento. Il consumo maggiore di mangime medicato nei suini più leggeri potrebbe indicare una maggiore suscettibilità a condizioni di stress o a patologie, nonostante la mortalità registrata (1,26%), non abbia evidenziato criticità sanitarie particolari durante il periodo di svezzamento. La correlazione tra peso d'ingresso e consumo di mangime medicato conferma le osservazioni di altri studi, i quali evidenziano come i suini con peso inferiore necessitino frequentemente di un maggiore supporto nutrizionale e farmacologico per superare con successo le fasi più critiche del post-svezzamento [2,6]. La classificazione degli animali in quattro categorie di peso si è rivelata utile per comprendere meglio le dinamiche di consumo, confermando l'importanza di monitorare il peso all'ingresso per ottimizzare le strategie alimentari, soprattutto nella gestione del mangime medicato.

CONCLUSIONI

I risultati di questo studio hanno evidenziato come le curve di consumo e di costo dell'alimentazione nei suini, durante la fase di svezzamento, possano rappresentare uno strumento utile per supportare le decisioni gestionali (zootecniche e sanitarie) in allevamento. Nonostante non siano emerse differenze significative tra le diverse categorie di peso all'interno della singola settimana, è stato osservato un incremento progressivo del consumo e del costo, attribuibile alla crescita fisiologica degli animali e al loro maggiore fabbisogno nutrizionale. L'analisi dei dati ha inoltre confermato come i suini con un peso d'ingresso inferiore ai 6 kg abbiano registrato un consumo significativamente maggiore di mangime medicato rispetto alle altre categorie. Questo risultato suggerisce come il peso al momento dello svezzamento influenzi non solo le performance di crescita, ma anche la necessità di interventi terapeutici. Di conseguenza, il raggiungimento di un peso di almeno 6 kg all'uscita dalla sala parto può rappresentare un importante obiettivo gestionale per ridurre la necessità di trattamenti antibiotici e migliorare complessivamente la salute degli animali. Le curve di consumo elaborate offrono al medico veterinario uno strumento pratico per stimare il fabbisogno alimentare e ottimizzare la somministrazione di mangime medicato senza la necessità di pesare direttamente i suini in ogni fase del processo. Ciò si traduce in una maggiore efficienza operativa e in un uso più razionale degli antimicrobici, in linea con le raccomandazioni per un impiego prudente di tali sostanze nella produzione animale. In futuro, ulteriori ricerche potrebbero approfondire il legame tra il peso d'ingresso e l'efficienza di conversione alimentare, includendo un campionamento più ampio di partite e considerando più allevamenti. L'uso di tecnologie avanzate di monitoraggio, come sensori per il rilevamento automatico del consumo alimentare e sistemi di intelligenza artificiale per l'analisi predittiva, può fornire dati in tempo reale utili a migliorare la precisione delle stime di consumo e supportare lo sviluppo di strategie nutrizionali sempre più personalizzate, in linea con i principi della zootecnia di precisione.

Gli autori ringraziano l'Azienda Agricola "La Grazia" (TV) di Rosaria e Loris Scarabello per la collaborazione nella raccolta dei dati utilizzati nello studio.

BIBLIOGRAFIA

1. Pluske JR, Hampson DJ, Williams IH (1997) “Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review”. *Livest Prod Sci*. 51(1-3), 215-236. doi:10.1016/S0301-6226(97)00057-2
2. Leliveld LMC, Riemensperger AV, Gardiner GE, O’Doherty JV, Lynch PB, Lawlor PG (2013) “Effect of weaning age and postweaning feeding programme on the growth performance of pigs to 10 weeks of age”. *Livest Sci*. 157(1), 225-233. doi:10.1016/j.livsci.2013.06.030
3. Tang X, Xiong K, Fang R, Li M (2022) “Weaning stress and intestinal health of piglets: A review”. *Front Immunol*. 13(November), 1-14. doi:10.3389/fimmu.2022.1042778
4. World Health Organization (WHO) (2015) “Global Action Plan on Antimicrobial Resistance”. *Microbe Mag*. 10(9). doi:10.1128/microbe.10.354.1
5. Guevarra RB, Hong SH, Cho JH, et al. (2018) “The dynamics of the piglet gut microbiome during the weaning transition in association with health and nutrition”. *J Anim Sci Biotechnol*. 9(1), 1-9. doi:10.1186/s40104-018-0269-6
6. Campbell JM, Crenshaw JD, Polo J (2013) “The biological stress of early weaned piglets”. *J Anim Sci Biotechnol*. 4(1), 2-5. doi:10.1186/2049-1891-4-19

PREMIO
FORMAZIONE PROFESSIONALE ITALIA 2024

ULCERE SCAPOLARI: NUOVE STRATEGIE
SCAPULAR ULCERS: NEW STRATEGIES

AROSIO V.

Suivet sas, Via Ernesto Che Guevara 55, 42123 Reggio Emilia, Italia;

Parole chiave*:* ulcere scapolari, benessere animale, trattamenti
Keywords: scapular ulcers, animal welfare, treatments

Riassunto
Le ulcere scapolari sono lesioni che si verificano principalmente nelle scrofe in sistemi di produzione intensiva, paragonabili alle piaghe da decubito nell'uomo, e sono causate dalla pressione sulle prominenze ossee della spalla in animali con condizioni corporee scadenti.
Esistono diversi fattori predisponenti quali: condizioni associate a pavimenti, in particolare il grigliato, ed associate alla scrofa, come nel caso di animali a condizione corporea scadente (es.: basso Body Conditional Score (BCS)), all'ordine di parto, alla genetica, od anche al microclima.
Analizzando questi fattori, insieme ad una classificazione delle lesioni osservate, son stati esaminati due gruppi di due scrofe con lo stesso grado di ulcerazione, ma trattate con metodi diversi, che sono stati poi confrontati: nel primo gruppo (trattato) è stato utilizzato un patch semirigido, che protegge la spalla alleviando la tensione, mentre nel secondo gruppo (controllo) è stata impiegata una crema curativa antimicrobica.

Abstract
Various pathological states can be found on intensive production farms: not only viral or bacterial diseases, but also orthopaedic injuries from trauma or environmental factors, such as scapula ulcer, comparable to bedsores in humans, which is caused by pressure on the bony prominences of the shoulder in animals with poor body condition.
The predisposition to this is given by conditions either associated with floors, in particular grating, or associated with the sow, such as in the case of animals with poor body condition (e.g. low Body Conditional Score (BCS)), farrowing order, genetics, or even microclimate.
By conducting an analysis of these factors combined with a simultaneous classification of the lesions observed, two groups of two sows with the same degree of ulceration, but treated with different methods, were examined and subsequently compared.
In the first group (treated), a semi-rigid patch was used, which protects the shoulder by reducing friction and thus relieving tension, while in the second group (control), an antimicrobial healing cream was used, which was already in the breeding's treatment protocol.

INTRODUZIONE

Valutare il benessere di un animale è una procedura complessa, che richiede l'analisi di differenti parametri inerenti sia all'animale (stati patologici, fisiologici, comportamentali e produttivi) sia al management aziendale (microclima, densità, strutture, formazione del personale...) (Meyer D. et al., 2019; Rioja-Lang FC et al., 2018).
Il BCS (Body Conditional Score) è uno strumento importante per dare una valutazione sulla condizione corporea della scrofa. Si basa sulla valutazione visiva del treno posteriore della scrofa al quale viene attribuito un punteggio da 1 a 5 dove 5 risulta troppo grasso ed 1 troppo magro. È proprio spesso in tale ultima condizione che, a causa dall'attrito fra la superficie della gabbia e la prominenza ossea della spalla, si possono realizzare vere e proprie lesioni in grado di sfociare in ulcere.

Con il termine ulcera ci si riferisce alla perdita dell'epidermide e della membrana basale con esposizione del derma (Guns U. 2008). Quelle localizzate alla spalla sono lesioni situate sopra la tuberosità spinale della scapola (tuber spina scapulae – TSS) e sono frequentemente osservate nelle scrofe ospitate in sistemi di produzione intensiva, specialmente nelle sale parto. La lesione è paragonabile alle piaghe da decubito negli esseri umani (Herskin MS et al., 2008). Nelle scrofe può esser limitata agli strati superficiali o più profondi del derma o coinvolgere il tessuto osseo sottostante, classificandosi così con differenti stadi. Il maggior coinvolgimento degli strati più profondi o del tessuto osseo sono indici di dolore acuto causato da una reazione infiammatoria (Carr DB et al., 1999), nonché da neuromi traumatici che possono essere presenti anche dopo la guarigione della ferita (Dahl-Pedersen K et al., 2013).
Le ulcere si sviluppano quasi esclusivamente nel periodo circostante il parto (Davies P. et al., 1997), dove vi sono differenti fattori rilevanti per l'innesco del danno tissutale: la pressione, le forze di taglio, l'attrito e la durata dei periodi di decubito (Herskin MS et al., 2008; Rolandsdotter E. et al., 2009; Strathe J. et al., 2007).
La patogenesi avviene per una compressione dei vasi sanguigni nel tessuto sovrastante la TSS, che porta all'ischemia, nello specifico l'occlusione dei vasi linfatici e sanguigni è seguita da un'aggregazione di prodotti del catabolismo, causando una necrosi cellulare locale, con conseguenti infiammazione e proliferazione che possono includere tutti gli strati tissutali (Herskin MS et al., 2008; figura 1).

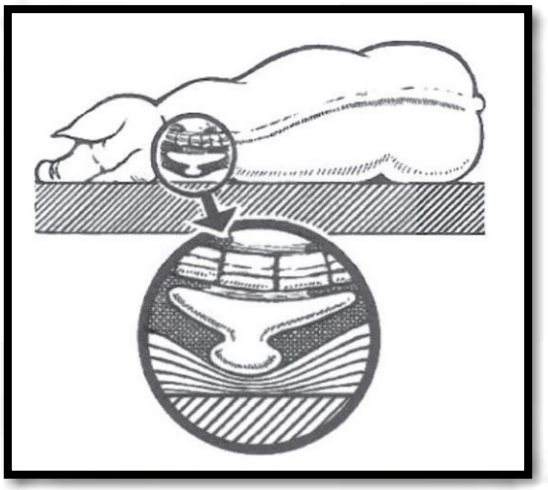


Figura 1. La tuberosità spinale scapolare va a comprimere il tessuto soprastante, causando l'occlusione dei vasi sanguigni con conseguente necrosi locale (Herskin MS et al.,2010). ***Figure 1.*** *The scapular spinal tuberosity compresses the overlying tissue, causing occlusion of blood vessels resulting in local necrosis (Herskin MS et al.,2010).*

Per poter classificare le ulcere, non esiste ancora un Gold standard, ma bisogna far riferimento sia ad un punteggio istopatologico (Tabella 1, chiamato "punteggio H"), che consente la differenziazione degli strati cutanei interessati (Davies P. et al., 2006), sia ad un punteggio clinico (Tabella 2, denominato "score-C"). I sistemi di punteggio variano in base al numero di fasi e alla precisione della valutazione dei parametri clinici: molti sono semplicemente legati al diametro di una lesione o alla quantità di formazione delle croste, altri includono anche segni di infiammazione o riparazione della pelle, come ad esempio arrossamenti o fibrosi.

