

EDITORIAL BOARD

Aniello Anastasio (UNINA)

Luigi Avallane (UNINA)

Stefano Biffani (AIA)

Pio Leonardo Mario Bitti (AIA)

Giuseppe Campanile (UNINA)

Santo Caracappa (IZSPA)

Stefania Carpino (ICQRF-MIPAF - Lab Perugia)

Biagina Chiofalo (UNIME)

Vincenzo Chiofalo (UNIME)

Salvatore Claps (CREA)

Natascia Cocchia (UNINA)

Paolo De Girolamo (UNINA)

Giovanni Filippini (IZSUM)

Salvatore Florio (UNINA)

Giovanna Fusco (IZSM)

Annunziata Giangaspero (UNIFG)

Giuseppe Iovane (UNINA)

Francesco Lamagna (UNINA)

Maria Teresa Manfredi (UNIMI)

Nicola Mirabella (UNINA)

Giuseppe Moniello (UNISS)

Valeria Maria Morittu (UNICZ)

Riccardo Negrini (AIA)

Gaetano Oliva (UNINA)

Giulio Pagnacco (UNIMI)

Ugo Pagnini (UNINA)

Serenella Papparella (UNINA)

Laura Rinaldi (UNINA)

Remo Rosati (IZSLTI)

Luca Rossi (UNITO)

Antonio Scala (UNISS)

Lucia Sepe (CREA)

Massimo Trabalza Marinucci (UNIPG)

Fabrizia Veronesi (UNIPG)

24

MAPPE PARASSITOLOGICHE



**Società Italiana di Patologia ed
Allevamento degli Ovini e dei Caprini**

XXIII Congresso Nazionale

Centro Congressi Federico II
Napoli 12-14 settembre 2018

Edited by

Antonio Bosco
Nadia Musco
Maria Paola Maurelli
Federico Infascelli

Series Editor - Giuseppe Cringoli

Serie Editoriale
Mappe Parassitologiche

Series Editor
Giuseppe Cringoli
Copyright© 2018 by Giuseppe Cringoli

Volume 24 - XXIII Congresso Nazionale
Società Italiana di Patologia ed Allevamento degli Ovini e dei Caprini
Napoli 12-14 settembre 2018
Edited by Antonio Bosco, Nadia Musco, Maria Paola Maurelli, Federico Infascelli

Registered office
Departement of Veterinary Medicine and Animal Production, University of Naples Federico II
Via della Veterinaria, 1 80137 Naples - Italy
Tel +39 081 2536283
E-mail: cringoli@unina.it
Website: www.parassitologia.unina.it

CREMOPAR Centro Regionale per il Monitoraggio delle Parassitosi
Località Borgo Cioffi - Eboli (Sa) - Tel./Fax +39 0828 347149
E-mail: cremopar@unina.it
Website: www.cremopar.unina.it

Desktop publishing by Goldgraphic - www.goldgraphic.com

In copertina: Arte presepiale napoletana - Giuseppe Ercolano

All rights reserved - printed in Italy

No part of this publication may be reproduced in any form or by any means, electronically, mechanically, by photocopying, recording or otherwise, without the prior permission of the copyright owner.

The individual authors take responsibility for linguistic quality of the articles and presentations.

Segreteria Organizzativa

Kassiopea
group

Via Stamira, 10 - 09134 Cagliari
Tel. 070 651242 Fax 070 656263
domizianamessina@kassiopeagroup.com - www.kassiopeagroup.com

ISBN 978-88-909777-2-5



Società Italiana di Patologia ed
Allevamento degli Ovini e dei Caprini



Università degli Studi di Napoli
Federico II



Con il contributo di



Ordine dei Medici Veterinari della Provincia di Avellino
Ordine dei Medici Veterinari della Provincia di Benevento
Ordine dei Medici Veterinari della Provincia di Caserta
Ordine dei Medici Veterinari della Provincia di Napoli
Ordine dei Medici Veterinari della Provincia di Salerno

Associazione Regionale Allevatori Campania
Associazione Regionale Allevatori Basilicata
Associazione Regionale Allevatori Calabria

A.I.A. – Associazione Italiana Allevatori
ASSONAPA - Associazione Nazionale della Pastorizia

CONTENTS

Nota Editoriale

Consiglio Direttivo S.I.P.A.O.C.

Comitato Organizzatore

Tavola Sinottica

Programma

Informazioni

I segreti delle pecore

Ritorno sui Monti Naviganti

KEYNOTE

CARTA A - Il Programma Europeo SHEEPNET: condivisione di competenze ed esperienze sulla produttività degli ovini attraverso la costituzione di una rete di lavoro	3
COLLI L, DE NARDO F, BIGI D, VAJANA E, EUFEMI E, RUSSO IM, OROZCO TER WENGEL P, CREPALDI P, JOOST S, BRUFORD MW, AJMONE-MARSAN P, THE CLIMGEN CONSORTIUM - Caratterizzazione molecolare della biodiversità di tre razze caprine della Calabria tramite un pannello di marcatori SNP a media densità	5
GENCHI M, VISMARRA V, KRAMER L - <i>Toxoplasma gondii</i> : parassita di moda o problema reale?	7
GIANGASPERO A, GAGLIO G, BRIANTI E - <i>Wohlfahrtia magnifica</i> : una minaccia silenziosa	9
IOVANE G - Antimicrobico resistenza e il mondo allevatoriale	11
POGLAYEN G, FANTASIA L, ROCCARO M, ORSONI F, PELI A, MORANDI B - L'allevatore risponde: il cane e i suoi parassiti	13
SAVOINI G, FARINA G, AGAZZI A, INVERNIZZI G - Utilizzo di grassi nella dieta nella capra da latte: metabolismo e stato di salute	15

COMUNICAZIONI ORALI

ABBATE Y, D'AVINO N, DE FERRARI P, FELICI A, GOBBI M, PAOLUZZI O, TENTELLINI M, MONDIN P, DUCQUESNE B - Efficacia della paromomicina per la prevenzione e il trattamento della criptosporidiosi negli agnelli	21
ABBATE Y, FELICI A, FORTE C, DALMONTE G, D'AVINO N, GOBBI M, PESCA C, CONSALVI F, PEZZOTTI G, FILIPPINI G - La Misura 14 in Umbria come strumento capillare per la determinazione e la gestione delle parassitosi su tutto il territorio regionale	23
ALBARELLA S, D'ANZA E, GALDIERO G, CAPEZZONE C, CIOTOLA F, PERETTI V - Studi citogenetici in pecore con anomalie congenite dell'apparato riproduttore	25
ANNICCHIARICO G, MORONE G, SEPE L, ROSSI R, CLAPS S - L'analisi strumentale (E-nose) come mezzo per la valutazione dello stadio di stagionatura di formaggio di capra tipo caciotta	27
ARGIOLAS G - Pratiche innovative per la gestione della riproduzione: esempi dal progetto SHEEPNET	29
ARIANO A, COSTAGLIOLA A, DI FRANCESCO G, SALUCCI S, PIETROBATTISTA L, PACIELLO O, SEVERINO L - Case report: <i>Spartium junceum</i> L. poisoning in small ruminant	31
BRANCIARI R, GALARINI R, ACUTI G, RANUCCI D, VALIANI A, SERVILI M, PAUSELLI M, GIUSEPPONI D, TRABALZA MARINUCCI M - L'integrazione della dieta con concentrato fenolico da acque di vegetazione aumenta il contenuto in composti bioattivi e migliora lo stato ossidativo del latte ovino	33
CARDILLO L, PAGNINI U, MONTAGNARO S, IOVANE V - Studio sieroepidemiologico sulla prevalenza della paratubercolosi nella specie ovicaprina in Basilicata	35
CASTAGNA F, MUSELLA V, CRINGOLI G, BOSCO A, NISTICÒ N, CALIGIURI G, PALMA E, BRITTI D - Utilizzo di un mangime complementare liquido naturale per il controllo delle strongilosi gastrointestinali negli ovini: efficacia e benefici per gli animali	37
CECCHI F, DADOUSIS C, BOZZI R, FRATINI F, RUSSO C, BANDECCHI P, CANTILE C, MAZZEI M - Identificazione di geni candidati per la resistenza alle infezioni da Lentivirus nella capra di razza Garfagnina	39
CECCOBELLI S, COSTANZA MT, LASAGNA E, PIERAMATI C, SARTI FM, ITALIAN GOAT CONSORTIUM - Variabilità genetica di otto popolazioni caprine dell'Italia centrale valutata tramite un chip SNP a media densità	41
CRUCIANI D, PAVONE S, GOBBI P, GOBBI M, PAPA P, FIORUCCI A, BENDA S, ANTENUCCI P, CROTTI S, PESCA C - Risultati preliminari del progetto Ovimyco: Micoplasmi e altri agenti patogeni negli allevamenti ovini e caprini	43
DE BIASE D, PIEGARI G, PRISCO F, BOSCO A, GENOVESE A, CRINGOLI G, PACIELLO O - Studio delle patologie tiroidee nella pecora in aree contaminate	45
DE FELICE A, CALIGIURI V, VITALE V, OTTAIANO M, GALIERO G, BALDI L - Blue tongue: cambiamenti epidemiologici in Campania negli anni 2014-2018	47
DI GERLANDO R, SUTERA AM, SARDINA MT, TOLONE M, PORTOLANO B, MASTRANGELO S - Studio di associazione genome-wide tra CNV e parametri qualitativi del latte nella razza ovina Valle del Belice	49

