

# PROBOV

## VALUTAZIONE DELL'IMPATTO AMBIENTALE

Inizialmente è stato condotto uno studio preliminare che ha permesso di stabilire il numero di ceppi statisticamente significativo per definire la situazione delle farmacoresistenze su popolazioni di *Escherichia coli* ed *Enterococcus spp*, specie microbiche indicatrici del fenomeno dall'European Food Safety Authority (EFSA). Tale studio preliminare ha permesso di definire la numerosità campionaria per ciascuna categoria animale presente in azienda.

Successivamente sono stati raccolti campioni di feci da ampolla rettale per l'isolamento dei ceppi indicati nella tabella successiva e per le analisi su base genetica delle resistenze.

Tipologia	Sigla	Numero di campioni fecali da prelevare	
		<150 capi	>150 capi
Vacca da latte <sup>1</sup>	VL	15	20
Vacca in asciutta	VA	5	7
Manza <sup>2</sup>	M	5	7
Vitelli <sup>3</sup>	V	Tutti	

### *Numerosità campionaria per categoria produttiva, in base alla numerosità in azienda*

La valutazione su base fenotipica è stata eseguita impiegando test di microdiluizione in brodo al fine di determinare la minima concentrazione inibente (MIC) di ciascun principio attivo. In totale sono stati testati 935 ceppi: 620 *Escherichia coli* e 315 *Enterococcus spp*.

I risultati fenotipici hanno dimostrato come il livello di antibiotico resistenza negli allevamenti di bovine da latte testati sia molto basso nei confronti di molecole ritenute critiche per la terapia nell'uomo quali cefalosporine, fluorochinoloni e macrolidi, in particolare nei soggetti in produzione. La categoria che ospita il maggior numero di ceppi *not-wild* (resistenti) è risultata quella dei vitelli. L'origine di tale fenomeno potrebbe trovare spiegazione in errate pratiche terapeutiche e manageriali in una categoria di animali che dovrebbe essere considerata come la futura forza produttiva, ma che di fatto non viene percepita come tale.



FEASR

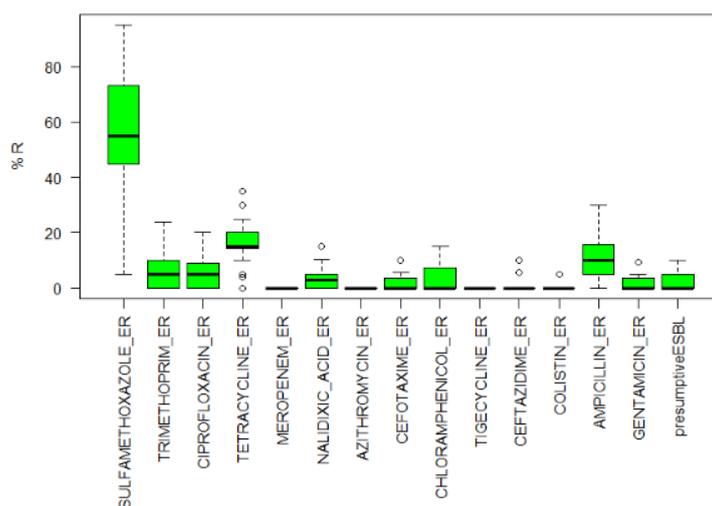


REGIONE DEL VENETO

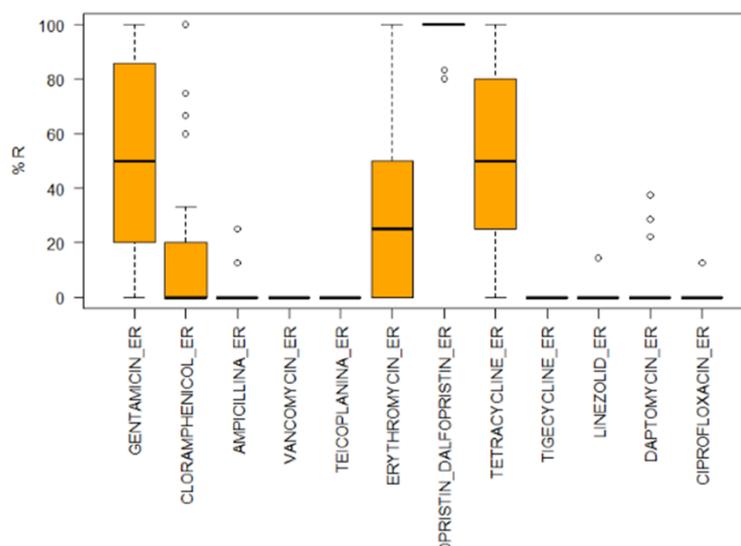


PSR  
VENETO  
2014-2020

I risultati delle analisi fenotipiche sono riassunti nei grafici di seguito riportati.