Tabella 1. Criteri per la caratterizzazione dell'ulcera scapolare (modifica di Jensen 2009) (Meyer D. et al., 2019)

Table 1. *Criteria for characterising the scapular ulcer (modified from Jensen 2009) (Meyer D. et al., 2019)*

	STADIO					
Tessuto	0	1	2	3	4	5[a]
Epidermide	Intatto	Necrotico o mancante	Necrotico o mancante	Necrotico o mancante	Necrotico o mancante	Spesso assente
Derma		Necrosi limitata alla superficie del derma	Necrosi della maggior parte, residui di follicoli piliferi e della struttura ghiandolare	Necrotico o mancante		Tessuto di granulazione, fibroplasia
Sottocute	Nessuna lesione	Nessuna necrosi	Necrosi, eccesso di tessuto di granulazione, microascessi			
Osso			Leggera proliferazione della matrice ossea	Matrice reattiva e inspessita, formazione del tessuto periostale	Delimitato da un eccessivo tessuto di granulazione, esposto[b]	Spesso inspessito, spesso presenza di tessuto di granulazione
Muscolo[c]			Nessuna lesione	Presenza di muscolo soprascapolare con fibrosi	Muscolo gravemente atrofico	Nessuna lesione

[a] *Ulcera guarita*

[b] *Tessuto sovrastante mancante*

[c] *Porzioni dei muscoli circostanti della cintura scapolare*

Tabella 2. Sistema di punteggio clinico per la classificazione delle ulcere nelle scrofe (Meyer D. et al., 2019)
Table 2. *Clinical scoring system for classifying ulcers in sows (Meyer D. et al., 2019)*

Stadio	Lund 2006[a]	Zurbrigg 2006	Baustad, Frederiksen 2006	Lund 2003, Jensen 2009[b]	Bonde 2004	Welfare Quality 2009	Stadio	Sistema di graduazione danese[c]
0	Nessuna lesione cutanea	Nessuna lesione / cicatrici	Cute normale o ferite da combattimento fresche	Cute intatta, nessuna ulcera	-	-	0	Nessuna lesione o < 2cm
1	Lesione limitata all'epidermide, crosta moderata	Nessuna lesione attuale ma precedenti cicatrici	Ulcera con cute lievemente coinvolta	Ulcera limitata all'epidermide (necrotica o alterata), coperta da una crosta	Nessuna lesione	Nessuna lesione	1	Piccola lesione di 2-5cm di diametro
2	Lesione coinvolge il derma; estesa crosta; limitata fibrosi/ granulazione	Arrossamento della pelle	Ulcera penetrante la cute	Ulcera con coinvolgimento del derma; a volte crosta; tessuto di granulazione/fibrosi circostante	Graffi	Vecchie lesioni, ferita in via di guarigione, arrossamento		
3	Lesione coinvolge il sottocute; intensa granulazione	Cute lacerata < 2.3 cm	Ulcera estesa al sottocute; possibile tessuto di granulazione	Ulcera interessa il sottocute, a volte crosta; intensa formazione di fibrosi/ tessuto di granulazione	Ferite	Lesione/ferita aperta	2	Lesione > 5cm; perimetro della ferita inspessito
4	Ulcera estesa fino all'osso; proliferazione del tessuto osseo periostale	Cute lacerata ≥2.3 cm	Ulcera con scapola esposta	Ulcera con osso esposto; proliferazione del tessuto osseo				-

[a]*Modificato da Jensen e Svendsen nel 2006*
[b] *Citato da Herskin nel 2011*
[c]*Corrispondenza personale di Nielsen*

Vi sono differenti fattori di rischio per l'insorgenza delle ulcere che si posson suddividere in due gruppi: uno legato all'animale, l'altro all'ambiente, entrambi riassunti nella tabella 3. I tre più rilevanti legati alla scrofa sono: zoppia, Body Conditional Score (BCS) e numero di parti (Bonde M. et al., 2004), con particolar attenzione al primo, per cui in tale condizione la durata dello stazionamento in decubito laterale durante i parti prima, e la lattazione dopo, è aumentata rispetto a quella dei capi sani ed è proprio questa posa che è individuata come fattore di rischio e punto di partenza per lo sviluppo dell'ulcera alla spalla (Pieper B. et al., 1009; Hirt A. et al., 2007).
Per quanto riguarda il BCS, ovvero l'indicatore zootecnico dello stato corporeo della scrofa, un suo basso punteggio dove si va ad intendere animali con una modesta o scarsa condizione corporea (magri), incrementa la probabilità di insorgenza della lesione a causa un ridotto spessore del cuscino di grasso che ricopre la TSS (Herskin MS et al., 2008; Larsen T. et al., 2015). Tale copertura, risulta di fondamentale importanza per garantire la protezione della cute dallo sviluppo di ulcere nella regione della spalla.

Tabella 3. Fattori di rischio per l'insorgenza dell'ulcera scapolare (Rioja-Lang FC et al., 2018)
Table 3 *Risk factors for scapular ulcer occurrence (Rioja-Lang FC et al., 2018*

FATTORI DI RISCHIO LEGATI ALL'ANIMALE	FATTORI DI RISCHIO LEGATI ALL'AMBIENTE
• BCS ridotto • numero di parto • stato di salute • zoppia • pregresse lesioni ulcerative alla spalla • peso della covata allo svezzamento • durata del periodo di lattazione • comportamento agitato • alimentazione • genetica	• tipologia di pavimentazione • struttura e tipologia del boxe parto • temperatura • umidità • attrito col pavimento

Son stati condotti differenti studi sul decorso delle ulcere: in un primo (Jensen HE et al., 2006) è stato descritto che la guarigione può essere compromessa da un'infezione, pertanto, la guarigione secondaria sarà più lenta e le ferite apparentemente guarite potranno nascondere ascessi e, di conseguenza, far comparire fistole sulla superficie della pelle.
Quindi, non è certo che possano guarire completamente dopo un corretto trattamento ed è evidente che un soggetto affetto in precedenza sia più incline a sviluppare nuove ulcere da pressione nelle lattazioni successive (Christensen et al. 2002; Kaiser et al. 2006; Thorup 2006). La presenza di ulcere della spalla è un problema di benessere, che indica, come altre lesioni cutanee, che le condizioni di produzione impediscono agli animali di mantenere intatta la loro integrità (Broom, 1988).
La Danish Veterinary and Food Administration (Anonymous 2007) ha dichiarato, senza tuttavia fornire alcun dato, che le scrofe con ulcere alla spalla possono mostrare difficoltà ad alzarsi e che esprimono dolore quando vengono toccate. Sulla base di studi macroscopici e istologici delle ulcere della spalla da decubito, e sulla base della letteratura (Lund M. et al., 2003), viene suggerita che alla base del dolore vi sia una grave condizione ischemica, comprendente necrosi con coinvolgimento delle strutture sottostanti, compreso il periostio, che causerà un dolore considerevole e prolungato. La possibile compartecipazione di una infezione intercorrente è piuttosto frequente e va a complicare il quadro generale e l'algia. Le ulcere profonde da decubito della spalla sono state anche descritte come una possibile porta d'ingresso per i batteri nella circolazione, che possono portare a setticemia e ascessi (Nielsen et al., 2003; Vestergaard et al., 2005).

Nel complesso, l'esistenza di ulcere da decubito della spalla nelle scrofe rappresenta un problema di benessere, la cui portata non potrà essere determinata appieno fino a quando non sarà disponibile un valido sistema di classificazione ante-mortem e non sia stabilita la durata della patologia (compresi i vari stadi) e le possibili conseguenze in termini di dolore o disagio. Un ultimo studio (Vestergaard et al., 2005) ha menzionato la possibilità di fornire un antidolorifico alle scrofe con ulcere della spalla da decubito, dal momento che tale trattamento può migliorare la guarigione ed il benessere degli animali, insieme ad un utilizzo di creme cicatrizzanti antimicrobiche ad uso topico, che favoriscono il recupero tissutale riducendo la possibilità di infezioni secondarie.
Nelle figure sottostanti troviamo un confronto tra una spalla sana (figura 2), una con ulcera di stadio 2 ed una di stadio 3.

Figura 2. Area della spalla senza ulcerazione e sua sezione trasversale, lesioni assenti in tutti gli strati di tessuto (grado 0)
Figure 2. *Area of the shoulder without ulceration and its cross-section, lesions absent in all tissue layers (grade 0)*

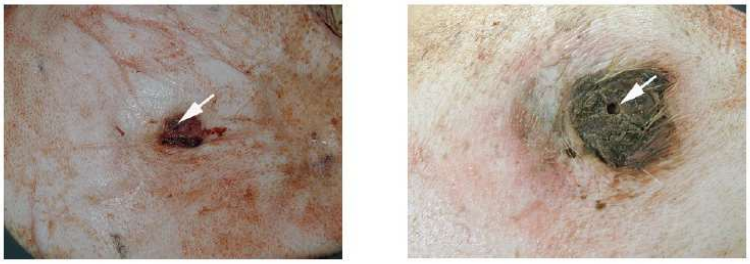


Figura 3-4. Sulla sinistra ulcera di grado 2, sulla destra ulcera di grado 3
Figure 3-4. *On the left ulcer grade 2, on the right ulcer grade*

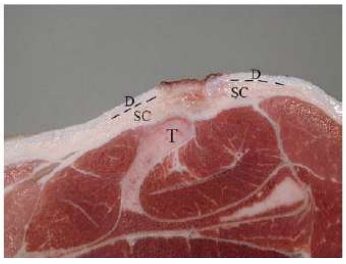


Figura 5. Ulcera di grado 2 estesa fino al derma (D) con edema nel sottocute (SC). T=tuberosità della spina scapolare
Figure 5. *Grade 2 ulcer extending to the dermis (D) with oedema in the subcutis (SC). T=tuberosity of the scapular spine*

Figura 6. Ulcera di grado 3 estesa al tessuto sottocutaneo lasciando illesa la tuberosità della spina scapolare (T)
Figure 6. *Grade 3 ulcer extended to the subcutaneous tissue leaving the tuberosity of the scapular spine uninjured (T)*