DE GROSSI L, SANTORI D, BARONE A, ABBRUZZESE S, RICCHI M, MARCARIO GA - Isolamento di <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>Paratuberculosis</i> da feci e tessuti di piccoli ruminanti utilizzando un metodo colturale liquido non automatizzato	51
FAVOLE A, MAZZA M, VALLINO COSTASSA E, D'ANGELO A, MARTINELLI N, LOMBARDI G, MARCONI P, GALLO M, ACUTIS P, CARAMELLI M, CASALONE C, CORONA C - Rilevamento Precoce e Pre-clinico della Proteina Prionica Patologica nel liquido cerebrospinale caprino meditante Real-Time Quaking-Induced Conversion assay	53
GAFFURI A, ANGELUCCI A, LORENZI V, FUSI F, BERTOCCHI EL - Benessere e biosicurezza nelle capre da latte: il metodo di valutazione del Centro di Referenza Nazionale per il Benessere Animale	55
GAMBINO D, VICARI D, CRUCITTI D, PERSICETTI MF, CARACAPPA G, SCHIRÒ G, GENTILE A, CARACAPPA S - Mastiti da <i>Staphylococcus intermedius</i> in allevamenti ovini siciliani	57
GAZZONIS AL, ZANZANI SA, VILLA L, VILLA M, MANFREDI MT - <i>Toxoplasma gondii</i> in un allevamento di capre da latte naturalmente infetto: andamento degli anticorpi e del DNA del protozoo nel latte	59
GIANGOLINI G, MARRI N, PATRIARCA D, PIETRINI P, BOSELLI C, SAGRAFOLI D, FILIPPETTI F, AMATISTE S - Formaggio a latte pastorizzato ovino: indagini microbiologiche durante le diverse fasi del processo produttivo	61
LAI F, SIOUTAS D, RUBATTU R, SPANU G, FENU A, MAZZA A, CANNAS A - Utilizzo di diverse fonti di carboidrati nell'alimentazione di pecore in lattazione al pascolo	63
LIA RP, DANTAS-TORRES F, OTRANTO D - Parasitology Summer Course (ParSCo): un'esperienza internazionale in Basilicata	65
MANFREDI MT, ZANZANI SA, GAZZONIS AL, GAETI B, VILLA L - Infestazione da <i>Ixodes ricinus</i> (Ixodidae) in capre in un'area prealpina	67
MAROGNA G, MANCA MG, CILLARA G, ROSANM, LONGHEU C, SCHIANCHI G, TOLA S - Produzione in capra di sieri iperimmuni nei confronti di proteine immunogeniche di <i>Mycoplasma mycoides</i> subsp. <i>capri</i>	69
MASTRANGELO S, SOTTILE G, SUTERA AM, DI GERLANDO R, TOLONE M, MOSCARELLI A, SARDINA MT, PORTOLANO B - Studio di associazione genome-wide per l'identificazione del locus responsabile della <i>microtia</i> nella razza ovina Valle del Belice	71
PALMERI M, MANCUSO I, ARCURI L, GIANGOLINI G, DARA S, SCATASSA ML - Parametri igienico-sanitari del latte e valutazione del benessere animale negli allevamenti ovini siciliani	73
PERSICETTI MF, TORINA A, DE MARIA C, MARINO F, CARACAPPA G, LA RUSSA F, BLANDA V, AUTERI M, CARACAPPA S - Indagine sui patogeni trasmessi da vettore in capre girgentane siciliane: dati preliminari	75
PESCA C, CRUCIANI D, FELICI A, ABBATE Y, SEBASTIANI C, CROTTI S - <i>Dichelobacter nodosus</i> in Italia: ceppo benigno o ceppo virulento?	77
PESCA C, FORTI K, ANZALONE L, D'AVINO N, DI PAOLO A, FELICI A, FILIPPINI G, SCOCCIA E, MUNTONI S, ANTENUCCI P, CAO F, SALIS F, CROTTI S - Valutazione della risposta immunitaria per <i>Mannheimia haemolytica</i> in agnelli provenienti da allevamenti ovini italiani	79
PIEGARI G, DE BIASE D, PRISCO F, AMBROSIO N, SPADA A, PACIELLO O - Approccio forense ai casi di predazione in pecore e capre	81

PITTAU D, SPANU C, SCARANO C, BANNI S, DELMONTE P, DE SANTIS EPL, DE RIU N, SEDDA P, MURA E, MONIELLO G - Composizione acidica del grasso del latte di capre primipare di razza Sarda e Maltese tenute nelle stesse condizioni di allevamento semi-estensivo	83
PRISCO F, PAGANO TB, MAURELLI MP, RINALDI L, PAPPARELLA S, PACIELLO O - Miosite linfoplasmocitica associata a sarcocistosi ed espressione del complesso maggiore d'istocompatibilità di classe I e II (MHC I e II) negli ovini	85
RAPETTI L, COLOMBINI S, VANETTI C, ROTA GRAZIOSI A, MALAGUTTI L - Effetto della sostituzione nella dieta della farina di estrazione di soia con farina di mais sulla produzione di latte caprino	87
RUSSO C, SCAMPUDDU N, GIULIOTTI L, BENVENUTI N, CECCHI F - La predazione da lupo nel grossetano: analisi dei dati dell'ultimo decennio	89
SANGRALI M, MIDULLA L, PRIN ABEIL M, BERETTA M, BARAZZUOL F, SARALE A - Gestione dell'asciutta negli allevamenti caprini: studio su 5 stalle del Piemonte	91
SCALA A, TAMPONI C, PIPIA AP, ANTENUCCI P, MUNTONI S, DESSI G, CARTA S, SEDDA GP, VARCASIA A - Rivalutazione dell'efficacia di una formulazione orale a base di Fenbendazolo nei confronti dei Nematodi Gastrointestinali degli ovini in Sardegna	93
SCALA A, TAMPONI C, PIPIA AP, MUNTONI S, DESSI G, CARTA S, SEDDA GP, EPIFANI GP, LAI MG, TILOCCA L, ANTENUCCI P, VARCASIA A - Endoparassitosi negli ovini in Sardegna: risultati dell'attività diagnostica copromicroscopica svolta nel biennio 2016-2017	95
SCOCCO P, MERCATI F, DALL'AGLIO C, RIVAROLI S, MALFATTI A, TRABALZA MARINUCCI M, DE FELICE E, CANAVARI M - Azioni di sostegno al reddito delle aziende che utilizzano i pascoli naturali appenninici, in vista del decremento del valore pastorale legato alla crescente aridità estiva	97
SORBOLINI S, CESARANI A, GASPA G, USALA M, PEANA I, FOIS G, MACCIOTTA NPP - Studio dell'effetto dell'ambiente sul genoma delle pecore di razza sarda con un approccio di <i>landscape genomics</i>	99
SPEZZIGU A, MELE C, SOTGIU F - Valutazione degli arieti riproduttori: standard di visita andrologica e valutazione del potenziale riproduttivo	101
SUTERA AM, RIGGIO V, PONG-WONG R, MASTRANGELO S, DI GERLANDO R, SARDINA MT, TOLONE M, PORTOLANO B - Studio di associazione genome-wide per i caratteri legati alla produzione di latte nella razza ovina Valle del Belice utilizzando le osservazioni ripetute	103
TEDDE V, PUGGIONI G, PISANU S, UZZAU S, LOLLAI S, DORE S, CANNAS AE, POLLERA C, MORONI P, BRONZO V, ADDIS MF - Sviluppo e validazione di un ELISA basato sulla catelicidina per la rilevazione delle mastiti in pecore e capre	105
TEMBUE A, RAMOS R, CARVALHO G, MAURELLI MP, IANNIELLO D, BOSCO A, CRINGOLI G, RINALDI L, ALVES L - Ricerca di anticorpi anti- <i>Toxoplasma gondii</i> ed anti- <i>Neospora caninum</i> in allevamenti ovini e caprini nella regione di sertão do Moxotó, Pernambuco, Brasile	107
TOLONE M, PULEIO R, PARCO A, TUMINO S, OLIVERI S, TAMBURELLO A, PORTOLANO B, LORIA GR - Studio di mastiti causate da <i>Mycoplasma agalactiae</i> in ovini di razza Valle del Belice: analisi di sopravvivenza	109
TORINA A, CURRÒ V, AUTERI M, LA RUSSA F, BLANDA V, SCIMECA S, CARACAPPA G, D'AGOSTINO R, VILLARI S, PERSICHETTI MF, DE MARIA C, CARACAPPA S - Analisi comparativa della distribuzione di zecche vettori Ixodidae in allevamenti ovicaprini nel territorio siciliano	111

TUDISCO R, CHIOFALO B, LO PRESTI V, LEONE F, MORITTU VM, LOMBARDI P, MONIELLO G, GROSSI M, MUSCO N, GRAZIOLI R, MASTELLONE V, INFASCELLI F - Semi di lino estruso nella dieta di capre al pascolo: effetti sull'attività dell'enzima Stearoyl-CoA desaturasi mammario	113
TUMINO S, BLANDA V, RUSSO F, PULEIO R, PARCO A, OLIVERI S, TOLONE M, TAMBURELLO A, LORIA GR - Indagini molecolari su zecche come potenziali vettori di <i>Mycoplasma agalactiae</i>	115
ZANZANI SA, GAZZONIS AL, VILLA L, MANFREDI MT - Analisi spaziale e fattori di rischio climatici delle infezioni da <i>Toxoplasma gondii</i> e <i>Neospora caninum</i> in allevamenti ovini e caprini del Nord Italia	117
ZANZANI SA, GAZZONIS AL, VILLA L, VILLA M, MANFREDI MT - Monitoraggio delle endoparassitosi in allevamenti caprini del nord Italia	119

POSTER

BAILO G, BATTINI M, COLOMBINI S, PIROVANO L, RAPETTI L, TAMBURINI A, ZUCALI M, BRUNI G, CACCIATORI V, STRADIOTTO K, ZANATTA G, MATTIELLO S - Assistenza tecnica negli allevamenti di capre da latte: le priorità degli allevatori	123
CASTAGNA F, D. BRITTI, CRINGOLI G, BOSCO A, RINALDI L, VONO M, BILOTTA M, POERIO A, MUSELLA V - Endoparassiti in ovini e caprini allevati in promiscuità in provincia di Catanzaro	125
DI BENEDETTO R, MERLA A, SAGRAFOLI D, GIACINTI G, AMATISTE S, VIGNOLA G - Studio della termografia nel vicino infrarosso (IRT) per l'applicazione in campo nella diagnosi rapida di mastite subclinica in ovini da latte	127
DI GERLANDO R, MASTRANGELO S, SUTERA AM, M TOLONE, PORTOLANO B, SARDINA MT - Identificazione genome-wide delle copy number variations nella razza caprina Girgentana	129
DI ROSA AR, LEONE F, CHIOFALO V - Sensi artificiali e <i>data fusion</i> per la valutazione delle modificazioni di colore e odore del formaggio <i>Pecorino</i> a seguito dell'inclusione di derivati agrumari nella dieta ovina	131
IANNIELLO D, MAURELLI MP, BOSCO A, PEPE P, AMADESI A, MORGOGNONE ME, SANTANIELLO M, CRINGOLI G, RINALDI L - Nuovi approcci per la diagnosi degli strongili broncopolmonari negli ovini ...	133
LIOTTA L, ZUMBO A, DI ROSA AR, D'ANGELO G, MAGAZZÙ G, CHIOFALO V - Effetti dell'integrazione della dieta per pecore da latte con residui agrumari sulle caratteristiche fisico-chimiche e sul profilo acido del grasso del formaggio	135
LORIA GR, PULEIO R, PARCO A, ARCOLEO G, BONGIOVANNI A, DRAGO C, DRAGO S - Agalassia contagiosa: un nuovo test rapido per la diagnosi in campo	137
MARINO R, CAROPRESE M, ANNICCHIARICO G, SANTILLO A, SEVI A, ALBENZIO M - Benessere e qualità della carne di agnelli merinizzati: effetto della supplementazione con quinoa e/o semi di lino	139
MERCATI F, MARANESI M, ACUTI G, SCOCCO P, PETRUCCI L, PIRINO C, RENZI A, DALL'AGLIO C - Espressione di APLN e APLNR nelle tube uterine e nell'utero della pecora al pascolo	141
MONTONE AMI, CAPUANO F, CITRO A, BIONDI L, GAGLIARDI R, NAVA D - Valutazione dei rischi microbiologici e tecnologici di un prodotto dell'alta Irpinia: il pecorino carmasciano. Dati preliminari	143