**Distribuzione percentuale delle resistenze di *E. coli* alle varie molecole testate.**



**Distribuzione percentuale delle resistenze di *E. faecalis* alle varie molecole testate**



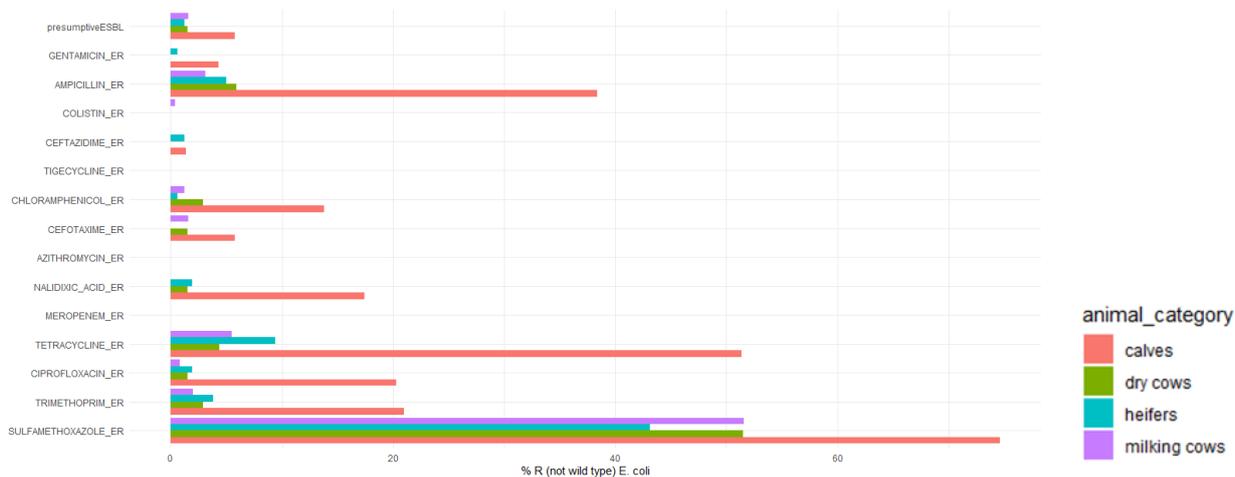
FEASR



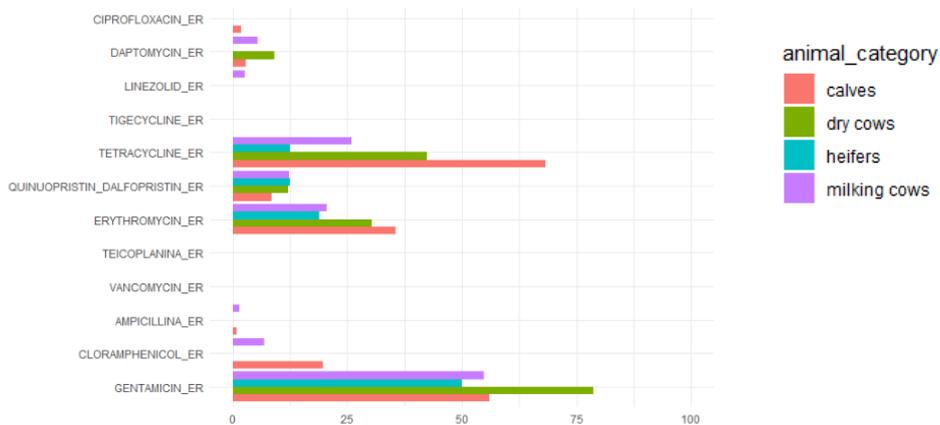
REGIONE DEL VENETO



PSR  
VENETO  
2014-2020



**Percentuale di ceppi di *E. coli* resistenti distribuiti per categoria produttiva.**



**Percentuale di ceppi di *Enterococcus spp.* resistenti distribuiti per categoria produttiva**



FEASR



REGIONE DEL VENETO



PSR  
VENETO  
2014-2020

Nel corso dell'ultimo anno del progetto è stata fatta nuovamente una valutazione delle farmacoresistenze negli allevamenti in cui sono state intraprese delle azioni di miglioramento. I risultati comparativi delle MIC50 e MIC90 registrate in tali allevamenti sono riassunti nelle tabelle riportate di seguito.