MATERIALI E METODI

L'azienda agricola oggetto dello studio, è situata nella provincia di Cremona, e si dedica all'allevamento di suini destinati alla produzione del prosciutto di Parma DOP. Si tratta di un allevamento in banda tri-settimanale a ciclo semi-aperto dove il 50% dell'ingrasso è mantenuto in loco, il restante viene tenuto esternamente in contratto di soccida. La consistenza numerica della mandria è di circa 550 scrofe con autorimonta interna e svezzamento a 28 giorni. Un mangimificio esterno è in grado di soddisfare tutte le necessità del processo produttivo e l'alimentazione è fornita in forma liquida con impianto automatico. Il giro delle scrofe dallo svezzamento al parto successivo segue un regolare flusso di movimentazione ottemperante delle normative vigenti in tema di benessere e biosicurezza. Le gabbie parto sono tradizionali e piccole, aspetto correlato, insieme al BCS, allo sviluppo di ulcere. Sanitariamente l'azienda ha un profilo convenzionale.
A titolo di studio preliminare, sono stati reclutati due gruppi di scrofe: gruppo trattamento e gruppo controllo, da due scrofe ciascuno che presentavano lo stesso grado di ulcera. Al gruppo di capi "trattamento", dopo aver accuratamente pulito e disinfettato la cute, è stato posizionato sulla spalla un dispositivo protettore della spalla (figura 7). Il dispositivo in oggetto è un patch semi-rigido usato per prevenire e fermare l'evoluzione delle ferite alla spalla delle scrofe, la protezione è progettata per alleviare la pressione nell'area attorno alla scapola utilizzando un adesivo unico che può essere fatto aderire direttamente alla zona interessata della scrofa. Ciò riduce il rischio che si verifichi una ferita alla spalla che richieda un trattamento fino all'evoluzione estrema con conseguente perdita dell'animale.
Il miglior modo per applicare il dispositivo protettore della spalla, si ha quando l'animale è posto in stazione quadrupedale e l'area della spalla deve essere ragionevolmente pulita e asciutta, altrimenti l'adesivo avrà difficoltà a garantire un'adesione ottimale. Dopo aver rimosso la pellicola protettiva della superficie piana adesiva, si appoggia delicatamente sulla lesione e, applicando una leggera pressione uniformemente distribuita, si permette al dispositivo di rimanere intimamente adeso alla cute.

Figura 7. Patch semi-rigido protettore
Figure 7*. Semi-rigid protective patch*

Il gruppo degli animali di "controllo" è stato sottoposto ad un trattamento con una crema cicatrizzante ad uso topico del mercato, trattamento che a livello aziendale è già abitualmente utilizzato per limitare lo sviluppo di ulcere della spalla, applicato una volta al giorno sulla ferita. La crema utilizzata come confronto possiede proprietà anti-microbiche e cicatrizzanti, grazie alla sua formulazione a base di ossido di zinco, olio di neem e sostanze polifunzionali: il primo forma una barriera protettiva a contatto con l'epidermide favorente la cicatrizzazione, il secondo è caratterizzato da proprietà antisettiche, antifungine, antiparassitarie e le terze svolgono un'azione emolliente e plastificante nei confronti dell'epidermide.
Entrambi i gruppi di scrofe sono stati seguiti dall'ingresso in sala parto fino all'uscita.

Figura 8. Posizionamento del patch
Figure 8. *Positioning of the patch*

Figura 9. Uso topico della crema
Figure 9. *Topical use of cream*

GRUPPO "TRATTAMENTO"	GRUPPO "CONTROLLO"
SCROFA NUMERO 1, ULCERA GRADO 2	SCROFA NUMERO 3, ULCERA GRADO 2
- scrofa di 1 anno e 5 mesi - ordine di parto pari a 2 - durata media della lattazione di 28 giorni	- scrofa di 2 anni e 2 mesi - ordine di parto pari a 3 - durata media della lattazione di 28 giorni
SCROFA NUMERO 2, ULCERA GRADO 1	**SCROFA NUMERO 4, GRADO 1**
- scrofa di 1 anno e 5 mesi - ordine di parto pari a 2 - durata della lattazione pari a 27 giorni	- scrofa di 1 anno e 5 mesi - ordine di parto pari a 2 - durata della lattazione pari a 27 giorni

RISULTATI

SCROFE "GRUPPO TRATTAMENTO"

Nella figura 10 si mostra come il patch abbia permesso un arresto della progressione della lesione evitando così che l'ulcera andasse ad intaccare il derma e gli altri tessuti sottostanti, causando non solo un danno anatomico, ma anche dolore alla scrofa, minacciando il suo benessere. Inoltre, è possibile osservare, soprattutto a destra, anche un miglioramento nella guarigione, possibile tramite l'effetto protettivo da pressione ed attrito esercitato dal patch.

Figura 10. Scrofe trattate con il patch, a sinistra ulcera inizialmente di grado 2, a destra di grado 1
Figure 10. *Sows treated with the patch, on left ulcer initially grade 2, on right ulcer grade 1*

SCROFE GRUPPO "CONTROLLO"

Nella figura 11 le scrofe presentano un'ulcera che è andata, seppur lievemente, ad aggravarsi approfondendosi nei tessuti sottostanti. Ciò è dovuto all'effetto esercitato della pressione e dell'attrito che non è stato possibile contrastare mediante l'uso topico della crema, che ha permesso solamente di mantenere un ambiente asettico.

Figura 11. Scrofe sottoposte al trattamento topico con crema
Figure 11. *Sows undergoing topical treatment with cream*

DISCUSSIONE

L'analisi dei risultati ottenuti nello studio ha evidenziato differenze interessanti tra le due modalità di trattamento delle ulcere scapolari nelle scrofe. Il patch semi-rigido ha mostrato un'efficacia superiore rispetto alla crema antimicrobica, non solo nel prevenire la progressione delle lesioni, ma anche nel favorire la guarigione delle stesse.

Le scrofe del gruppo trattamento, a cui era stato applicato il patch, hanno dimostrato un arresto della progressione dell'ulcera e segni evidenti di miglioramento. Ciò è attribuibile all'azione protettiva del dispositivo, che riduce la pressione e l'attrito sulla zona interessata,

elementi chiave nella patogenesi di queste lesioni. La protezione meccanica offerta dal patch si è dimostrata quindi un fattore determinante nel garantire il benessere dell'animale e nel limitare il rischio di dolore acuto associato alla profondità della lesione.
Al contrario, le scrofe del gruppo controllo, trattate con la crema antimicrobica, hanno evidenziato una progressione della lesione, con un maggiore coinvolgimento dei tessuti sottostanti. Sebbene la crema abbia contribuito a mantenere un ambiente asettico e a promuovere la cicatrizzazione, non è stata in grado di contrastare l'azione della pressione e dell'attrito esercitati sulla spalla. Questo ha portato ad un aggravamento della condizione clinica delle scrofe trattate esclusivamente con il preparato topico.
I risultati dello studio, sebbene a carattere preliminare, confermano che la prevenzione e la gestione delle ulcere scapolari non possono limitarsi alla sola applicazione di creme cicatrizzanti, ma richiedono soluzioni più strutturate che riducano la pressione sulle prominenze ossee. Inoltre, il patch semi-rigido rappresenta un'innovazione interessante che potrebbe trovare ampia applicazione negli allevamenti intensivi, migliorando il benessere animale e riducendo le perdite economiche dovute alle patologie cutanee nelle scrofe.
Un ulteriore aspetto da considerare è la necessità di studi a lungo termine per valutare l'efficacia del patch su un campione più ampio di soggetti e in differenti condizioni di allevamento. Inoltre, sarebbe utile analizzare il ruolo di altri fattori di rischio, come la genetica e la tipologia di pavimentazione, nell'insorgenza delle ulcere scapolari, al fine di individuare strategie integrate di prevenzione e trattamento**.**

CONCLUSIONE

In conclusione, lo studio dimostra che l'impiego di un patch semi-rigido può rappresentare una strategia efficace per la gestione delle ulcere scapolari nelle scrofe, riducendo il dolore e migliorando il processo di guarigione, implementando così lo stato di benessere animale. Tuttavia, ulteriori ricerche sono necessarie per ottimizzare l'uso di questa tecnologia e per sviluppare protocolli di intervento sempre più efficaci nel miglioramento del benessere animale.

BIBLIOGRAFIA

1. Meyer D, Hewicker-Trautwein M, Hartmann M, Kreienbrock L, grosse Beilage E. Scoring shoulder ulcers in breeding sows – is a distinction between substantial and insubstantial animal welfare-related lesions possible on clinical examination? Porcine Health Management. 2019;5(1):3.
2. Rioja-Lang FC, Seddon YM, Brown JA. Shoulder lesions in sows: a review of their causes, prevention, and treatment. J Swine Health Prod. 2018;26(2): 101–7.
3. Gunes U. A descriptive study of pressure ulcer pain. Ostomy Wound Manag. 2008;54:56–61.
4. Herskin MS, Bonde M, Jørgensen E, Jensen KH. Decubital shoulder ulcers in sows: a review of classification, pain and welfare consequences. Animal. 2011;5:757–66
5. Carr DB, Goudas LC. Acute pain. Lancet. 1999;353:2051–8.
6. Dahl-Pedersen K, Bonde MK, Herskin MS, Jensen KH, Kaiser M, Jensen HE. Pathogenesis and pathology of shoulder ulcerations in sows with special reference to peripheral nerves and behavioural responses to palpation. Vet J. 2013;198:666–71.
7. Davies P, Morrow W, Rountree W, Miller D. Epidemiologic evaluation of decubital ulcers in farrowing sows. J Am Vet Med Assoc. 1997;210:1173–8.
8. Rolandsdotter E, Westin R, Algers B. Maximum lying bout duration affects the occurrence of shoulder lesions in sows. Acta Vet Scand. 2009;51:44.
9. Strathe J, Nielsen JP. Shoulder lesions in Danish sows - an abattoir survey with emphasis