OLIVER A, MELE S, DÍAZ P, ARIAS MS, PINTORE E, GARIPPA G - Stagionalità delle endoparassitosi negli ovini di Maiorca (Isole Baleari, Spagna)	145
OLIVERI S, VICARI D, PULEIO R, PARCO A, TUMINO S, TOLONE M, DI GERLANDO R, TAMBURELLO A, LORIA GR - Primo caso di isolamento in Italia di <i>Mycoplasma canis</i> da una capra con patologia respiratoria	147
PAOLETTI B, TRAVERSA D, CASSINI R, FRANGIPANE DI REGALBONO A, MORETTA I, DI CESARE A, MAUTI A, LA TORRE F, DE ANGELIS E, VERONESI F - Indagine sulle endoparassitosi degli ovini allevati in Italia centrale	149
PAVONE S, D'AVINO N, ZEMA J, CAMBIOTTI SV, CROTTI S, MADEO L - Un caso di toxoplasmosi acuta fatale in un capretto di razza Tibetana (<i>Capra hircus</i>) sostenuto dal genotipo II avirulento di <i>Toxoplasma gondii</i>	151
PULEIO R, PARCO A, TUMINO S, OLIVERI S, TOLONE M, MACALUSO G, TAMBURELLO A, LORIA GR - Sviluppo di una elettroforesi su gel in gradiente denaturante (DGGE) per l'identificazione di infezioni miste di mycoplasmi patogeni dell'allevamento ovi-caprino	153
PULINAS L, ASOLE FA, DI STEFANO MV, MURA MC, LURIDIANA S, BINI PP, CARCANGIU V - Relazione tra diversi SNPs del gene MTNR1A e influenza sull'attività riproduttiva in pecore di razza Sarda	155
RE R, BERTOCCHI L, GIOVANNANTONIO P, FUSI F, LORENZI V, ANGELUCCI A, MONTEVERDE VP, NICOLUSSI P - Protocollo di valutazione del benessere e della biosicurezza nelle pecore da latte	157
RINALDI L, BOSCO A, DE ALCUBIERRE M, SOTIRAKI S, CLAEREBOUT E, MORGAN E, VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G, KENYON F, HOSTE H, CRINGOLI G, CHARLIER J - Possiamo combattere l'antielmintico resistenza nei ruminanti?	159
SANGRALI M, MIDULLA L, PRIN ABEIL M, BERETTA M, BARAZZUOL F, SARALE A - Agenti patogeni contagiosi nel latte ovi-caprino: studio su 18 stalle del Cuneese	161
SARALLI G, GALLI T, BRANCALEONE M, DI GIOVANNANTONIO C, FAGIOLO A, ROSATI R - Le principali razze caprine autoctone allevate nel Lazio meridionale	163
SCANO A, ORRÙ G, SERAFI G, PUGGIONI F, BOMBOI S, PATERI L, FAIS S, LICARDI M - Caratteri fenotipici/genotipici per la produzione di Alginato negli isolati clinici di <i>Pseudomonas aeruginosa</i> presenti negli allevamenti ovini	165
SERRONI A, CIULLO M, PELLEGRINI M, CROTTI S, CRUCIANI D, GOBBI M, D'AVINO N, PAPA P, DE GIUSEPPE A - Valutazione della specificità e sensibilità in ELISA degli anticorpi monoclonali e policlonali anti-beta2 di <i>C. Perfringens</i> : dati preliminari	167
VERONESI F, TRAVERSA D, CASSINI R, FRANGIPANE DI REGALBONO A, MORETTA I, DI CESARE A, LA TORRE F, PAOLETTI B - Efficacia di moxidectina orale (Cydectin®) nei confronti di endoparassiti di ovini allevati in Italia centrale	169

NOTA EDITORIALE

A distanza di 18 anni il Congresso della Società Italiana di Patologia e di Allevamento degli Ovini e dei Caprini (SIPAOC) ritorna in Campania.

Nel 2000 si è tenuto a Vietri sul Mare (SA), allora era presidente della Società il Prof. Vezio Puccini, ora si tiene a Napoli, in pieno centro, nel prestigioso Centro Congressi dell'Università degli studi di Napoli Federico II, in Via Partenope, alle spalle del grande Teatro San Carlo, di fronte al Castel dell'Ovo, con allo sfondo il Vesuvio.

Avere Napoli come cornice per il XXIII Congresso è un valore aggiunto al prestigio del quale gode la nostra Società.

Il programma scientifico si articola in otto tavole rotonde, tre simposi tematici, sette Keynotes e sette sessioni di comunicazioni orali e poster.

Le tavole rotonde, a cui partecipano esperti italiani di rinomanza nazionale e internazionale con 30 relazioni, trattano di problematiche di rilevante interesse per le produzioni, la sanità animale e la salute pubblica:

- caratteristiche coagulative del latte e nuove tendenze per la produzione di alimenti funzionali di origine animale
- tra virus, batteri, micoplasmi e ovini e caprini
- la politica regionale a sostegno del comparto ovino e caprino
- nuovo modello di consulenza zootecnico-sanitaria per gli allevamenti ovini e caprini
- Biodiversità, politiche e sostenibilità economica della filiera ovina e caprina: razze, produzioni di qualità, strumenti e prospettive
- un "viaggio" tra le endoparassitosi dei piccoli ruminanti, problema zootecnico-sanitario ancora troppo attuale
- la nuova disciplina della riproduzione animale e il regolamento (UE) n. 2016/1012: un'occasione per rilanciare il miglioramento genetico della razze ovine e caprine?
- In aggiunta ci sarà una degustazione comparata: degustando si impara: la carne e il latte non sono tutti uguali.

L'alimentazione è alla base di questa diversità, come possiamo percepirla e quali molecole sono implicate? Le tematiche dei tre simposi prevedono:

- simposio MSD Animal Health: costi alimentari ed indici di efficienza tecnica ed economica nell'allevamento degli ovini e dei caprini da latte
 - simposio BOEHRINGER INGELHEIM Animal Health: la lattazione e il controllo delle elmintosi
 - simposio ZOETIS: focus sull'allevamento ovino
-

I numerosi contributi sia sotto forma di keynote e comunicazioni orali, sia come poster, riguardano argomenti inerenti il benessere animale e la biosicurezza, la tecnologia delle produzioni, l'importanza del pascolo, la genetica nei suoi vari aspetti nonché eziologia, epidemiologia, trattamento e controllo di numerose e significative malattie infettive e parassitarie.

Ci è gradito ringraziare, anche a nome del Comitato Organizzatore, il presidente *Prof. M.T. Manfredi* e tutto il Consiglio Direttivo della Società, i referee, i soci, gli sponsor MSD Animal Health, Boehringer Ingelheim Animal Health, Zoetis, Huvepharma, la segreteria organizzativa Kassiopea group e tutti coloro che, in varia misura hanno contribuito all'organizzazione dell'evento.

Un ringraziamento all'Assessorato all'Agricoltura della Regione Campania, in particolare all'*Avv. F. Alfieri*, Assessore, e la *Dr.ssa M. Passari* della direzione generale, per il sostanziale contributo al comparto ovino e caprino tra cui l'attivazione e il sostegno del Centro Regionale Monitoraggio Parassitosi (CREMOPAR) che da circa 18 anni offre una innovativa, costante ed efficace assistenza tecnica al settore nel campo delle parassitosi.

Ringraziamo, in fine, il *Maestro Giuseppe Ercolano*, artista di pastori e presepi napoletani, che si inserisce nella magica tradizione del Presepe Napoletano del '700, per l'immagine di copertina di una sua opera.

Rivolgiamo, quindi, un caloroso benvenuto a tutti i congressisti augurando loro un proficuo lavoro ed un piacevole soggiorno a Napoli e dintorni.

I Presidenti del Comitato Organizzatore
Giuseppe Cringoli e Federico Infascelli

CONSIGLIO DIRETTIVO S.I.P.A.O.C.

Presidente

Maria Teresa Manfredi (UNIMI)

Vice Presidente

Giuseppe Moniello (UNISS)

Tesoriere

Pio Leonardo Mario Bitti (AIA)

COMITATO ORGANIZZATORE

Presidenti

Giuseppe Cringoli (UNINA)

Federico Infascelli (UNINA)

Segreteria

Antonio Bosco (UNINA)

Nadia Musco (UNINA)

Comitato

Augusto Calbi (ARA Basilicata)

Paolo Ciaramella (UNINA)

Marino Contu (ARA Sardegna)

Maurizio De Renzis (ARA Campania)

Silverio Grande (ASSONAPA)

Pietro Lombardi (UNINA)

Piero Maffei (ARA Calabria)

Vincenzo Mastellone (UNINA)

Maria Paola Maurelli (UNINA)

Vincenzo Musella (UNICZ)

Laura Rinaldi (UNINA)

Francesca Romano (IZSM)

Raffaella Tudisco (UNINA)

Vincenzo Veneziano (UNINA)

Consiglieri

Vincenzo Chiofalo (UNIME)

Giovanni Filippini (IZSUM)

Giulio Pagnacco (UNIMI)

Remo Rosati (IZSLT)

Antonio Scala (UNISS)

Massimo Trabalza Marinucci (UNIPG)

Segretario

Fabrizia Veronesi (UNIPG)

Avere Napoli come cornice per il XXIII Congresso Nazionale della Società Italiana di Patologia e Allevamento degli Ovini e dei Caprini (S.I.P.A.O.C.) è un valore aggiunto al prestigio del quale gode la nostra Società.

La città è celebre per i suoi mille volti e le decine di culture che si intrecciano amorevolmente sulla costa campana. Questa è Napoli. Qui si respira l'odore delle brezze marine, all'ombra di un vulcano tanto temuto e tanto amato, fotografato su tela da artisti di grande fortuna, e impresso nella memoria da scritti composti con la lingua più nobile che l'uomo ricordi.

Questa è Napoli. Quasi tre millenni di storia, ricordati dai resti della Grande Grecia, patria dell'uomo moderno e del suo pensiero, e da mura forti, costruite da chi, con le sue legioni, ha governato l'età classica, portando legge e benessere.

L'incanto di questo golfo di mitica memoria ha affascinato i visitatori più illustri e gli artisti della penna che hanno reso gloria alla letteratura italiana. Tasso scrisse nella sua opera più celebre: «*le piagge di Campagna amene, pompa maggior de la natura, e i colli che vagheggia il Tirren fertili e molli*».