azienda	campionamento	AMIKACINA	AMPICILLINA	AZITROMICINA	CEFOTAXIME	CEFTAZIDIME	CLORAMFENICOLOR	CIPROFLOXACINA	COLISTINA	GENTAMICINA	MEROPENEM	ACIDO NALIDISSICO	SULFAMETOXAZOLO	TETRACICLINA	TIGECICLINA	TRIMETHOPRIM
A	1	<4	4	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	>512	<2	<0,25	0,5
	2	<4	4	4	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	512	<2	<0,25	<0,25
B	1	-	2	4	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	32	<2	<0,25	<0,25
	2	<4	4	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	>512	<2	<0,25	<0,25
C	1	<4	4	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	64	<2	<0,25	<0,25
	2	<4	2	4	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	64	<2	<0,25	<0,25
D	1	-	2	4	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	64	<2	<0,25	<0,25
	2	<4	4	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	512	<2	<0,25	<0,25
E	1	-	4	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	>512	<2	<0,25	<0,25
	2	<4	2	4	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	>512	<2	<0,25	<0,25
F	1	-	4	4	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	64	<2	<0,25	<0,25
	2	<4	2	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	>512	<2	<0,25	<0,25
G	1	<4	2	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	64	<2	<0,25	<0,25
	2	<4	2	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	>512	<2	<0,25	<0,25
H	1	<4	2	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	32	<2	<0,25	<0,25
	2	<4	2	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	>512	<2	<0,25	<0,25
I	1	<4	2	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	>512	<2	<0,25	0,5
	2	<4	4	4	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	>512	<2	<0,25	<0,25
J	1	<4	4	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	1	<0,03	<4	32	<2	<0,25	<0,25
	2	<4	2	4	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	512	<2	<0,25	0,25

**MIC50 degli antibiotici testati su ceppi di E. coli isolati nei due campionamenti**



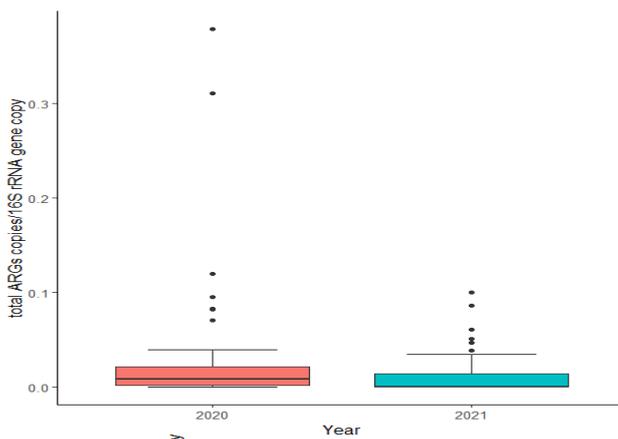
azienda	campionamento	AMIKACINA	AMPICILLINA	AZITROMICINA	CEFOTAXIME	CEFTAZIDIME	CLORAMFENICOLO	CIPROFLOXACINA	COLISTINA	GENTAMICINA	MEROPENEM	ACIDO NALIDISSICO	SULFAMETOXAZOLO	TETRACICLINA	TIGECICLINA	TRIMETHOPRIM
A	1	<4	16	8	<0,25	0,5	<8	0,03	<1	1	<0,03	<4	>512	32	<0,25	0,5
	2	<4	4	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	1	<0,03	<4	>512	>32	<0,25	0,5
B	1	-	4	8	<0,25	0,5	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	64	<2	<0,25	0,5
	2	<4	>32	8	<0,25	0,5	>64	<0,015	<1	1	<0,03	<4	>512	>32	0,5	0,5
C	1	<4	>32	16	<0,25	0,25	<8	0,03	<1	1	<0,03	<4	>512	>32	<0,25	0,5
	2	<4	4	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	1	<0,03	<4	>512	>32	<0,25	>16
D	1	-	>32	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	>512	>32	<0,25	>16
	2	<4	4	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	1	<0,03	<4	>512	>32	<0,25	0,5
E	1	-	4	8	<0,25	0,25	<8	0,03	<1	1	<0,03	<4	>512	>32	<0,25	0,5
	2	<4	4	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	1	<0,03	<4	>512	<2	<0,25	0,5
F	1	-	>32	8	<0,25	0,5	<8	<0,015	<1	<0,5	<0,03	<4	>512	>32	<0,25	>16
	2	<4	4	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	2	<0,03	<4	>512	>32	<0,25	0,5
G	1	<4	>32	8	<0,25	0,5	>64	0,5	<1	1	<0,03	8	>512	>32	<0,25	0,5
	2	<4	>32	8	<0,25	0,25	<8	0,03	<1	1	<0,03	<4	>512	<2	<0,25	0,5
H	1	<4	>32	16	<0,25	0,25	<8	0,03	<1	1	<0,03	<4	512	>32	<0,25	>16
	2	<4	4	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	1	<0,03	<4	>512	<2	<0,25	0,5
I	1	<4	4	8	<0,25	0,5	<8	<0,015	<1	1	<0,03	<4	>512	>32	<0,25	0,5
	2	<4	4	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	1	<0,03	<4	>512	>32	<0,25	0,5
J	1	<4	>32	8	<0,25	0,25	>64	>8	<1	1	<0,03	>64	>512	>32	<0,25	>16
	2	<4	4	8	<0,25	0,25	<8	<0,015	<1	1	<0,03	<4	>512	<2	<0,25	0,5