on the relation between clinical signs and post-mortem registrations: University of Copenhagen; 2007.
10. Davies P, Morrow W, Miller D, Deen J. Epidemiologic study of decubital ulcers in sows. J Am Vet Med Assoc. 1996;208:1058–62.
11. M. S. Herskin1-, M. K. Bonde1, E. Jørgensen2 and K. H. Jensen. Decubital shoulder ulcers in sows: a review of classification, pain and welfare consequences. Animal (2011), 5:5, pp 757–766 & The Animal Consortium 2010
12. Bonde M, Rousing T, Badsberg JH, Sørensen JT. Associations between lyingdown behaviour problems and body condition, limb disorders and skin lesions of lactating sows housed in farrowing crates in commercial sow herds. Livestock Prod Sci. 2004;87:179–87.
13. Pieper B, Langemo D, Cuddigan J. Pressure ulcer pain: a systematic literature review and national pressure ulcer advisory panel white paper. Ostomy Wound Manag. 2009;55:16.
14. Hirt A, Maisack C, Moritz J. Tierschutzgesetz-Kommentar. München: Verlag Franz Vahlen; 2007.
15. Larsen T, Kaiser M, Herskin MS. Does the presence of shoulder ulcers affect the behaviour of sows? Res Vet Sci. 2015;98:19–24
16. Rioja-Lang FC, Seddon YM, Brown JA. Shoulder lesions in sows: a review of their causes, prevention, and treatment. J Swine Health Prod. 2018;26(2): 101–7.
17. Jensen HE and Svendsen O 2006. Decubital shoulder ulcers in sows – pathogenesis, graduation and comparative aspects (In Danish). Dansk Veterinærtidsskrift 13, 14–16.
18. Thorup F, editor. Back fat level at farrowing affects the frequency of shoulder lesions. Copenhagen: Proc 18th IPVS; 2006.
19. Christensen G, Wachmann H and Enøe C 2002. Decubital ulcers in sows. The Proceedings of the Danish Pig Veterinary Society, Vejle, Denmark, 8pp.
20. Kaiser M, Mose K and Alban L 2006. Which sows get shoulder ulcers? Danish Pig Production, Report 0620, 7pp.
21. Broom DM 1988. The scientific assessment of animal welfare. Applied Animal Behaviour Science 20, 5–19.
22. Danish Veterinary Health Council. Statement regarding shoulder ulcers in sows based on questions (in Danish). Ministry of Food, Agriculture and Fisheries, Danish Veterinary and Food Administration, Denmark, 3pp.
23. Lund M, Aalbæk B, Jensen HE. Skuldersår hos søer – et dyreetisk problem. Dansk Veterinærtidsskrift. 2003;86:8–11.
24. Nielsen NP and Vestergaard K 2003. A note on shoulder ulcers in sows (In Danish), Danish Pig Production, Report 0324, 3pp.
25. Vestergaard K, Fruergaard M, Nielsen NP and Madsen MT 2005. Decubital shoulder ulcers (In Danish). InfoSvin, Database of Danish Pig Production, Denmark. Retrieved June 30, 2010, from http://www.infosvin.dk

IMPATTO DELLE STRUTTURE PARTO SWAP (SOW WELFARE AND PIGLET PROTECTION PEN) SUI SUINI SVEZZATI: ACCRESCIMENTO E MORSICATURA DELLE CODE

IMPACT OF SWAP FARROWING CRATES ON WEANED PIGS: GROWTH AND TAIL BITING

MOSCON, E.[1] , FAVARO, D.[1] , CONTIERO B.[2], GOTTARDO, F.[2] , TONON, F. [1, 2]

[1]*Medico Veterinario Libero Professionista - SUIVET;*
[2]*Università degli Studi di Padova, Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute.*

Parole chiave: suinetti svezzati, SWAP, benessere animale
Keywords: Weaned piglets, SWAP, animal welfare

Riassunto
Sotto la spinta dell'opinione pubblica europea con l'iniziativa "End the Cage Age", la Commissione Europea si è impegnata a legiferare per l'abolizione della stabulazione in gabbia o recinto individuale per gli animali allevati.
Per le scrofe una possibile alternativa alle tradizionali gabbie parto potrebbe essere le nuove *Sow Welfare And Piglet Protection Pen (*SWAP). Queste strutture permettono di confinare temporaneamente la scrofa durante il parto e nelle ore successive, quando il rischio di schiacciamento dei suinetti è più elevato. Successivamente viene permessa una maggior libertà di movimento della scrofa data la possibilità di apertura della struttura.
Lo scopo dello studio è stato valutare gli effetti, nella fase di svezzamento, suisuinetti appartenenti a nidiate con scrofe sempre confinate in gabbia parto per l'interalattazione, rispetto a quelli cresciuti con scrofe la cui gabbia è stata aperta 3 giorni dopo il parto.
Le rilevazioni hanno riguardato l'accrescimento medio giornaliero, i consumi alimentari e l'efficienza alimentare, parametri per i quali non sono state rilevate differenze significative tra le tesi.
Differenze statisticamente significative si sono invece rilevate per le lesioni alle code, risultate inferiori nel gruppo di suinetti provenienti dalle nidiate con scrofe sempre confinate in gabbia chiusa (1.3% vs. 6.2%; P = 0,011).

Abstract
Under pressure from European public opinion with the "End the Cage Age" initiative, the European Commission has committed to legislating the abolition of caging or individual penning for farm animals.
For sows, a possible alternative to traditional farrowing crates could be the new Sow Welfare And Piglet Protection Pen (SWAP). These structures allow temporary confinement of the sow during farrowing and the hours immediately after, when the risk of crushing the piglets is highest. Afterwards, greater freedom of movement for the sow is permitted due to the possibility of opening the structure.
The purpose of the study was to evaluate the effects, at the weaning stage, on piglets belonging to litters with sows always confined in farrowing crates for all lactation period, compared to piglets from litters where the sow's crate was opened 3 days after farrowing.
Measurements included average daily gain, feed intake and feed efficiency, parameters for which no significant differences were found between the groups.
Statistically significant differences were found, however, in tail injuries, which were lower

for the group of piglets from litters with sows kept always in closed crates (1.3% vs. 6.2%; P = 0.011).

INTRODUZIONE

La crescente attenzione dell'opinione pubblica verso il benessere animale nel comparto zootecnico è stata evidenziata anche dall'iniziativa dei cittadini europei del 2019, denominata "End the Cage Age", promossa dalle associazioni animaliste e sostenuta dalla raccolta di oltre un milione e mezzo di firme a favore della fine dell'uso delle gabbie, ricercando pratiche di allevamento più etiche.
Questa richiesta ha spinto la Commissione Europea, nel 2021, ad impegnarsi a proporre nel 2023 nuove leggi che gradualmente mettano fine all'uso delle gabbie negli allevamenti, con l'entrata in vigore prevista a partire dal 2027.

Nel settore suinicolo, la stabulazione in gabbia riguarda prevalentemente le scrofe nella prima fase della gestazione, al parto e durante l'allattamento. La normativa vigente a protezione dei suini, Direttiva 2008/120/CE, prevede che le scrofe possano essere stabulate in una gabbia parto da 28 a 35 giorni (una settimana prima del parto e fino allo svezzamento, che può avere durate variabili a seconda che sia precoce o meno). In questa tipologia di struttura, le scrofe non hanno la possibilità di esprimere il loro comportamento naturale in prossimità del parto né di compiere i movimenti necessari.
Il confinamento delle scrofe è stato reso necessario per ridurre una delle principali cause di morte dei suinetti nelle prime 24/48 h, ossia lo schiacciamento (Yun et al. 2019; Olsson et al. 2019). Lo schiacciamento dei suinetti dipende da diversi fattori, quindi non è imputabile unicamente alla madre (movimenti, mole, ordine di parto), ma è legato anche alle condizioni dei suinetti stessi (sottopeso, vitali o disvitali) e a fattori ambientali (temperatura, correnti d'aria).

Tra le principali soluzioni per rispondere alla crescente attenzione dell'opinione pubblica verso il benessere animale nel comparto zootecnico e, in particolare, all'iniziativa dei cittadini europei del 2019, denominata "End the Cage Age", si stanno studiando alternative alla stabulazione tradizionale per le scrofe durante la lattazione. Una di queste soluzioni è il sistema SWAP (Sow Welfare And Piglet Protection Pen), che prevede"gabbie a confinamento temporaneo" (Skovbo et al. 2022). Le strutture SWAP presentano diversi modelli e tipologie, ma lo scopo principale è quello di contenere la scrofa solo nel periodo più critico per lo schiacciamento dei suinetti, ossia nelle prime 2 giornate post-partum. Una volta superato questo periodo, la gabbia può essere aperta, permettendo alla scrofa una maggiore libertà di movimento e interazione con i suinetti, pur mantenendo una gestione controllata. Questa soluzione si inserisce anche in un contesto di possibile cambiamento della normativa vigente, in risposta alle richieste di una maggiore attenzione al benessere animale.
Lo scopo del presente lavoro di ricerca è stato quello di valutare potenziali ricadute, in termini di performance, sui suinetti in svezzamento provenienti da gabbie parto SWAP.

MATERIALI E METODI

Questo contributo fa parte di un progetto più ampio, volto a valutare l'impatto del sistema SWAP sulla salute e prestazioni produttive dei suinetti durante la fase di lattazione e poi allo svezzamento. In particolare, il presente studio si è focalizzato sulle rilevazioni effettuate dal giorno dello svezzamento fino al momento dell'uscita dal sito 2 dei suini, con l'obbiettivo di monitorare le performance degli animali provenienti dalle due condizioni di stabulazione a confronto durante la lattazione.

Lo studio si è svolto presso un allevamento suinicolo a ciclo aperto situato nella provincia di Treviso. L'allevamento è costituito da una scrofaia di 1300 scrofe e uno svezzamento di nuova costruzione di 7700 posti. Per garantire il rispetto delle norme di biosicurezza, gli edifici sono stati realizzati a debita distanza l'uno dall'altro. La scrofaia di recente ristrutturazione, dispone di box parto di nuova concezione con sistema SWAP (Sow Welfare And Piglet Protection Pen), modello Welsafe, prodotti dalla ditta Evoteck S.r.l. (Manerbio (BS) – Italia).
In sala parto sono state osservate due situazioni a confronto: box parto SWAP con scrofe sempre chiuse fino alla fine della lattazione (C), e box SWAP con apertura della gabbia al terzo giorno dal parto (A). Nello studio sono state incluse 20 scrofe assegnate alla tesi C e 20 alla tesi A, con una distribuzione bilanciata per ordine di parto (dal terzo al sesto). Alla nascita, il numero medio di suinetti per nidiata è stato di 14.
A una quota di suinetti (241 suinetti su 560 totali, corrispondenti a 16 nidiate) è stata applicata una marca auricolare di riconoscimento per consentire pesate individuali regolari su un sottogruppo. Questo ha permesso di monitorare individualmente un campione di animali dalla nascita fino alla fine dello svezzamento.
Al momento dello svezzamento, le nidiate dei due gruppi sperimentali sono state mantenute separate per creare box omogenei per tesi e per peso: piccoli (peso medio 6,3 kg), medi (peso medio 7,7 kg) e grandi (peso medio >8 kg).
I suinetti con marca auricolare apposta in sala parto sono stati distribuiti in modo omogeneo nei box di svezzamento, rispettando il criterio delle rispettive tesi di origine (C e A).
Complessivamente, sono stati considerati 494 suini svezzati, collocati in un'unica sala del capannone di svezzamento, suddivisi in 22 box da 3,92x2 m con una media di 24 ± 1 capi ciascuno (Figura 1).
I suinetti di ciascuna tesi sono stati distribuiti su 10 box, dei quali 4 presentavano anche la possibilità di effettuare l'identificazione individuale del suinetto svezzato. I due box eccedenti sono stati utilizzati uno come box infermeria e l'altro per i capi in eccesso ottenuti dal gruppo C. Questa distribuzione ha garantito condizioni ambientali e densità uniformi per tutti gli animali.