Ospitalità e vita: Virgilio, Boccaccio, Leopardi, molti hanno tratto beneficio dai loro soggiorni; Federico II la fece grande agli occhi del mondo... Angioini, Aragonesi, Spagnoli, tutti hanno lasciato la loro traccia che indelebile resiste.

All'ombra di Castel dell'Ovo, che fa da contraltare al vulcano, dove Virgilio fece riposare il suo animo, tra le strade della vecchia *Parthenope* di origine cumana, alle spalle del grande Teatro San Carlo, vanto di Napoli e d'Italia, dunque, abbiamo l'onore di ospitare il XXIII Congresso S.I.P.A.O.C., immersi nella storia e nella bellezza paesaggistica.

Tra la celebre strada intitolata al Caracciolo e la Riviera di Chiaia, grazie alla prima Universitas Studiorum laica del mondo, voluta dallo *Stupor Mundi* e conservata gelosamente nei secoli come patrimonio prima cittadino, poi nazionale, la nostra Società, che contribuisce da tempo alla conoscenza umana e alla salute animale, tiene il suo XXIII appuntamento nazionale.

G. Cringoli e F. Infascelli

TAVOLA SINOTTICA

AULA MAGNA

AULA A

Mercoledì 12 settembre 2018

11.30 – 13.00

TAVOLA ROTONDA 1
 Caratteristiche coagulative del latte e nuove tendenze per la produzione di alimenti funzionali di origine animale

SESSIONE
COMUNICAZIONI SANITÀ

13.00 – 14.30

Lunch

13.00 – 14.30

TAVOLA ROTONDA 2
 Tra virus, batteri, micoplasmi e ovini e caprini

SESSIONE
COMUNICAZIONI ZOOTECNIA

16.30 – 19.00

TAVOLA ROTONDA 3
 La Politica Regionale a sostegno del comparto ovino e caprino

SESSIONE
COMUNICAZIONI SANITÀ

19.00 – 20.00

CERIMONIA DI INAUGURAZIONE

20.30

Cocktail di benvenuto

Giovedì 13 settembre 2018

9.00 – 11.00

TAVOLA ROTONDA 4
 Nuovo modello di consulenza zootecnico-sanitaria per gli allevamenti ovini e caprini

8.30 – 11.00
SESSIONE
COMUNICAZIONI ZOOTECNIA

11.00 – 11.30

Poster Tour (P1-P8) e Coffee break

11.30 – 13.00

TAVOLA ROTONDA 5
 Biodiversità, politiche e sostenibilità economica della filiera ovina e caprina: razze, produzioni di qualità, strumenti e prospettive

SIMPOSIO MSD Animal Health
 Costi alimentari ed indici di efficienza tecnica ed economica nell'allevamento degli ovini e dei caprini da latte

13.00 – 14.15

Lunch

AULA MAGNA**AULA A**

15.00 – 16.30

Degustando si impara: la carne e il latte non sono tutti uguali. L'alimentazione è alla base di questa diversità, come possiamo percepirla e quali molecole sono implicate?

**SESSIONE
COMUNICAZIONI SANITÀ**

16.30 - 17.00

Poster Tour (P9-P16) e Coffee break

17.00 – 18.30

**SIMPOSIO BOEHRINGER
INGELHEIM Animal Health**
La lattazione e il controllo delle elmintosi

20.00

Cena Sociale

Venerdì 14 settembre 2018

08.30 – 10.30

TAVOLA ROTONDA 6
Un "viaggio" tra le endoparassitosi dei piccoli ruminanti, problema zootecnico-sanitario ancora troppo attuale

8.30 – 11.00

**SESSIONE
COMUNICAZIONI ZOOTECNIA**

10.30 – 11.00

Poster Tour (P17-P24) e Coffee break

11.00 – 13.30

TAVOLA ROTONDA 2
La nuova disciplina della riproduzione animale e il regolamento (UE) n. 2016/1012: un'occasione per rilanciare il miglioramento genetico delle razze ovine e caprine?

11.00 – 11.50

SIMPOSIO ZOETIS
Focus sull'allevamento ovino

11.50 – 13.00

**SESSIONE
COMUNICAZIONI SANITÀ**

Giovedì 13 settembre 2018

AULA MAGNA

14.15 – 15.00 Assemblea dei Soci S.I.P.A.O.C.

AULA B

9.00 - 12.00 Proiezione “I segreti delle pecore” di Sergio Rossi
Proiezione “Ritorno sui Monti Naviganti” di Alessandro Scillitani

15.00 – 18.00 Votazioni per il rinnovo del Consiglio Direttivo S.I.P.A.O.C.

Mercoledì 12 settembre 2018

10.30 Apertura della Segreteria e registrazione dei partecipanti

AULA MAGNA

11.30 - 13.00

TAVOLA ROTONDA 1

Caratteristiche coagulative del latte e nuove tendenze per la produzione di alimenti funzionali di origine animale

Moderatori: *G. Neglia, R. Rosati*

Le proprietà coagulative del latte ovino e caprino

M. Pazzola

Prodotti caseari ovini e caprini a valenza funzionale

A. Pirisi

Tecniche di allevamento innovative e risvolti salutistici della carne ovina e caprina

R.M.T. Marino

Il punto del Centro di Referenza Nazionale per la qualità del latte e dei prodotti derivati degli ovini e dei caprini

G. Giangolini

AULA A

11.30 - 13.00

SESSIONE COMUNICAZIONI SANITÀ

Moderatori: *S. Giannetto, M.T. Manfredi, V.M. Morittu*

KEYNOTE

L'Allevatore risponde: il cane e i suoi parassiti

G. Poglayen

Wohlfahrtia magnifica: una minaccia silenziosa

A. Giangaspero

COMUNICAZIONI ORALI

Rivalutazione dell'efficacia di una formulazione orale a base di Fenbendazolo nei confronti dei Nematodi Gastrointestinali degli ovini in Sardegna

A. Scala, C. Tamponi, A.P. Pipia, P. Antenucci, S. Muntoni, G. Dessì, S. Carta, G.P. Sedda, A. Varcasia

Monitoraggio delle endoparassitosi in allevamenti caprini del nord Italia

S.A. Zanzani, A.L. Gazzonis, L. Villa, M. Villa, M.T. Manfredi

Efficacia della paromomicina per la prevenzione e il trattamento della criptosporidiosi negli agnelli

Y. Abbate, N. D'Avino, P. De Ferrari, A. Felici, M. Gobbi, O. Paoluzzi, M. Tentellini, P. Mondin, B. Duquesne

Miosite linfoplasmocitica associata a sarcocistosi ed espressione del complesso maggiore d'istocompatibilità di classe I e II (MHC I e II) negli ovini

F. Prisco, T.B. Pagano, M.P. Maurelli, L. Rinaldi, S. Papparella, O. Paciello

13.00 - 14.30 *Lunch*

AULA MAGNA

14.30 - 16.30

TAVOLA ROTONDA 2

Tra virus, batteri, micoplasmi e ovini e caprini

Moderatori: *G. Galiero, G. Iovane, M. Pittau*

Lentivirus dei piccoli ruminanti (Visna-Maedi/CAEV)

S. Rosati

Blue tongue, tra passato e presente

A. De Felice

Eziologia ed epidemiologia delle mastiti dei piccoli ruminanti in Italia

E.A. Cannas, S. Dore

Applicazione del regolamento UE 2016/429: note dai lavori in Commissione, quali novità per la lotta alle malattie trasmissibili degli ovini e dei caprini

G.R. Loria

AULA A

14.30 - 16.30

SESSIONE COMUNICAZIONI ZOOTECCIA

Moderatori: *V. Chiofalo, V. Mastellone, O. Paciello*

Benessere e biosicurezza nelle capre da latte: il metodo di valutazione del Centro di Referenza Nazionale per il Benessere Animale

A. Gaffuri, A. Angelucci, V. Lorenzi, F. Fusi, E.L. Bertocchi

La predazione da lupo nel grossetano: analisi dei dati dell'ultimo decennio

C. Russo, N. Scampuddu, L. Giuliotti, N. Benvenuti, F. Cecchi

Azioni di sostegno al reddito delle aziende che utilizzano i pascoli naturali appenninici, in vista del decremento del valore pastorale legato alla crescente aridità estiva

P. Scocco, F. Mercati, C. Dall'Aglio, S. Rivaroli, A. Malfatti, M. Trabalza Marinucci, E. De Felice, M. Canavari

Valutazione degli arieti riproduttori: standard di visita andrologica e valutazione del potenziale riproduttivo

A. Spezzigu, C. Mele, F. Sotgiu

Studio di associazione genome-wide per i caratteri legati alla produzione di latte nella razza ovina Valle del Belice utilizzando le osservazioni ripetute

A.M. Sutura, V. Riggio, R. Pong-Wong, S. Mastrangelo, R. Di Gerlando, M.T. Sardina, M. Tolone, B. Portolano

Identificazione di geni candidati per la resistenza alle infezioni da Lentivirus nella capra di razza Garfagnina

F. Cecchi, C. Dadousis, R. Bozzi, F. Fratini, C. Russo, P. Bandecchi, C. Cantile, M. Mazzei

Approccio forense ai casi di predazione in pecore e capre
G. Piegari, D. De Biase, F. Prisco, N. Ambrosio, A. Spada, O. Paciello

Utilizzo di un mangime complementare liquido naturale per il controllo delle strongilosi gastrointestinali negli ovini: efficacia e benefici per gli animali
F. Castagna, V. Musella, G. Cringoli, A. Bosco, N. Nisticò, G. Caligiuri, E. Palma, D. Britti

AULA MAGNA

16.30 - 19.00

TAVOLA ROTONDA 3

La Politica Regionale a sostegno del comparto ovino e caprino

Moderatori: *A. Ansanelli, G.M. Franco*

Le iniziative della regione Campania a sostegno del comparto ovino e caprino
M. Passari

Stato sanitario del comparto ovino e caprino campano, profilassi e risanamento
P. Sarnelli

Le politiche della Regione Toscana per il sostegno e lo sviluppo della filiera ovina e caprina
G. Giliberti

Misure di conservazione Aree Natura 2000, ovini e caprini elementi sentinella
R. Marmo

AULA A

16.30 - 19.00

SESSIONE COMUNICAZIONI SANITÀ

Moderatori: *S. Caracappa, G. Moniello, S. Rosati*

KEYNOTE

Antimicrobico resistenza e il mondo allevatorio
G. Iovane

COMUNICAZIONI ORALI

Valutazione della risposta immunitaria per *Mannheimia haemolytica* in agnelli provenienti da allevamenti ovini italiani

C. Pesca, K. Forti, L. Anzalone, N. D'Avino, A. Di Paolo, A. Felici, G. Filippini, E. Scoccia, S. Muntoni, P. Antenucci, F. Cao, F. Salis, S. Crotti