### **MIC90 degli antibiotici testati sui ceppi di *E. coli* isolati nei due campionamenti**

La comparazione tra i valori di MIC50 e MIC90 è stata eseguita solo per *E. coli* in quanto non è stato possibile isolare una quantità sufficiente di *Enterococcus* spp. nel corso del secondo campionamento. L'analisi delle MIC90 per ampicillina ha evidenziato un miglioramento del valore (diminuzione della MIC90 tra il primo e il secondo campionamento) in 6/10 aziende, invariata in 3/10 e peggiorata in 1/10. Tale molecola riveste un ruolo importante nella terapia di molteplici patologie della specie bovine e un marker della sensibilità ai beta-lattamici. Il risultato è incoraggiante in quanto lascia ritenere che comportamenti virtuosi e buone pratiche di allevamento potrebbero riportare alcune molecole ad acquisire efficacia nei confronti anche di microrganismi patogeni.



Dal punto di vista genotipico i risultati sono schematizzati di seguito.



**Confronto abbondanze ARGs tra l'anno 2021 e 2022 sul totale dei geni**

Il confronto tra il carico di ARGs (Antimicrobial Resistance Genes) nei due anni di monitoraggio ha evidenziato che le attività di sensibilizzazione e la modifica delle pratiche di management suggerite nel corso del progetto (prudente uso del farmaco, asciutta selettiva, controllo dell'alimentazione delle prime fasi di vita) sono state efficaci. Si è infatti assistito ad una riduzione del carico totale di ARGs di 1 ordine di grandezza nella media delle aziende prese in considerazione. Questo risultato permette di ipotizzare che campagne di sensibilizzazione e di informazione rivolte alle categorie degli allevatori e dei veterinari aziendali possano esitare in una riduzione dell'impatto degli allevamenti sull'ambiente in termini di diffusione di ARGs, a vantaggio della qualità delle produzioni e della salute globale in un'ottica One Health.



FEASR



REGIONE DEL VENETO



PSR  
VENETO  
2014-2020

## PRODUZIONE SCIENTIFICA DERIVATA DAL PROGETTO

- Cornaggia M., Genovese S., Bertazzo V., Capello K., Zarpellon G., Ferro T., Cestaro L., Severi G., Stefani A., Bano L. Evaluation of the cell-mediated immune response of dairy cattle vaccinated with an autogenous vaccine against mastitis sustained by *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. Pg. 279. Proceeding of the 31<sup>st</sup> World Buiatric Congress, 4-8 settembre, Madrid.
- Cornaggia M., Mazzolini E., Palazzolo L., Cordioli B., Rizzardi A., Bottin S., Zarpellon G., Guolo A., Ferro T., Bacchin C., Bano L. Antimicrobials resistance in *Escherichia coli* and *Enterococcus faecalis* commensal bacteria in north-eastern Italian dairy farms. Pg. 341. Proceeding of the 31<sup>st</sup> World Buiatric Congress, 4-8 settembre, Madrid.
- Cornaggia M., Dalla Riva M., Bano L., Finco E. (2022) Antibiotico-resistenza: situazione sotto controllo ma.... *Stalle da Latte* 2(2):46-49.
- Salerno B., Cornaggia M., Sabatino R., Di Cesare A., Furlan M., Barco L., Orsini M., Cordioli B., Mantovani C., Bano, L., Losasso C. (2022) Calves as Main Reservoir of Antibiotic Resistance Genes in Dairy Farms. *Front.Public.Health.* 10:918658.
- Cornaggia M., Genovese S., Bertazzo V., Capello K., Zarpellon G., Ferro T., Cestaro L., Severi G., Stefani A., Bano L. (2021) Effectiveness of autogenous vaccine against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* mastitis in cattle. *Virtual Edition*, 19-21 maggio 2021.



FEASR



REGIONE DEL VENETO



PSR  
VENETO  
2014-2020



FEASR



REGIONE DEL VENETO



FONDO EUROPEO AGRICOLO PER LO SVILUPPO RURALE: L'EUROPA INVESTE NELLE ZONE RURALI



FEASR



REGIONE DEL VENETO



FONDO EUROPEO AGRICOLO PER LO SVILUPPO RURALE: L'EUROPA INVESTE NELLE ZONE RURALI



FEASR



REGIONE DEL VENETO



FONDO EUROPEO AGRICOLO PER LO SVILUPPO RURALE: L'EUROPA INVESTE NELLE ZONE RURALI