Figura 1: Box di svezzamento.
Figure 1: Weaning pens.

Figura 2: Pesa utilizzata nello studio e collocata nel corridoio dello svezzamento.
Figure 2: Scale used during the study and positioned in the weaning corridor.

Le misurazioni effettuate hanno incluso pesate collettive dei box, ripetute settimanalmente, a cui si sono aggiunte tre pesate individuali con cadenza trisettimanale a partire dal giorno dello svezzamento, per i box contenenti i suini identificabili tramite marca auricolare. Lo schema delle pesate effettuate è riportato in tabella 1.

Tabella 1: Tempistica di esecuzione delle pesate di box ed individuali
Table 1: Timing of box and individual weighing.

Peso iniziale (giorno dello svezzamento)	Pesata di box + individuale
Settimana 1	Pesata di box
Settimana 2	Pesata di box
Settimana 3	Pesata di box + individuale
Settimana 4	Pesata di box
Settimana 5	Pesata di box
Settimana 6	Pesata di box + individuale
Settimana 7	Pesata di box

Sulla base dei dati delle pesate, è stato possibile calcolare l'incremento medio giornaliero (ADG) per capo. Durante la fase di svezzamento, sono stati rilevati settimanalmente anche i consumi alimentari per ogni box e calcolata la resa alimentare, espressa in percentuale, considerando l'incremento netto di peso rispetto ai chilogrammi di mangime consumato.

Durante tutta la fase di svezzamento, sono stati registrati gli animali morti o trasferiti in infermeria. Inoltre, nelle settimane 3, 5 e 6, sono state rilevate eventuali lesioni alle code, con classificazione della loro gravità secondo lo schema riportato in Figura 3.

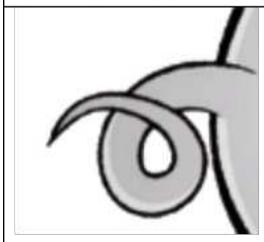
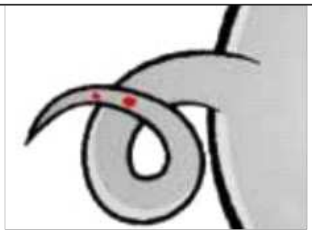
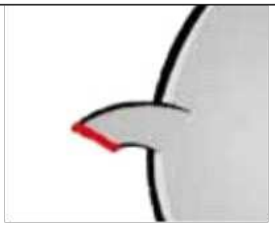
PUNTEGGIO 0	PUNTEGGIO 1	PUNTEGGIO 2
		
Nessun segno di morsicatura della coda	Segni di morsicatura superficiale per tutta la lunghezza della coda, ma senza sangue fresco o gonfiore	Presenza di sangue fresco sulla coda e/o segni di gonfiore e infezione e/o rimozione di parte del tessuto della coda e formazione di croste

Figura 3: Rappresentazione schematica del sistema di valutazione delle lesioni delle code.
Figure 3: Schematic representation of the score used for tail lesions evaluation.

I dati raccolti sono stati archiviati in Excel ed elaborati utilizzando l'analisi della varianza (ANOVA a una via) per le performance di crescita (accrescimenti, consumi efficienza alimentare). Per quanto riguarda invece l'elaborazione dei dati relativi alle lesioni alle code, sono stati applicati test non parametrici di confronto tra frequenze. Le analisi statistiche sono state condotte con il software XLStat (XLSTAT Statistical and Data Analysis Solution, New York, USA. https://www.xlstat.com).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Considerando i valori medi di ADG derivato dal dato delle pesate collettive, non si osservano differenze statisticamente significative tra le tesi a confronto (C = 0,491 vs. A = 0,472 g/giorno; P = 0,253). Anche l'analisi della varianza con test ANOVA effettuata sui dati di ADG derivante dalle pesate individuali non ha evidenziato differenze statisticamente significative, confermando il risultato precedentemente (C = 0,444 vs. A = 0,478 g/giorno P = 0,199). Questi risultati suggeriscono che l'effetto della tipologia di gabbia usata in sala parto non ha un impatto significativo sulle performance di crescita in svezzamento.

Per quanto riguarda il consumo di mangime, espresso in kg per capo, si è osservato ovviamente un aumento progressivo dell'ingestione (kg/capo) nelle diverse settimane in entrambe le tesi considerate. Tuttavia, come per gli accrescimenti, non sono emerse differenze significative per le tesi a confronto (Tabella 2).

Tabella 2: Mangime consumato settimanalmente in media per capo nelle due tesi a confronto.
Table 2: Weekly feed intake per piglet according to the experimental groups.

		Settimana di svezzamento					
		1	2	3	4	5	6
Tesi A	(kg/capo)	1,91	2,58	4,15	4,96	6,13	7,62
Tesi C	(kg/capo)	1,79	2,69	4,33	4,98	6,74	7,02

All'uscita dalla sala parto, i pesi medi dei suinetti sono stati significativamente superiori per il gruppo A rispetto al gruppo C (7.69 vs 6,64 kg/capo; $P < 0.001$). Questo risultato ha compensato la minore numerosità di suinetti svezzati per la tesi A rispetto a C. Tuttavia, questa differenza non è stata mantenuta durante la fase di svezzamento, probabilmente perché i suinetti sono stati pareggiati per peso e numerosità entro box, e i soggetti sovrannumerari del gruppo C, che erano più leggeri o presentavano evidenti problemi di salute all'uscita dalla sala parto, sono stati esclusi dalla prova. Di conseguenza, i pesi medi all'inizio dello svezzamento sono risultati moltosimili tra i gruppi.
I suini svezzati del gruppo C avevano un peso medio iniziale di 7,60 kg, mentre quelli del gruppo A avevano un peso medio di 7,67 kg. I pesi medi finali sono risultati maggiori nel gruppo C rispetto al gruppo A (27,69 kg vs. 26,35 kg), ma la differenza non è risultata statisticamente significativa.

Per quanto riguarda l'incremento netto di peso totale nelperiodo di osservazione (7 settimane), la tesi C ha registrato un incremento di 511,8 kg, rispetto ai 459,9 kg della tesi A.
I consumi alimentari settimanali complessivi entro tesi durante lo stesso periodo sono stati di 792,3 kg per la tesi C e 766,5 kg per la tesi A.
Questi valori permetto di calcolare la resa alimentare delle due tesi prese in esame; per la tesi C si ha una resa alimentare del 64,7%, mentre per la tesi A del 60,3%. Tuttavia, l'analisi della varianza non ha evidenziato significatività statistica ($P = 0,164$).
Per quanto riguarda le lesioni alle code, i dati raccolti nello studio mostrano una minore prevalenza di suini con lesioni nel gruppo C rispetto al gruppo A. Nel gruppo C sono stati registrati 21 suinetti con lesioni alla coda, rispetto ai 40 nel gruppo A. Rapportando questi valori alla totalità dei capi presenti per ciascuna tesi, si osservano il 3% di capi con coda lesionata per il gruppo C e il 5,9%, per il gruppo A. Quindi, considerando l'importanza di questo parametro nella gestione degli svezzamenti, in ottica benessere animale, l'effetto di trascinamento che potrebbe esserci dalla gestione in sala parto fino allo svezzamento potrebbe rappresentare un ulteriore fattore di rischio da tenere in considerazione.
Se si considera anche la gravità delle lesioni alla coda, i dati ottenuti confermano il trend individuato precedentemente: il gruppo C presenta delle prevalenze minori sia per le lesioni di grado 1 (2,3%) che di grado 2 (0,7%), rispetto al gruppo A (4% di grado 1 e 1,9% di grado 2).

Tabella 4: Dati relativi alla morsicatura delle code nelle 3 osservazioni effettuate.
Table 4: Data on tail biting in the 3 observations.

	Settimana di svezzamento		
	3	5	6
Tesi C	1,7%	1,3%	6%
Tesi A	5,2%	6,2%	6,3%
Probabilità di errore	0,07	0,01	0,99

Dall'analisi dei dati raccolti nelle 3 settimane di osservazioni risulta una evidente differenza tra le tesi, con una maggior presenza di morsicatura nel gruppo A rispetto al gruppo C, con significatività statistica riscontrata alla settimana 5 ($P = 0,01$). Considerando che tutti i fattori gestionali ed ambientali (alimentazione, temperatura, qualità dell'aria, stato sanitario) sono stati costanti per i suini di entrambe le tesi, è probabile che questa differenza sia dovuta

all'effetto della tesi di origine. Nella settimana 6, la situazione relativa alle lesioni nei due gruppi è simile, probabilmente a causa dell'aumento delle dimensioni dei suini, ormai a fine svezzamento, che possono incidere sulla competizione per l'alimento o determinare una riduzione delle vie di fuga, indipendentemente dalla tesi.

CONCLUSIONI

L'obiettivo di questo studio è stato quello di fornire uno spunto di riflessione sull'impatto delle modalità di stabulazione della scrofa in sala parto (confinamento per tutta la lattazione, C, vs confinamento limitato ai primi tre giorni dopo il parto, A) sulle performance dei suinetti in svezzamento.

Dal punto di vista delle performance zootecniche (accrescimento, consumi e indice di conversione) non si sono osservate differenze statisticamente significative tra i due gruppi di suinetti.

Un aspetto particolarmente rilevante, soprattutto in termini di benessere animale, riguarda le lesioni alle code: il gruppo C ha mostrato una minore prevalenza di suini con lesioni alla coda rispetto al gruppo A, considerando l'intero ciclo di allevamento. Se si considera l'effetto età dei suinetti, per il gruppo A si è osservata una tendenza a presentare il fenomeno della morsicatura fin dall'inizio dello svezzamento, con una differenza significativa tra le tesi alla settimana 5. Tuttavia, alla fine dello svezzamento, le morsicature sono state invece del tutto simili tra le tesi, suggerendo che fattori come la dimensione degli animali rispetto alla disponibilità di risorse (spazio per il movimento, spazio mangiatoia) cominciano a diventare limitanti per entrambi i gruppi.

In sintesi, nonostante la mancanza di significatività nella maggior parte dei dati, il tipo di gabbia usato nella sala parto per la gestione delle scrofe potrebbe avere un impatto sul comportamento dei suinetti svezzati. Contrariamente a quanto ci si aspettava, l'uso delle gabbie chiuse ha mostrato delle tendenze positive, con un minor numero di lesioni alla coda. Tuttavia, altri fattori come la gestione ambientale, lo spazio disponibile e le dinamiche sociali potrebbero influire in modo significativo sugli esiti osservati. Pertanto, risulta necessario condurre ulteriori ricerche per esplorare più a fondo l'effetto del tipo di gabbia parto sulle performance e sul benessere dei suini svezzati.