Risultati preliminari del progetto Ovimyco: micoplasmi e altri agenti patogeni negli allevamenti ovini e caprini

D. Cruciani, S. Pavone, P. Gobbi, M. Gobbi, P. Papa, A. Fiorucci, S. Benda, P. Antenucci, S. Crotti, C. Pesca

Studio sieroepidemiologico sulla prevalenza della paratubercolosi nella specie ovicaprina in Basilicata

L. Cardillo, U. Pagnini, S. Montagnaro, V. Iovane

Caso clinico: avvelenamento da *Spartium junceum L.* in piccoli ruminanti

A. Ariano, A. Costagliola, G. Di Francesco, S. Salucci, L. Pietrobattista, O. Paciello, L. Severino

Produzione in capra di sieri iperimmuni nei confronti di proteine immunogeniche di *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri*
G. Marogna, M.G. Manca, G. Cillara, N.M. Rosa, C. Longheu, G. Schianchi, S. Tola

Isolamento di *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* da feci e tessuti di piccoli ruminanti utilizzando un metodo colturale liquido non automatizzato
De Grossi, D. Santori, A. Barone, S. Abbruzzese, M. Ricchi, G.A. Marcario

Studio di mastiti causate da *Mycoplasma agalactiae* in ovini di razza Valle del Belice: analisi di sopravvivenza
Tolone, R. Puleio, A. Parco, S. Tumino, S. Oliveri, A. Tamburello, B. Portolano, G.R. Loria

Indagini molecolari su zecche come potenziali vettori di *Mycoplasma agalactiae*
S. Tumino, V. Blanda, F. Russo, R. Puleio, A. Parco, S. Oliveri, M. Tolone, A. Tamburello, G.R. Loria

Dichelobacter nodosus in Italia: ceppo benigno o ceppo virulento?
Pesca, D. Cruciani, A. Felici, Y. Abbate, C. Sebastiani, S. Crotti

Studio delle patologie tiroidee nella pecora in aree contaminate
De Biase, G. Piegari, F. Prisco, A. Bosco, A. Genovese, G. Cringoli, O. Paciello

Blue tongue: cambiamenti epidemiologici in Campania negli anni 2014-2018
De Felice, V. Caligiuri, V. Vitale, M. Ottaiano, G. Galiero, L. Baldi

19.00 - 20.00 Cerimonia di inaugurazione

Interventi di saluto:

- Presidente S.I.P.A.O.C.
- Presidenti Comitato organizzatore S.I.P.A.O.C. 2018
- Pro Rettore Università degli Studi di Napoli Federico II
- Rappresentante CDA Università degli Studi di Napoli Federico II
- Direttore Generale Sanità Animale e F.V.
- Direttore Generale dell'IZS del Mezzogiorno
- Direttore della Scuola di Agraria e Medicina Veterinaria e Produzioni Animali
- Direttore del Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali
- Assessore all'Agricoltura Regione Campania

Presentazione "I segreti delle pecore" di Sergio Rossi

Presentazione "Ritorno sui Monti Naviganti" di Alessandro Scillitani

20.30 *Cocktail di benvenuto*

Giovedì 13 settembre 2018**AULA MAGNA**

9.00 - 11.00

TAVOLA ROTONDA 4**Nuovo modello di consulenza zootecnico-sanitaria per gli allevamenti ovini e caprini**Moderatori: *G. Cringoli, G. Filippini*

- La situazione sanitaria dell'allevamento ovino nazionale:
report del Centro Specialistico sulle Patologie dei Piccoli Ruminanti (CESPAPIRU)
G. Filippini

- Report del Centro Regionale Monitoraggio Parassitosi (CREMOPAR)
A. Bosco e G. Cringoli

Il ruolo dei servizi informatici nazionali a supporto del settore ovino e caprino
L. Ruocco

I protocolli sanitari per una corretta gestione dell'allevamento ovino e caprino
P.M. Mangili

Il monitoraggio, la nuova frontiera per la sorveglianza sanitaria: il modello Basilicata
A. Calbi; A. Bosco e N. D'Avino

AULA A

8.30 - 11.00

SESSIONE COMUNICAZIONI ZOOTECCIAModeratori: *F. Ciotola, G. Pagnacco, S. Tola***KEYNOTES**

Caratterizzazione molecolare della biodiversità di tre razze caprine della Calabria tramite un pannello di marcatori SNP a media densità
L. Colli

Il Programma Europeo SHEEPNET: condivisione di competenze ed esperienze sulla produttività degli ovini attraverso la costituzione di una rete di lavoro
A. Carta

COMUNICAZIONI ORALI

Pratiche innovative per la gestione della riproduzione: esempi dal progetto SHEEPNET
G. Argiolas

Variabilità genetica di otto popolazioni caprine dell'Italia centrale valutata tramite un chip SNP a media densità
S. Ceccobelli, M.T. Costanza, E. Lasagna, C. Pieramati, F.M. Sarti, Italian Goat Consortium

Studio di associazione genome-wide per l'identificazione del locus responsabile della *microtia* nella razza ovina Valle del Belice
S. Mastrangelo, G. Sottile, A.M. Sutura, R. Di Gerlando, M. Tolone, A. Moscarelli, M.T. Sardina, B. Portolano

Studio di associazione genome-wide tra CNV e parametri qualitativi del latte nella razza ovina Valle del Belice

Di Gerlando, A.M. Sutura, M.T. Sardina, M. Tolone, B. Portolano, S. Mastrangelo

Studi citogenetici in pecore con anomalie congenite dell'apparato riproduttore

Albarella, E. D'Anza, G. Galdiero, C. Capezzone, F. Ciotola, V. Peretti

Parametri igienico-sanitari del latte e valutazione del benessere animale negli allevamenti ovini siciliani

M. Palmeri, I. Mancuso, L. Arcuri, G. Giangolini, S. Dara, M.L. Scatassa

Formaggio a latte pastorizzato ovino: indagini microbiologiche durante le diverse fasi del processo produttivo

G. Giangolini, N. Marri, D. Patriarca, P. Pietrini, C. Boselli, D. Sagrafoli, F. Filippetti, S. Amatiste

Studio dell'effetto dell'ambiente sul genoma delle pecore di razza sarda con un approccio di *landscape genomics*

S. Sorbolini, A. Cesarani, G. Gaspa, M. Usala, I. Peana, G. Fois, N.P.P. Macciotta

AULA B

11.30 - 13.00

Proiezione "I segreti delle pecore" di Sergio Rossi

Proiezione "Ritorno sui Monti Naviganti" di Alessandro Scillitani

Dibattito

11.00 – 11.30

Poster Tour (P1-P8) e Coffee break

AULA MAGNA

11.30 - 13.00

TAVOLA ROTONDA 5

Biodiversità, politiche e sostenibilità economica della filiera ovina e caprina: razze, produzioni di qualità, strumenti e prospettive

Moderatori: *M. Bitti, V. Peretti*

Con la partecipazione di *F. Capitanio; V. Carrozzino; F. Ciotola; T. Del Giudice; C. Salerno*

AULA A

11.30 - 13.00

SIMPOSIO MSD Animal Health - Costi alimentari ed indici di efficienza tecnica ed economica nell'allevamento degli ovini e dei caprini da latte

Relatori: *A. Cannas, M. Ronga, P. Antenucci*

13.00 - 14.30 Lunch

AULA MAGNA

14.15 – 15.00 Assemblea dei Soci S.I.P.A.O.C.

AULA B

15.00 – 18.00 Votazioni per il rinnovo del Consiglio Direttivo S.I.P.A.O.C.

AULA MAGNA

15.00 – 16.30

Degustando si impara: la carne e il latte non sono tutti uguali. L'alimentazione è alla base di questa diversità, come possiamo percepirla e quali molecole sono implicate?

Moderatore: *R. Rubino*Con la partecipazione di *A. Cabiddu; M. Faccia; G. Ruggiero***AULA A**

15.00 – 16.30

SESSIONE COMUNICAZIONI SANITÀModeratori: *G. Garippa, M.P. Maurelli***KEYNOTE***Toxoplasma gondii*: parassita di moda o problema reale?*M. Genchi***COMUNICAZIONI ORALI**Analisi spaziale e fattori di rischio climatici delle infezioni da *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* in allevamenti ovini e caprini del Nord Italia*S.A. Zanzani, A.L. Gazzonis, L. Villa, M.T. Manfredi**Toxoplasma gondii* in un allevamento di capre da latte naturalmente infetto: andamento degli anticorpi e del DNA del protozoo nel latte*A.L. Gazzonis, S.A. Zanzani, L. Villa, M. Villa, M.T. Manfredi*Ricerca di anticorpi anti-*Toxoplasma gondii* ed anti-*Neospora caninum* in allevamenti ovini e caprini nella regione di Sertão do Moxotó, Pernambuco, Brasile*A. Tembue, R. Ramos, G. Carvalho, M.P. Maurelli, D. Ianniello, A. Bosco, G. Cringoli, L. Rinaldi, L. Alves*

Endoparassitosi negli ovini in Sardegna: risultati dell'attività diagnostica copromicroscopica svolta nel biennio 2016-2017

*A. Scala, C. Tamponi, A.P. Pipia, S. Muntoni, G. Dessì, S. Carta, G.P. Sedda, G.P. Epifani, M.G. Lai, L. Tilocca, P. Antenucci, A. Varcasia*Infestazione da *Ixodes ricinus* (Ixodidae) in capre in un'area prealpina*M.T. Manfredi, S.A. Zanzani, A.L. Gazzonis, B. Gaeti, L. Villa*

Parasitology Summer Course (ParSCo): un'esperienza internazionale in Basilicata

R.P. Lia, F. Dantas-Torres, D. Otranto

16.30 – 17.00 Poster Tour (P9-P16) e Coffee break

AULA A

17.00 – 18.30

SIMPOSIO BOEHRINGER INGELHEIM Animal Health - La lattazione e il controllo delle elmintosi

Relatori: *O. Vischi; L. Rinaldi e A. Bosco*

20.30 *Cena Sociale*

Venerdì 14 settembre 2018**AULA MAGNA**

08.30 - 10.30

TAVOLA ROTONDA 6

Un “viaggio” tra le endoparassitosi dei piccoli ruminanti, problema zootecnico-sanitario ancora troppo attuale

Moderatori: *M. Pietrobelli, A. Scala, M.T. Mandara*

Le metacestodosi degli ovini e dei caprini: sono ancora un problema attuale?

A. Varcasia

EchinoCamp1000 - un'esperienza regionale di un progetto integrato

G. Cringoli, L. Baldi, M. Galdiero

Il punto sulla ricetta elettronica nel settore ovino e caprino

L. Candela

I parassiti al mattatoio: il punto dell'anatomopatologo

O. Paciello

AULA A

08.30 - 10.30

SESSIONE COMUNICAZIONI ZOOTECCIA

Moderatori: *A. Bosco, M. Trabalza Marinucci, R. Tudisco*

KEYNOTE

Utilizzo di grassi nella dieta nella capra da latte: metabolismo e stato di salute

G. Invernizzi

COMUNICAZIONI ORALI

Composizione acidica del grasso del latte di capre primipare di razza Sarda e Maltese tenute nelle stesse condizioni di allevamento semi-estensivo

D. Pittau, C. Spanu, C. Scarano, S. Banni, P. Delmonte, E.P.L. De Santis, N. De Riu, P. Sedda, E. Mura, G. Moniello

Semi di lino estruso nella dieta di capre al pascolo: effetti sull'attività dell'enzima Stearoyl-CoA desaturasi mammario

R. Tudisco, B. Chiofalo, V. Lo Presti, F. Leone, V.M. Morittu, P. Lombardi, G. Moniello, M. Grossi, N. Musco, R. Grazioli, V. Mastellone, F. Infascelli

Utilizzo di diverse fonti di carboidrati nell'alimentazione di pecore in lattazione al pascolo
F. Lai, D. Sioutas, R. Rubattu, G. Spanu, A. Fenu, A. Mazza, A. Cannas

L'integrazione della dieta con concentrato fenolico da acque di vegetazione aumenta il contenuto in composti bioattivi e migliora lo stato ossidativo del latte ovino
R. Branciarri, R. Galarini, G. Acuti, D. Ranucci, A. Valiani, M. Servili, M. Pauselli, D. Giusepponi, M. Trabalza Marinucci

Gestione dell'asciutta negli allevamenti caprini: studio su 5 stalle del Piemonte
M. Sangrali, L. Midulla, M. Prin Abeil, M. Beretta, F. Barazzuol, A. Sarale

La Misura 14 in Umbria come strumento capillare per la determinazione e la gestione delle parassitosi su tutto il territorio regionale
Y. Abbate, A. Felici, C. Forte, G. Dalmonte, N. D'Avino, M. Gobbi, C. Pesca, Consalvi, G. Pezzotti, G. Filippini

L'analisi strumentale (E-nose) come mezzo per la valutazione dello stadio di stagionatura di formaggio di capra tipocaciotta
Annicchiarico, G. Morone, L. Sepe, R. Rossi, S. Claps

Effetto della sostituzione nella dieta della farina di estrazione di soia con farina di mais sulla produzione di latte caprino
L. Rapetti, S. Colombini, C. Vanetti, A. Rota Graziosi, L. Malagutti

10.30 - 11.00 Poster Tour (P17-P24) e Coffee break

AULA MAGNA

11.00- 13.30

TAVOLA ROTONDA 7

La nuova disciplina della riproduzione animale e il regolamento (UE) n. 2016/1012: un'occasione per rilanciare il miglioramento genetico delle razze ovine e caprine?

Moderatori: *A. Carta, S. Loffreda, R. Maddè*

Il punto della selezione negli ovi-caprini
S. Grande

Una lettura del regolamento e del decreto legislativo
G. Pagnacco

Selezione genomica: un approccio specifico per gli ovini
S.L. Salaris

Interventi programmati: Ministero, Associazione Nazionale di Categoria, Presidente ASSONAPA, Presidente RARE e Allevatori

AULA A

11.00 - 11.50

SIMPOSIO ZOETIS - Focus sull'allevamento ovino
Relatori: *I. Moretta, B. Paoletti, F. Diuccio, V. Salamina*

11.50 - 13.00

SESSIONE COMUNICAZIONI SANITÀ

Moderatori: *G. Filippini, U. Pagnini, F. Veronesi*

Rilevamento precoce e pre-clinico della proteina prionica patologica nel liquido cerebrospinale caprino meditante Real-Time Quaking-Induced Conversion assay

A. Favole, M. Mazza, E. Vallino Costassa, A. D'Angelo, N. Martinelli, G. Lombardi, P. Marconi, M. Gallo, P. Acutis, M. Caramelli, C. Casalone, C. Corona

Mastiti da *Staphylococcus intermedius* in allevamenti ovini siciliani

D. Gambino, D. Vicari, D. Crucitti, M.F. Persichetti, G. Caracappa, G. Schirò, A. Gentile, S. Caracappa

Sviluppo e validazione di un ELISA basato sulla catelicidina per la rilevazione delle mastiti in pecore e capre

V. Tedde, G. Puggioni, S. Pisanu, S. Uzzau, S. Lollai, S. Dore, A.E. Cannas, C. Pollera, P. Moroni, V. Bronzo, M.F. Addis

Analisi comparativa della distribuzione di zecche vettori Ixodidae in allevamenti ovicaprini nel territorio siciliano

A. Torina, V. Currò, M. Auteri, F. La Russa, V. Blanda, S. Scimeca, G. Caracappa, R. D'Agostino, S. Villari, M.F. Persichetti, C. De Maria, S. Caracappa

Indagine sui patogeni trasmessi da vettore in capre girgentane siciliane: dati preliminari

M.F. Persichetti, A. Torina, C. De Maria, F. Marino, G. Caracappa, F. La Russa, V. Blanda, M. Auteri, S. Caracappa

13.30 Chiusura dei lavori

POSTER

- P1. Assistenza tecnica negli allevamenti di capre da latte: le priorità degli allevatori
G. Bailo, M. Battini, S. Colombini, L. Pirovano, L. Rapetti, A. Tamburini, M. Zucali, G. Bruni, V. Cacciatori, K. Stradiotto, G. Zanatta, S. Mattiello
 - P2. Endoparassiti in ovini e caprini allevati in promiscuità in provincia di Catanzaro
F. Castagna, D. Britti, G. Cringoli, A. Bosco, L. Rinaldi, M. Vono, M. Bilotta, A. Poerio, V. Musella
 - P3. Studio della termografia nel vicino infrarosso (IRT) per l'applicazione in campo nella diagnosi rapida di mastite subclinica in ovini da latte
R. Di Benedetto, A. Merla, D. Sagrafoli, G. Giacinti, S. Amatiste, G. Vignola
 - P4. Identificazione genome-wide delle copy number variations nella razza caprina Girgentana
R. Di Gerlando, S. Mastrangelo, A.M. Sutura, M. Tolone, B. Portolano, M.T. Sardina
 - P5. Sensi artificiali e *data fusion* per la valutazione delle modificazioni di colore e odore del formaggio *Pecorino* a seguito dell'inclusione di derivati agrumari nella dieta ovina
A.R. Di Rosa, F. Leone, V. Chiofalo
 - P6. Nuovi approcci per la diagnosi degli strongili broncopulmonari negli ovini
D. Ianniello, M.P. Maurelli, A. Bosco, P. Pepe, A. Amadesi, M.E. Morgoglione, M. Santaniello, G. Cringoli, L. Rinaldi
-

-
- P7. Effetti dell'integrazione della dieta per pecore da latte con residui agrumari sulle caratteristiche fisico-chimiche e sul profilo acidico del grasso del formaggio
L. Liotta, A. Zumbo, A.R. Di Rosa, G. D'Angelo, G. Magazzù, V. Chiofalo
- P8. Agalassia contagiosa: un nuovo test rapido per la diagnosi in campo
G.R. Loria, R. Puleio, A. Parco, G. Arcolego, A. Bongiovanni, C. Drago, S. Drago
- P9. Benessere e qualità della carne di agnelli merinizzati: effetto della supplementazione con quinoa e/o semi di lino
R. Marino, M. Caroprese, G. Annicchiarico, A. Santillo, A. Sevi, M. Albenzio
- P10. Espressione di APLN e APLNR nelle tube uterine e nell'utero della pecora al pascolo
F. Mercati, M. Maranesi, G. Acuti, P. Scocco, L. Petrucci, C. Pirino, A. Renzi, C. Dall'Aglio
- P11. Valutazione dei rischi microbiologici e tecnologici di un prodotto dell'alta Irpinia: il pecorino carmasciano. Dati preliminari
D. Nava, A.M.I. Montone, A. Citro, L. Biondi, R. Gagliardi, G. Di Leo, F. Capuano
- P12. Stagionalità delle endoparassitosi negli ovini di Maiorca (Isole Baleari, Spagna)
A. Oliver, S. Mele, P. Díaz, M.S. Arias, E. Pintore, G. Garippa
- P13. Primo caso di isolamento in Italia di *Mycoplasma canis* da una capra con patologia respiratoria
S. Oliveri, D. Vicari, R. Puleio, A. Parco, S. Tumino, M. Tolone, R. Di Gerlando, A. Tamburello, G.R. Loria
- P14. Indagine sulle endoparassitosi degli ovini allevati in Italia centrale
B. Paoletti, D. Traversa, R. Cassini, A. Frangipane Di Regalbono, I. Moretta, A. Di Cesare, A. Mauti, F. La Torre, E. De Angelis, F. Veronesi
- P15. Un caso di toxoplasmosi acuta fatale in un capretto di razza Tibetana (*Capra hircus*) sostenuto dal genotipo II avirulento di *Toxoplasma gondii*
S. Pavone, N. D'Avino, J. Zema S.V. Cambiotti, S. Crotti, L. Madeo
- P16. Sviluppo di una elettroforesi su gel in gradiente denaturante (DGGE) per l'identificazione di infezioni miste di mycoplasmi patogeni dell'allevamento ovi-caprino
R. Puleio, A. Parco, S. Tumino, S. Oliveri, M. Tolone, G. Macaluso, A. Tamburello, G.R. Loria
- P17. Relazione tra diversi SNPs del gene MTNR1A e influenza sull'attività riproduttiva in pecore di razza Sarda
L. Pulinas, F.A. Asole, M.V. Di Stefano, M.C. Mura, S. Luridiana, P.P. Bini, V. Carcangiu
- P18. Protocollo di valutazione del benessere e della biosicurezza nelle pecore da latte
R. Re, L. Bertocchi, P. Giovannantonio, F. Fusi, V. Lorenzi, A. Angelucci, V.P. Monteverde, P. Nicolussi
- P19. Possiamo combattere l'antelmintico resistenza nei ruminanti?
L. Rinaldi, A. Bosco, M. De Alcubierre, S. Sotiraki, E. Claerebout, E. Morgan, G. Von Samson-Himmelstjerna, F. Kenyon, H. Hoste, G. Cringoli, J. Charlier
- P20. Agenti patogeni contagiosi nel latte ovicaprino: studio su 18 stalle del Cuneese
M. Sangrali, L. Midulla, M. Prin Abeil, M. Beretta, F. Barazzuol, A. Sarale
-

- P21. Le principali razze caprine autoctone allevate nel Lazio meridionale
G. Saralli, T. Galli, M. Brancaleone, C. Di Giovannantonio, A. Fagiolo, R. Rosati
- P22. Caratteri fenotipici/genotipici per la produzione di Alginato negli isolati clinici di *Pseudomonas aeruginosa* presenti negli allevamenti ovini
A. Scano, G. Orrù, G. Serafi, F. Puggioni, S. Bomboi, L. Pateri, S. Fais, M. Liciardi
- P23. Valutazione della specificità e sensibilità in ELISA degli anticorpi mono-clonali e policlonali anti-beta2 di *C. Perfringens*: dati preliminari
A. Serroni, M. Ciullo, M. Pellegrini, S. Crotti, D. Cruciani, M. Gobbi, N. D'Avino, P. Papa, A. De Giuseppe
- P24. Efficacia di moxidectina orale (Cydectin®) nei confronti di endoparassiti di ovini allevati in Italia centrale
F. Veronesi, D. Traversa, R. Cassini, A. Frangipane Di Regalbono, I. Moretta, A. Di Cesare, F. La Torre, B. Paoletti
-

INFORMAZIONI GENERALI

Sede del Congresso

Centro Congressi Federico II – Via Partenope 36, Napoli

Il Centro Congressi si trova al centro della grande isola pedonale del lungomare di Napoli davanti allo splendido scenario di Castel Dell'Ovo e del Borgo dei Marinari.