Gli autori desiderano esprimere il loro ringraziamento all'Azienda Agricola 'La Grazia' (TV), di proprietà di Rosaria e Loris Scarabello, per la disponibilità delle strutture, degli animali e delle persone, che hanno reso possibile la realizzazione di questo studio.

BIBLIOGRAFIA

1. Andersen I. L., Berg S., Bøe K. E. (2005). "Crushing of piglets by the mother sow (Sus scrofa) - Purely accidental or a poor mother?" Appl. Anim. Behav, 93(3–4), 229–243.
2. Olsson, A.C., Botermans, J., Englund, J.E. (2019) "Piglet mortality – A parallel comparison between loose-housed and temporarily confined farrowing sows in the same herd." Acta Agric. Scand. A Anim. Sci 68(1) 52-62.
3. Skovbo D. K. F., Hales J., Kristensen A. R., Moustsen V. A. (2022) "Comparison of management strategies for confinement of sows around farrowing in Sow Welfare and Piglet protection pens." Livest. Sci. 263, 105026
4. Svendensen, J. (1992) "Perinatal mortality in pigs." Anim. Reprod. Sci. 28 (1-4), 59-67
5. Yun J., Han T., Björkman S., Nystén M., Hasan S., Valros A., Peltoniemi O. (2019). "Factors affecting piglet mortality during the first 24 h after the onset of parturition in large litters: Effects of farrowing housing on behaviour of postpartum sows." Animal, 13(5), 1045–1053.

PREMIO
FORMAZIONE PROFESSIONALE ESTERO 2024

RICONOSCIMENTO MORFOLOGICO E CARATTERIZZAZIONE MEDIANTE METODICHE MOLECOLARI DEL PROTOZOO *BALANTIOIDES COLI* IN SUINI DA INGRASSO ALLEVATI IN NORD ITALIA

MORPHOLOGICAL IDENTIFICATION AND MOLECULAR CHARACTERISATION OF THE PROTOZOAN BALANTIOIDES COLI IN FATTENERS REARED IN NORTHERN ITALY

ALLIEVI C.[1,2], PONCE-GORDO F.[3], VILLA L.[1,2], ZANON A.[1], VALLERI M.[1], ZANZANI S.A.[1,2], MORTARINO M.[1,2], MANFREDI M.T.[1]

[1]Dipartimento di Medicina Veterinaria e Scienze Animali, Università degli Studi di Milano, Via dell'Università, 6, 26900 Lodi, Italia;
[2]Laboratorio di Ricerca di Malattie Parassitarie degli Animali e Zoonosi (ParVetLab), via dell'Università 6, 26900, Lodi, Italia;
[3]Department of Parasitology, Complutense University of Madrid, Plaza Ramón y Cajal S/N, 28040 Madrid, Spain.

Parole chiave: suini da ingrasso; parassita; zoonosi
Keywords: fatteners; parasite; zoonosis

Riassunto
Balantioides coli è l'unico protozoo ciliato di interesse umano e veterinario e colonizza l'intestino crasso di diversi ospiti, tra cui l'uomo e i suini. Considerando la scarsità di dati relativi alla prevalenza e alla caratterizzazione molecolare di questo parassita, lo scopo dello studio è stato quello di indagare la sua circolazione con metodi microscopici e molecolari. Sono stati raccolti 40 campioni fecali da 22 allevamenti suinicoli del nord Italia, per un totale di 880 campioni. Una parte dei campioni è stata congelata a -20 °C per le analisi molecolari, mentre la quantità rimanente è stata utilizzata per ricercare il protozoo mediante le tecniche di sedimentazione e FLOTAC®. Il coefficiente kappa di Cohen è stato calcolato per valutare la concordanza tra questi metodi. Successivamente, è stata eseguita una PCR convenzionale su 22 campioni, uno per ogni azienda, per tracciare le varianti genetiche del protozoo.
813 campioni sono risultati positivi alle cisti di *B. coli* mediante sedimentazione (92,4%), ed è stata evidenziata una moderata concordanza con la tecnica FLOTAC®. Tra i campioni sequenziati, la variante B è stata amplificata in 19 campioni, la variante A in due campioni, mentre entrambe le varianti erano presenti in un campione.
Questo studio ha dimostrato un'elevata prevalenza di *B. coli*; sono necessari ulteriori approfondimenti per tracciarne la distribuzione in altre categorie produttive di suini e nell'uomo, definendo il suo impatto per la salute pubblica.

Abstract
Balantioides coli is the only ciliated protozoan of human and veterinary interest and colonises the large intestine of several hosts, including humans and pigs. Considering the scarcity of data on the prevalence and molecular characterisation of this parasite, the aim of the study was to investigate its circulation using microscopic and molecular methods.
For this purpose, 40 faecal samples were collected from 22 pig farms in northern Italy, for a total of 880 samples. Part of the samples was frozen at -20 °C for molecular analyses,

while the remaining amount was used to search for the protozoan by sedimentation and FLOTAC® techniques. Cohen's kappa coefficient was calculated to assess the concordance between these methods. Subsequently, conventional PCR was performed on 22 samples, one from each farm, to trace the genetic variants of the protozoan.
813 samples were positive for *B. coli* cysts by sedimentation (92.4 %), and a moderate concordance with the FLOTAC® technique was shown. Among the sequenced samples, variant B was amplified in 19 samples, variant A in two samples, while both variants were present in one sample.
This study demonstrated a high prevalence of *B. coli*; further investigation is needed to trace its distribution in other pig production categories and in humans, defining its public health significance.

INTRODUZIONE

In Italia la produzione suinicola è principalmente basata su un sistema di produzione intensivo, quasi sempre confinato in ambienti chiusi. In questo contesto, le malattie di origine parassitaria, sebbene si presentino spesso in forma asintomatica, possono causare una diminuzione del benessere degli animali e un danno economico dovuto al ridotto aumento di peso, all'aumento del consumo di mangime e allo scarto di organi al momento della macellazione (Kipper et al. 2011; Roepstorff et al. 2011).
Diversi enteropatogeni sono condivisi tra l'uomo e i suini; tra questi, *Balantioides coli* potrebbe avere una chiara rilevanza per la salute pubblica e animale. *Balantioides coli* (Phylum Ciliophora) è l'unico ciliato di interesse veterinario, ha un ciclo vitale diretto e si trasmette per via oro-fecale, attraverso cibo o acqua contaminati (Ahmed et al. 2019; Ponce-Gordo e García-Rodríguez 2021).
Nei suini, questo protozoo tende a presentarsi in maniera asintomatica, tuttavia, può essere responsabile di dissenteria, disidratazione e ritardi nella crescita, con conseguenti perdite economiche per l'industria suinicola. I valori di prevalenza dell'infezione nei suini sono simili in tutto il mondo, variando dal 30% al 100% (Schubnell et al. 2016; Dashti et al. 2021; Ponce-Gordo e García-Rodríguez 2021).
Nell'uomo *B. coli* può occasionalmente causare forme cliniche caratterizzate principalmente da sintomi gastrointestinali, ma possono verificarsi anche casi di infezione extraintestinale che coinvolgono il peritoneo, il tratto urogenitale e i polmoni (Maino et al. 2010; da Silva et al. 2021). I principali casi clinici riportati in letteratura riguardano i soggetti immunodepressi e il personale che lavora a stretto contatto con i suini (da Silva et al. 2021). *Balantioides coli* colonizza l'ultimo tratto intestinale, pertanto il consumo di carne cruda o poco cotta potrebbe rappresentare una fonte di infezione per l'uomo nei paesi meno industrializzati, dove episodi di contaminazione della carne e cross contaminazione tra le carcasse potrebbero avvenire durante l'eviscerazione nei macelli a causa di pratiche igieniche inadeguate. Questo protozoo, inoltre, è considerato un parassita di origine idrica ("*waterborne parasite*") che può essere trasmesso attraverso l'acqua di ricreazione (ad esempio, delle piscine) o mediante errori di processo nei servizi idrici (Giarratana et al. 2021).
Attualmente sono disponibili poche informazioni sulla diversità molecolare di *B. coli*; studi recenti hanno evidenziato la presenza di due varianti genetiche principali nei suini, A e B, ma, ad oggi, solo la prima è stata isolata nell'uomo, dimostrando un potenziale zoonotico (Ponce-Gordo et al. 2011).
Considerando la scarsità di dati relativi alla prevalenza e alla caratterizzazione molecolare di questo parassita negli allevamenti suinicoli del nord Italia, l'obiettivo di questo studio è stato quello di indagarne la circolazione utilizzando metodi microscopici che molecolari.

MATERIALI E METODI

Campionamento e raccolta dati

Un totale di 880 campioni fecali è stato raccolto da 22 allevamenti di suini da ingrasso situati nel nord Italia, in un'area compresa tra Lombardia, Piemonte ed Emilia-Romagna. In ogni allevamento sono stati prelevati 20 campioni fecali individuali dall'ampolla rettale di suini apparentemente sani in due diverse sessioni di raccolta. Il primo prelievo (T1) è stato effettuato all'inizio del ciclo di ingrasso, mentre il secondo prelievo (T2) è stato effettuato circa una settimana prima della data di macellazione.

L'analisi copromicroscopica di ciascun campione è stata eseguita nei due giorni immediatamente successivi alla raccolta, mentre un'aliquota di ciascun campione fecale è stata conservata a -20 °C per la successiva analisi molecolare.

Analisi di laboratorio

In primo luogo, la tecnica sedimentazione è stata eseguita su tutti gli 880 campioni fecali e i sedimenti sono stati osservati in una piastra di Petri utilizzando uno stereomicroscopio con un ingrandimento di 50x (Foreyt 2001). Su 440 campioni raccolti nella seconda sessione di campionamento, oltre alla sedimentazione, è stata eseguita anche la flottazione mediante tecnica FLOTAC® utilizzando due diverse soluzioni di flottazione, FS2 (cloruro di sodio, NaCl; peso specifico = 1,200) e FS7 (solfato di zinco, ZnSO4; peso specifico = 1,350) (Cringoli et al. 2010). L'estrazione del DNA è stata effettuata su 22 campioni fecali risultati positivi alla presenza di cisti di *B. coli* (uno per ogni allevamento) utilizzando la tecnica della sedimentazione. Il DNA genomico è stato estratto utilizzando un kit commerciale (QIAamp® Fast DNA Stool Mini Kit, QIAGEN, Hilden, Germania). I campioni di DNA sono stati successivamente sottoposti a una PCR convenzionale amplificando la regione ITS di *B. coli* (Ponce-Gordo et al. 2011). I prodotti di PCR sono stati visualizzati in gel di agarosio all'1%, e quelli che mostravano bande della dimensione prevista, circa 500 bp, sono stati purificati con un kit commerciale (NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up Kit, Macherey-Nagel, Düren, Germania). Quindi, i prodotti di PCR purificati sono stati inviati per il sequenziamento a un servizio commerciale (Microsynth Seqlab, Göttingen, Germania). I cromatogrammi ottenuti sono stati elaborati con il software ChromasPro, e le sequenze sono state confrontate con quelle disponibili nel database GenBank utilizzando l'algoritmo BLASTn. Tutte le sequenze sono state allineate utilizzando l'algoritmo ClustalW implementato in ClustalX 2.1 (Larkin et al. 2007); e l'analisi filogenetica è stata condotta su MEGA-X (Kumar et al. 2018).