Come raggiungere la sede del Congresso:

In auto

Per chi arriva da Nord. A1 Autostrada del Sole. Uscita Tangenziale.

Per chi arriva da Sud. A16 Autostrada Bari-Napoli e A3 Salerno-Reggio Calabria. Uscita Tangenziale.

Dall'autostrada, prendere la direzione piazza Municipio/Porto

Parcheggi nei dintorni

Nelle vicinanze della sede congressuale sono presenti diversi parcheggi a pagamento.

In treno

Napoli è facilmente raggiungibile grazie all'Alta Velocità che la collega con le principali città italiane.

Dalla Stazione Centrale, a soli 5 Km, prendere la metro Linea 1 (Garibaldi, poco fuori la stazione), in direzione Dante, e scendere a Toledo. Da lì è possibile raggiungere la sede del Congresso in taxi oppure con una piacevole passeggiata lungo via Toledo e attraverso piazza del Plebiscito.

In aereo

L'Aeroporto Napoli Capodichino dista 8 km e collega Napoli ai principali aeroporti italiani ed europei.

Dall'aeroporto Capodichino è possibile utilizzare i taxi oppure prendere la linea Alibus e scendere alla fermata Piazza Municipio. Proseguire a piedi fino a via Acton e prendere il bus 154 e, scendendo alla fermata Santa Lucia, la sede congressuale è a pochi passi.

Bus urbani

Le fermate degli autobus 128, 154, C24, N1 si trovano a 400 metri dalla sede del Congresso.

Taxi

Il parcheggio taxi si trova a 20 metri dalla sede del Congresso.

I taxi a Napoli possono essere prenotati telefonicamente ai seguenti numeri: 081 5564444 – 081 5707070 – 081 5560202. Il servizio di prenotazione taxi è disponibile 24 ore al giorno.

Segreteria in sede congressuale

La Segreteria Organizzativa sarà a disposizione dei partecipanti, presso la sede congressuale a partire dalle ore 10.30 del 12 settembre 2018 e nei giorni successivi sino alla conclusione dei lavori.

Quote di iscrizione

Si intendono IVA 22% inclusa e non comprendono la cena sociale per la quale è prevista una quota per persona di euro 50,00 IVA inclusa.

COSTI ISCRIZIONI

Dopo il 25 Luglio

Strutturati euro 360,00* (euro 295,08 quota esente IVA)

Non strutturati* euro 260,00* (euro 213,11 quota esente IVA)

Studenti euro 30,00* per giornata congressuale

Accompagnatori euro 250,00*

Partecipazione cena sociale di giovedì 13 settembre euro 50,00 IVA inclusa per persona.

** Specializzando, dottorando, borsista, assegnista, contrattista.

La quota di iscrizione comprende:

- partecipazione alle sessioni scientifiche
- kit congressuale
- Atti del Congresso
- attestato di partecipazione
- cocktail di benvenuto del 12 settembre
- coffee break e colazioni di lavoro del 12, 13 e 14 settembre

Dal 12 settembre sarà possibile effettuare l'iscrizione direttamente in sede di Congresso.

INFORMAZIONI SCIENTIFICHE

Comunicazioni orali e poster

Sono previste sessioni parallele di comunicazioni orali.

Il tempo per l'esposizione delle comunicazioni orali sarà di 13 minuti (compresa la discussione).

I poster dovranno avere le dimensioni standard di cm. 70x100 e potranno essere esposti negli appositi pannelli allestiti presso l'Area Poster situata nella sede congressuale a partire dalle ore 11.00 del 12 settembre e dovranno essere disallestiti entro le ore 13.00 del 14 settembre.

La visita all'Area poster sarà prevista durante i coffee breaks nei giorni 13 e 14 settembre, così come indicato nel programma scientifico.

INFORMAZIONI TECNICHE

Servizi tecnici

Nelle sale congressuali sarà disponibile un servizio di videoproiezione da PC. Le presentazioni in PowerPoint devono essere consegnate al personale presente nelle sale almeno un'ora prima dell'intervento. Non è previsto l'utilizzo di strumentazione propria.

Badge

Il badge è un documento personale e non cedibile. Viene consegnato a chi è in possesso di una regolare iscrizione e permette l'accesso all'area congressuale, all'area espositiva e alle sessioni scientifiche. È l'unico documento valido per ritirare l'attestato di partecipazione.

Attestato di partecipazione

Al termine del Congresso verrà rilasciato a tutti i partecipanti regolarmente iscritti un attestato di partecipazione.

PROGRAMMA SOCIALE

Cerimonia di inaugurazione e cocktail di benvenuto

La Cerimonia di inaugurazione si tiene il giorno mercoledì 12 settembre alle ore 19.00 presso l'Aula Magna del Centro Congressi Federico II - Via Partenope 36, Napoli

Alle ore 20.30, al termine della Cerimonia di inaugurazione, è previsto il cocktail di benvenuto.

Cena sociale

La Cena sociale si svolge giovedì 13 settembre alle ore 20.00 presso il Club Nautico della Vela (Piazzetta Borgo Marinari 12 - Napoli).

Il Ristorante, dotato di una splendida terrazza affacciata sul Golfo di Napoli, è situato nel cuore del Borgo dei Marinari, ai piedi del Castel dell'Ovo. Si trova a pochi minuti a piedi dalla sede del Congresso.

La Cena sociale non è compresa nella quota di iscrizione e può essere prenotata al costo di 50,00 (IVA inclusa) per persona.

In sede congressuale sarà possibile la prenotazione solo previa disponibilità di posti entro le ore 13.00 di mercoledì 12 settembre.

I SEGRETI DELLE PECORE

un film di

Lorenzo Macioce e Sergio Rossi

con la collaborazione di

Corrado Buccelli

musica

Davide Vallini

montaggio

Lorenzo Macioce

produzione

Achabfilm

riprese e regia

Sergio Rossi

(Durata 62' - Formato 16:9)

Il film è stato acquistato dalla televisione svizzera del Canton Ticino e mandato in onda con grande successo. La stessa televisione ha organizzato una proiezione del film a Bellinzona, capitale del Cantone, per l'associazione dei coltivatori di quella zona. In quell'occasione la radio svizzera ha intervistato in diretta telefonica il regista del film.

S. Andrea al CivileSCO è una frazione rurale del comune di Magliano in Toscana in provincia di Grosseto. Un agglomerato di piccole-medie aziende agricole a conduzione familiare sparse in questa parte di campagna maremmana. Un posto che conosco e frequento da anni e che ho cercato di raccontare per un tributo d'affetto verso questo luogo e per immettere nel circuito dell'immagini, attraverso questo microcosmo, aspetti del vivere del mondo agricolo contemporaneo. Prendendo in prestito un verbo del mondo contadino, ho "raccolto" scene di vita e di natura col desiderio di proporre qualcosa d'alternativo ad una sorta di "saturazione metropolitana" del racconto per immagini e il termine film usato per presentarlo, pur in assenza di attori professionisti e sceneggiatura, è una dichiarazione netta sulla sua vocazione narrativa lontana dal documentarismo e dall'inchiesta televisiva. Partendo dall'eterno succedersi delle stagioni, ho voluto, infatti, comporre un racconto rapsodico, un mosaico di momenti di vita e di lavoro, individuali e collettivi senza rinunciare a mettere in evidenza alcuni 'protagonisti' (come l'adolescente Giacomo e la sua famiglia) e cercando di far emergere, a volte in filigrana, la perenne subordinazione del lavoro agricolo, nonostante la meccanizzazione, agli umori del tempo, la sostanziale equiparazione 'estetica' soprattutto nei giovani fra città e campagna, la qualità del rapporto fra generazioni (nonni-nipoti), l'attaccamento ad alcuni svaghi tradizionali, l'orgoglio, tipicamente maremmano, di vivere e appartenere a questa terra.

Sergio Rossi

RITORNO SUI MONTI NAVIGANTI

un film scritto e diretto da
Alessandro Scillitani

testi e voce fuori campo
Paolo Rumiz

Ricerche e interviste
Elisa Brivio, Marco Ciriello, Paolo Rumiz, Alessandro Scillitani

con
Paolo Rumiz, Albano Marcarini, Franco Arminio, Marco Revelli

musiche originali
Alessandro Scillitani

arrangiate ed eseguite da
Tommi Prodi, Marco Macchi, Stefano Ferrari

prodotto da
Artemide Film

(Durata 76' - Formato 16:9 - Anno 2017)

Il film ripercorre il viaggio compiuto da Paolo Rumiz nel 2006, a bordo di una Topolino, lungo l'Appennino.

Il racconto parte simbolicamente con il ritorno di Paolo Rumiz nel luogo dove oggi la Topolino è parcheggiata, e si dipana lungo la penisola, in compagnia di quella straordinaria rete di persone che Rumiz ha conosciuto nei suoi viaggi. Un racconto corale di resistenza e di energie positive, con il contrappunto della voce fuori campo di Paolo Rumiz.

Una ricerca delle piccole grandi vite di chi, anche e soprattutto in tempi di terremoti e post-terremoti, crisi economica e disoccupazione diffusa, con la semplicità, il contatto con la natura e con la terra, le idee e la voglia di immaginare e costruire un mondo diverso e migliore, rappresenta il motore sano della nostra penisola.

Torniamo a percorrere idealmente i luoghi dell'Italia minore, con passo lento, a velocità sostenibile.

Vincitore del Premio del Pubblico al Film Festival della Lessinia.