Analisi statistica

La prevalenza del parassita in ogni allevamento e per ogni animale campionato è stata calcolata secondo Bush et al. (1997). Inoltre, per i campioni fecali analizzati al T2, è stato calcolato il coefficiente kappa (k) di Cohen per valutare l'accordo tra i metodi copromicroscopici impiegati, e il livello di significatività è stato fissato al 5%. Il coefficiente kappa è stato interpretato secondo Landis e Koch (1977): < 0, accordo scarso; 0-0,20, accordo lieve; 0,21-0,40, accordo discreto; 0,41-0,60, accordo moderato; 0,61-0,80, accordo sostanziale; e 0,81-1,0, accordo quasi perfetto. L'analisi statistica è stata eseguita con il software SPSS (IBM, Chicago, IL, USA).

RISULTATI

813 campioni sono risultati positivi per la presenza di cisti di *B. coli* con la tecnica di sedimentazione, con una prevalenza complessiva di 92,4% (Intervallo di confidenza, IC: 90,4-94%). Nella prima sessione di campionamento, 391 campioni su 440 sono risultati positivi (88,9%, IC: 85,5-91,6%), mentre nella seconda sessione il numero di animali positivi è salito a 422, con una prevalenza di 95,9% (IC: 93,6-97,6%). I 440 campioni fecali raccolti nella

seconda sessione sono stati analizzati anche con la tecnica FLOTAC®: 377 campioni positivi su 440 sono stati identificati (85,7%, CI: 82,1-88,8%) con la soluzione FS7 ($ZnSO_4$), mentre i positivi sono scesi a 39 (8,9%, CI: 6,4-11,9%) con la soluzione FS2 (NaCl) (Tabella 1). La morfologia delle cisti di *B. coli* è rimasta intatta utilizzando la tecnica di sedimentazione e la tecnica FLOTAC® con la soluzione FS2; mentre è stata osservata una certa deformazione nelle cisti ottenute con la tecnica FLOTAC® con la soluzione FS7. Il coefficiente k è risultato statisticamente significativo nel confronto tra la sedimentazione e la tecnica FLOTAC® con l'impiego di solfato di zinco (0,47, *p* value < 0,05). Al contrario, la concordanza è stata lieve tra la sedimentazione e la tecnica FLOTAC® con la soluzione di cloruro di sodio (0,008, *p* value > 0,05) (Tabella 1).

Tabella 1. Prevalenza di *Balantioides coli* nei suini con diverse tecniche copromicroscopiche e concordanza dei risultati mediante il coefficiente kappa (k) di Cohen.
Table 1. Prevalence of *Balantioides coli* in pigs with different copromicroscopic techniques and concordance of results by Cohen's kappa (k) coefficient.

Tecnica	Prevalenza % (95% CI)	Coefficiente k	*p* value
Sedimentazione	95.9% (93.6-97.6)	0.407	0.000*
FLOTAC® con FS7	85.7% (82.1-88.8)		
Sedimentazione	95.9% (93.6-97.6)	0.008	0.0883
FLOTAC® con FS2	8.9% (6.4-11.9)		

Tra i 22 campioni sequenziati, la variante genetica ITS A è stata identificata in 2 campioni e la variante B in 19 campioni, mentre entrambe le varianti erano contemporaneamente espresse in un campione. L'analisi filogenetica ha chiaramente separato le sequenze in due gruppi, uno corrispondente al tipo A e l'altro al tipo B.

DISCUSSIONE

La presente indagine ha analizzato la circolazione di *B. coli* in 22 allevamenti di suini da ingrasso situati nel nord Italia, confrontando due diversi metodi copromicroscopici e tracciando la diversità molecolare di questo parassita.

La prevalenza riportata, pari a 92,4%, è risultata piuttosto elevata, probabilmente a causa del sistema intensivo degli allevamenti selezionati, dove lo stretto contatto tra gli animali all'interno dei recinti e il ridotto accesso all'esterno potrebbero favorire la diffusione di questo protozoo (Giarratana et al. 2021). Inoltre, i valori positivi erano leggermente più alti nella seconda sessione di campionamento; infatti, la prevalenza tende ad aumentare con l'aumentare dell'età degli animali (Hindsbo et al. 2000; Symeonidou et al. 2020). Le prevalenze di infezione riportate in tutto il mondo in animali da ingrasso allevati in sistemi intensivi, variano dal 47,2% al 60,3%, a seconda del metodo diagnostico e della soluzione di flottazione utilizzata (Schubnell et al. 2016; Sangioni et al. 2017; Symeonidou et al. 2020). La tecnica di sedimentazione ha rilevato un numero maggiore di campioni positivi alla presenza di cisti di *B. coli*. Rispetto alla tecnica FLOTAC® con la soluzione di solfato di zinco, è stata dimostrata una moderata concordanza dei risultati; tuttavia, la deformazione della parete delle cisti che si osserva utilizzando questa

soluzione di flottazione potrebbe influenzarne negativamente la sensibilità analitica. Al contrario, impiegando la tecnica di sedimentazione e quella FLOTAC® con la soluzione di cloruro di sodio, la parete è risultata intatta; tuttavia, è stata osservata una leggera concordanza tra i metodi, confermando la bassa sensibilità del cloruro di sodio per il rilevamento di *B. coli* (Cringoli et al. 2010).
Per quanto riguarda la caratterizzazione molecolare, ad oggi, nell'uomo è stata isolata solo la variante genetica A ma non si può escludere l'espressione di altre varianti, dal momento che è stato geneticamente studiato solo un singolo isolato umano e dovrebbero essere analizzati più campioni (Ponce-Gordo et al., 2011; da Silva Barbosa et al. 2017).
Balantioides coli è incluso tra i parassiti di origine alimentare e idrica per i quali è necessario sviluppare linee guida di controllo standardizzate (Bouwknegt et al. 2018). Nei Paesi industrializzati, questo protozoo assume un ruolo zoonotico marginale, in quanto la stabulazione al chiuso dei suini e l'uso di sistemi di contenimento delle deiezioni hanno ulteriormente ridotto il rischio di contaminazione delle acque; sebbene, anche in questi contesti civilizzati si sono verificati casi clinici nell'uomo (Ferry et al. 2004; Maino et al. 2010; Bellanger et al. 2013).
La diffusione di *B. coli* nei suini confinati deve essere quindi controllata monitorando il loro stato di salute e attuando misure igieniche e di biosicurezza durante tutto il ciclo di ingrasso, anche al fine di prevenire le eventuali infezioni per il personale suinicolo.

CONCLUSIONI

Questi risultati forniscono dati attuali sulla circolazione di *B. coli* in diversi allevamenti di suini durante il ciclo di ingrasso e informazioni utili per sviluppare misure di contenimento della diffusione di questo protozoo.
Sono necessari ulteriori studi per determinare la distribuzione del parassita in altre categorie produttive del suino e nell'uomo, associando l'eventuale sintomatologia clinica e correlando il ruolo effettivo dei suini, considerando che una delle principali vie di trasmissione zoonotica è rappresentata dal contatto diretto con le loro feci. Inoltre, dovrebbero essere condotte analisi approfondite per valutare la sopravvivenza delle cisti di *B. coli* nell'ambiente e nelle matrici alimentari e idriche, valutando quindi altre potenziali fonti di infezione.

BIBLIOGRAFIA

1. Ahmed A., Ijaz M., Ayyub R.M., Ghaffar A., Ghauri H.N., Aziz M.U., Ali S., Altaf M., Awais M., Naveed M., Nawab Y., Javed M.U. (2019) *Balantidium coli* in domestic animals: an emerging protozoan pathogen of zoonotic significance. Acta Trop 203:105298.
2. Bellanger A.P., Scherer E., Cazorla A., Grenouillet F. (2013) Dysenteric syndrome due to *Balantidium coli*: a case report. New Microbiol 36:203–205.
3. Bouwknegt M., Devleesschauwer B., Graham H., Robertson L.J., van der Giessen J.W.B., Euro-FBP workshop participants, (2018) Prioritisation of food-borne parasites in Europe, 2016. Euro Surveill 23:1-11.
4. Bush A.O., Lafferty K.D., Lotz J.M., Shostak A.W. (1997) Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. J Para sitol 575–583.
5. Cringoli G., Rinaldi L., Maurelli M.P., Utzinger J. (2010) FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. Nat Protoc 5:503–515.
6. Dashti A., Rivero-Juárez A., Santín M., George N.S., Köster P.C., López-López P., Risalde M.A., García-Bocanegra I., Gómez-Villamandos J.C., Caballero-Gómez J., Frías M., Bailo B., Ortega S., Muadica A.S., Calero-Bernal R., González-Barrio D., Rivero A., Briz V., Carmena D. (2021) Diarrhoea-causing enteric protist species in intensively and

extensively raised pigs (*Sus scrofa domesticus*) in Southern Spain. Part I: Prevalence and genetic diversity. Transbound Emerg Dis 69:e1051–e1064.
7. da Silva B.A., Ponce-Gordo F., Dib L.V., Antunes Uchôa C.M., Bastos O.M.P., Pissinatti A., Amendoeira M.R.R. (2017) First molecular characterization of *Balantioides coli* (Malmsten, 1857) isolates maintained in vitro culture and from feces of captive animals, Rio de Janeiro, Brazil. Vet Parasitol Reg Stud Reports 10:102–113.
8. da Silva R.K.M., Dib L.V., Amendoeira M.R., Class C.C., Pinheiro J.L., Fonseca A.B.M., da Silva B.A. (2021) Balantidiasis in humans: a systematic review and meta-analysis. Acta Trop 223:106069.
9. Ferry T., Bouhour D., De Monbrison F., Laurent F., Dumouchel Champagne H., Picot S., Piens M.A., Granier P. (2004) Severe peritonitis due to *Balantidium coli* acquired in France. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 23:393–395.
10. Foreyt W.J. (2001) Veterinary parasitology reference manual. Blackwell Publishing, Fifth edition, Iowa State University Press, Ames, pp 5–8.
11. Giarratana F., Nalbone L., Napoli E., Lanzo V., Panebianco A. (2021) Prevalence of *Balantidium coli* (Malmsten, 1857) infection in swine reared in South Italy: a widespread neglected zoonosis. Vet World 14:1044–1049.
12. Hindsbo O., Nielsen C.V., Andreassen J., Willingham A.L., Bendixen M., Nielsen M.A., Nielsen N.O. (2000) Age-dependent occurrence of the intestinal ciliate *Balantidium coli* in pigs at a Danish research farm. Acta Vet Scand 41:79–83.
13. Kipper M., Andretta I., Gonzalez Monteiro S., Lovatto P.A., Lehnen C.R. (2011) Meta-analysis of the effects of endoparasites on pig performance. Vet Parasitol 181, 316-320.
14. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. (2018) MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing plat forms. Mol Biol Evol 35:1547–1549.
15. Landis J.R., Koch G.G. (1977) The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics 33:159–174.
16. Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I.M., Wilm A., Lopez R., Thompson J.D., Gibson T.J., Higgins D.G. (2007) Clustal W and Clustal X version 2.0. Bioinformatics 23:2947–2948.
17. Maino A., Garigali G., Grande R., Messa P., Fogazzi G.B. (2010) Urinary balantidiasis: diagnosis at a glance by urine sediment examination. J Nephrol 23:732–737.
18. Ponce-Gordo F., Fonseca-Salamanca F., Martínez-Díaz R.A. (2011) Genetic heterogeneity in internal transcribed spacer genes of *Balantidium coli* (Litostomatea, Ciliophora). Protist 162:774–794.
19. Ponce-Gordo F., García-Rodríguez J.J. (2021) *Balantioides coli*. Res Vet Sci 135:424–431.
20. Roepstorff A., Mejer H., Nejsum P., Thamsborg S.M. (2011) Helminth parasites in pigs: new challenges in pig production and current research highlights. Vet Parasitol 180, 72-81.
21. Sangioni L.A., Botton S.D.A., Ramos F., Cadore G.C., Monteiro S.G., Pereira D.I.B., Vogel F.S.F. (2017) *Balantidium coli* in pigs of distinct animal husbandry categories and different hygienic-sanitary standards in the central Region of Rio Grande do Sul State, Brazil. Acta Sci Vet 45:6.
22. Schubnell F., von Ah S., Graage R., Sydler T., Sidler X., Hadorn D., Basso W. (2016) Occurrence, clinical involvement and zoonotic potential of endoparasites infecting Swiss pigs. Parasitol Int 65:618–624.
23. Symeonidou I., Tassis P., Gelasakis A.I., Tzika E.D., Papadopoulos E. (2020) Prevalence and risk factors of intestinal parasite infections in Greek swine farrow-to-finish farms. Pathogens 9:556.

Aggiungi il ***C. difficile*** e il ***C. perfringens*** tipo A alla tua protezione!

HIPRA

HIPRA ITALIA · Via Enrico Mattei, 25030 Coccaglio (BS) Italia
Tel.: (+39) 030 7241821 · Fax: (+39) 030 7700881 · italia@hipra.com · www.hipra.com

Le turbe digestivi e la salute dell'intestino sono i fattori di maggiore impatto che i produttori di carne suina devono affrontare.

Kemin fornisce un approccio completo per migliorare il benessere intestinale dei suini rafforzandone l'integrità, con un sano equilibrio microbico e sostenendo le funzioni immunitarie. Aiutiamo i nostri partner nel cambiare il modo in cui affrontare la salute intestinale, mediante il nostro programma **Kemin Gut Health Solutions**.

Per maggiori informazioni:
Kemin Italia | 0376 302570
kemin.italia@kemin.com

Scopri di più:
kemin.com/pigs

KEMIN®
Compelled by Curiosity™

© Kemin Industries, Inc. and its group of companies 2025. All rights reserved. ®,™ Trademarks of Kemin Industries, Inc., U.S.A.
Certain statements, product labeling and claims may differ by geography or as required by government requirements.

kersia®
INVENTING A **FOOD SAFE WORLD**

PESTE SUINA?
FERMALA IN 1 MINUTO!

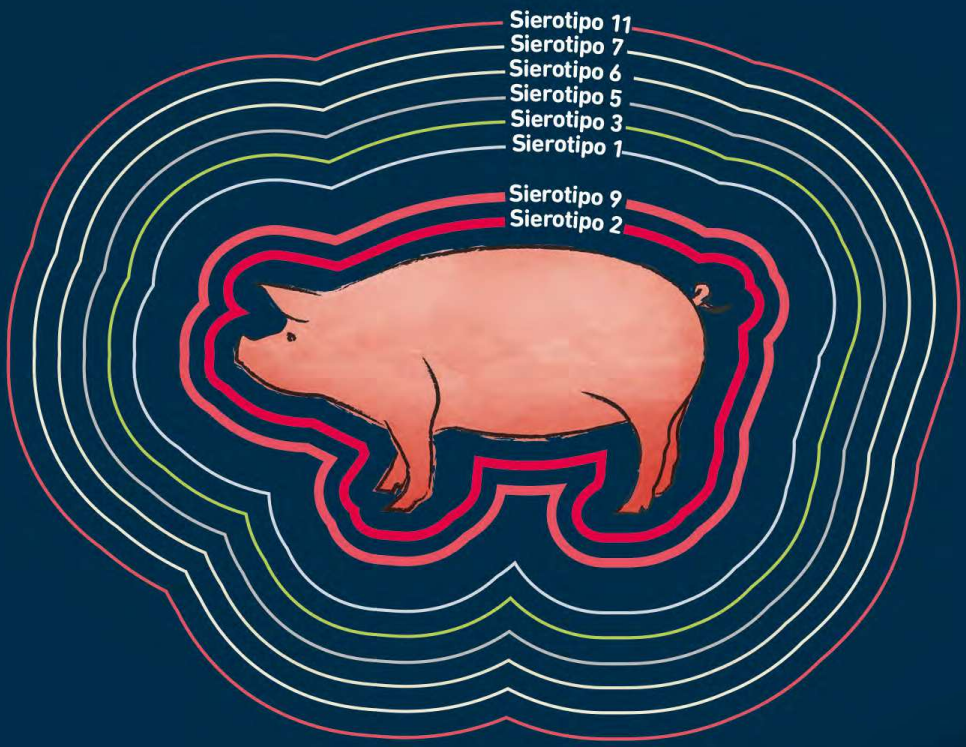
Grazie alla sua doppia azione rapida e non corrosiva, **Fumagri Effisafe agisce in soli 60 secondi** contro virus, batteri, lieviti, funghi e micobatteri

Proteggi ora il tuo allevamento!

Presidio medico chirurgico aut. min. 20646

Per maggiori informazioni contattaci al 0373 501273 o manda una mail a sales.it@kersia-group.com
Via IV Novembre, 56 - 26013 Crema (CR)

LIVISTO



SUIVAC APP

NUOVA DEFINIZIONE DI PROTEZIONE A 360°

Emulsione iniettabile per suini

Specie di destinazione
Suini (suinetti, scrofe e scrofette).

Indicazioni
Immunizzazione attiva dei suini a partire da sei settimane di età per la riduzione della mortalità, dei sintomi clinici e delle lesioni polmonari causate dalle infezioni da Actinobacillus pleuropneumoniae, sierotipi 2 e 9.

Natura e composizione del confezionamento primario Flaconcino da 100 ml (50 dosi)
A.I.C. n. 105026025.

Along with you

livisto.com

Swine Protect & Connect

Porcilis®

Proteggi i tuoi maiali per 4 malattie con un unica vaccinazione

Nuovo **Porcilis® PCV M Hyo ID** - il nostro nuovissimo vaccino combinato RTU da somministrare per via intradermica tramite il dispositivo IDAL®.

Protegge i tuoi animali dal Circovirus suino di tipo 2 (PCV2) e dal *Mycoplasma hyopneumoniae* (*M. hyo*).

Miscelabile con Porcilis® Lawsonia ID e utilizzabile in modo concomitante con Porcilis® PRRS.

Per approfondimenti visita il nostro Total Pig Health website.

Copyright © 2024 Merck & Co., Inc., Rahway, NJ, USA and its affiliates. All rights reserved. GL-IDA-241100009

MSD Animal Health

JRS Fibers for Life.

Effetti e benefici nell'alimentazione dei suini

Con le fibre funzionali JRS

BU LIVESTOCK APPLICATIONS

JRS RETTENMAIER ITALIA
Via Brescia, 37/A | 25014 Castenedolo (BS) Italy
030 7870410 | info@jrsitalia.com

www.jrsitalia.com

I RISCHI CAMBIANO...

...E COSÌ DOVREBBE FARE LA TUA PROTEZIONE

Il circovirus suino tipo 2 (PCV2) cambia rapidamente.
Proteggi i tuoi suinetti con
I PRIMI E UNICI VACCINI IN EUROPA CON DUE GENOTIPI

CircoMax® MYCO

CircoMax®

1° VACCINO in EUROPA CONTENENTE DUE GENOTIPI di PCV2 PER SUINI

CircoMax® Myco

CircoMax®

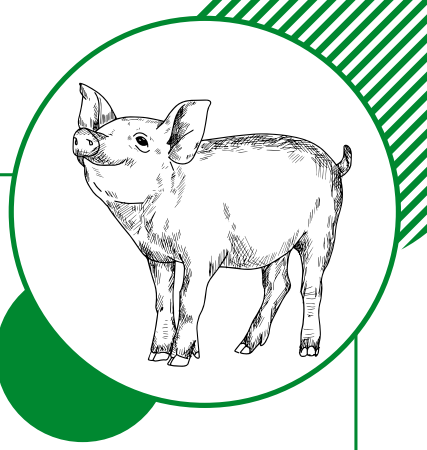
Per maggiorni informazioni consultare il foglietto illustrativo o il RCP. Parlane con il tuo veterinario.

ADATTATI AL CAMBIAMENTO

Materale riservato agli allevatori professionisti e ai medici veterinari

Zoetis Italia srl Via Andrea Doria 41 M 00192 Roma **www.zoetis.it**

zoetis



Le iniziative promosse
ed organizzate da SIPAS per il 2025
si svolgono con il contributo
non condizionante di:

bin98

Boehringer Ingelheim

Ceva

chemifarma
INDUSTRIA FARMACEUTICA VETERINARIA

Dopharma

dsm-firmenich

Elanco

LA SALUTE ANIMALE PER LA SALUTE DELL'UOMO
FATRO

HIPRA

KEMIN
Compelled by Curiosity™

kersia
INVENTING A FOOD SAFE WORLD

LIVISTO
Along with you

MSD
Animal Health

JRS
Fibers for Life.

zoetis