XXIII
CONGRESSO
NAZIONALE
SIPAOC

KEYNOTE

Il Programma Europeo SHEEPNET: condivisione di competenze ed esperienze sulla produttività degli ovini attraverso la costituzione di una rete di lavoro

CARTA A

Agris Sardegna, Sassari, Italia

Parole chiave - Riproduzione, produttività, trasferimento interattivo

Le produzioni di carne e latte ovine sono delle filiere agricole molto importanti in Europa e nelle nazioni confinanti. In Europa sono presenti 85 milioni di capi ovini in 830.000 aziende. Tuttavia il comparto è in declino e dal 2000 il numero di allevatori in EU si è ridotto del 50%.

SheepNet (Sharing Expertise and Experience towards sheep Productivity through NETworking - *(condivisione di competenze ed esperienze sulla produttività degli ovini attraverso la costituzione di una rete di lavoro)*) è una rete estesa in tutta Europa che coinvolge partners dalle sei principali nazioni europee interessate dall'allevamento ovino e la Turchia (Figura 1), ed è aperta a produttori ovini e attori delle filiere provenienti da tutte le nazioni europee. SheepNet si occupa di innovazione orientata alle applicazioni pratiche per migliorare i tre fattori chiave che condizionano la produttività negli ovini, nello specifico efficienza della riproduzione, efficienza della gestazione e riduzione della mortalità degli agnelli. Il progetto SheepNet identificherà delle modalità di scambio permanente di conoscenze scientifiche e pratiche fra ricercatori, allevatori e assistenti tecnici/consulenti in tutta Europa con l'obiettivo appunto di migliorare la produttività degli ovini.

Implementazione di SheepNet - In ciascuna delle 7 nazioni, un Facilitatore della Rete stimolerà l'approccio multi-attore e assicurerà il flusso di informazioni a livello nazionale ed europeo. I facilitatori saranno supportati da un gruppo di lavoro tecnico-scientifico e da gli attori della filiera attraverso un sistema denominato Sheep-AKIS (Agriculture Knowledge Innovation system - *sistema per la conoscenza e l'innovazione in agricoltura*). SheepNet è organizzato in 5 fasi (Figura 2).

Obiettivi di SheepNet

- Produrre un serbatoio di informazioni scientifiche, tecniche e pratiche attraverso un approccio combinato "top-down and bottom-up".
- Stimolare lo scambio di idee (cross-fertilization) attraverso incontri tra i molteplici attori delle del comparto a livello nazionale e internazionale, e una ampia e attiva partecipazione della "comunità ovina".
- Sviluppare un insieme di materiali di supporto facil-

mente comprensibili per la comunicazione e formazione, strumenti basati sul web, una piattaforma interattiva progettata per aiutare i ricercatori, gli allevatori e gli assistenti tecnici/consulenti.

Impatto di SheepNet

- Stimolare il flusso di informazioni tra attori della filiera a livello nazionale e europeo.
- Proporre soluzioni pratiche e innovative alle problematiche identificate dai produttori.
- Produrre materiale per il trasferimento della conoscenza disponibile sul lungo termine.
- Supportare il Partenariato Europeo per l'Innovazione per una produzione ovina sostenibile.

<http://www.sheepnet.network/>



Fig. 1 - Le 7 nazioni coinvolte in SheepNet.

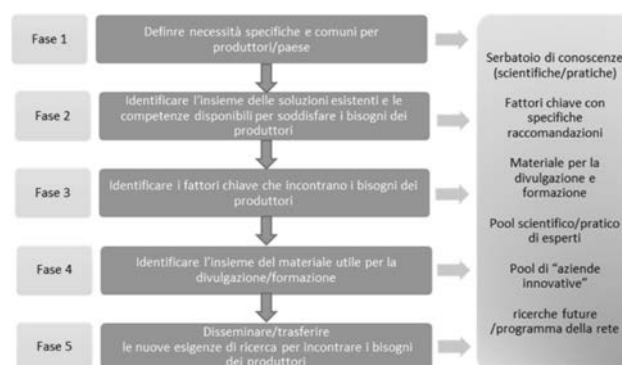


Fig. 2 - SheepNet è organizzato in 5 fasi.

Caratterizzazione molecolare della biodiversità di tre razze caprine della Calabria tramite un pannello di marcatori SNP a media densità

COLLI L^{1,2}, DE NARDO F³, BIGI D^{3,4}, VAJANA E^{1,5}, EUFEMI E¹, RUSSO IM⁶, OROZCO TER WENGEL P⁶, CREPALDI P⁷, JOOST S⁵, BRUFORD MW⁶, AJMONE-MARSAN P^{1,2}, THE CLIMGEN CONSORTIUM⁸

¹Dipartimento DIANA, Università Cattolica del S. Cuore, Piacenza, Italy; ²BioDNA Centro di Ricerca sulla Biodiversità e sul DNA Antico, Università Cattolica del S. Cuore, Piacenza, Italy; ³RARE - Associazione Italiana Razze Autoctone a Rischio di Estinzione, Italy; ⁴Dipartimento DISTAL, Università di Bologna, Italy; ⁵Laboratory of Geographic Information Systems, École Polytechnique Fédérale de Lausanne, Switzerland; ⁶School of Biosciences, Cardiff University, Cardiff, Wales (UK); ⁷Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Milano, Italy; ⁸<https://climgen.bios.cf.ac.uk/>

Parole chiave - capre italiane, biodiversità, adattamento, marcatori SNP.

Introduzione - Il progetto ClimGen - Climate Genomics for Farm Animal Adaptation (<https://climgen.bios.cf.ac.uk/>), ha come obiettivo l'identificazione e l'uso delle tecniche 'omiche per incrementare la resilienza ai cambiamenti climatici nelle specie d'interesse zootecnico. Grazie alla collaborazione di un team internazionale di ricercatori, all'esperienza e alle informazioni accumulate nel corso di precedenti progetti di ricerca, ClimGen mira a identificare gli strumenti genomici e i biomarcatori più idonei per predire le potenzialità di adattamento agli stress associati alle fluttuazioni nei regimi di temperatura e umidità ambientali in quattro specie domestiche: bovino, maiale, capra e pecora.

Per raggiungere questi obiettivi, nelle fasi iniziali del progetto sono stati censiti i dati molecolari derivanti da precedenti progetti di ricerca o accessibili tramite le banche dati pubbliche, prestando particolare attenzione alla disponibilità di "metadati", ovvero informazioni su provenienza geografica, fenotipi di interesse legati alle caratteristiche individuali o produttive, resistenza o suscettibilità a malattie ecc.. Le popolazioni domestiche per cui erano contemporaneamente disponibili sia i dati molecolari sia i metadati sono quindi state scelte per costituire i "casi studio" del progetto. L'operazione di censimento dei database ha, inoltre, messo in evidenza quali fossero le aree del continente Europeo e del Mediterraneo caratterizzate da dati scarsi o assenti, e ha permesso al team di ClimGen di identificare le razze di bovini e ovini e caprini più adatte per essere caratterizzate dal punto di vista molecolare e fenotipico.

Nel caso della penisola italiana, i casi studio selezionati sono rappresentati dalle razze bovine Romagnola e Podolica, e dalle razze caprine Rustica di Calabria (RDC), Capra dell'Aspromonte (ASP) e Nicastrese (NIC). Il campionamento di queste ultime è stato effettuato grazie ad una collaborazione tra il team di ClimGen e R.A.R.E. - Associazione Italiana Razze Autoctone a Rischio di Estinzione.

Materiali e metodi - Affinché le informazioni molecolari e fenotipiche fossero in grado di rappresentare adeguatamente la variabilità entro razza, le attività di campionamento e di raccolta dei metadati sono state eseguite in più allevamenti scelti all'interno dell'area di distribuzione originale delle razze (Fig.1). Seguendo le normative internazionali vigenti, in ogni allevamento sono stati campionati 1-2 maschi e 3-6 femmine, scelti tra gli animali meno imparentati. Le informazioni fenotipiche sono state raccolte sul campo grazie ad apposite schede standard allestite dal team di ClimGen per la raccolta dati dei nuovi casi studio.

Dopo l'estrazione e la verifica quali-quantitativa del DNA, 92 campioni (Rustica di Calabria n=26, Capra dell'Aspromonte n=40, Nicastrese n=26) sono stati selezionati per la genotipizzazione con Illumina Go-

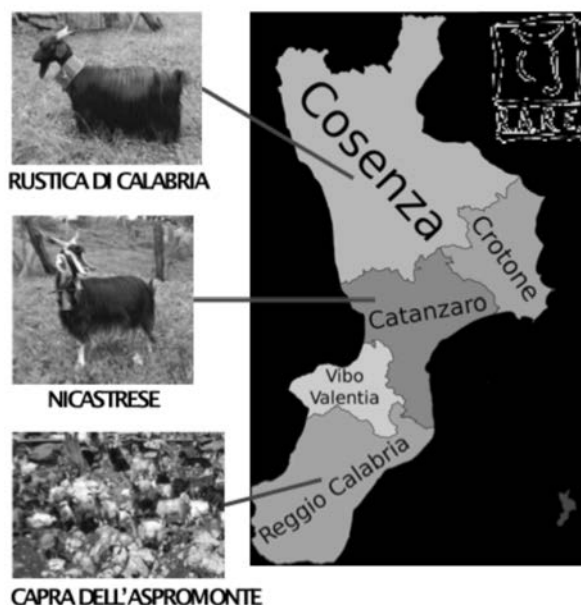


Fig. 1 - Provenienza geografica delle tre razze caprine della Calabria caratterizzate nel corso del progetto ClimGen.

atSNP50 BeadChip, un pannello standard contenente 50mila marcatori SNP (Tosser-Klopp et al., 2014).

I profili genotipici ottenuti e i metadati ad essi associati sono stati caricati nel database del progetto (<http://bioinformatics.tecnoparco.org/climgen/>), uno strumento dedicato alla raccolta, sintesi e consultazione delle informazioni inerenti i casi studio di ClimGen.

I dati molecolari delle tre razze in oggetto sono stati sottoposti a controllo qualità con il software Plink 1.9 (Purcell et al., 2007) e successivamente analizzati per i) valutare i livelli di variabilità attraverso i pacchetti di R GenABEL (Aulchenko et al., 2007) e BITE (Milanesi et al., 2017); ii) analizzare la struttura genetica (software Admixture v1.3.0; Alexander et al., 2009) e iii) valutare le relazioni evolucionistiche con le altre popolazioni caprine italiane (software Treemix; Pickrell et al., 2012), rappresentate dal dataset raccolto e analizzato dall'Italian Goat Consortium (Nicoloso et al., 2015).

Risultati e considerazioni - L'impiego del pannello standardizzato di marcatori SNP ha permesso di ottenere profili genotipici di elevata qualità per 91 animali sui 92 analizzati.

Le analisi effettuate hanno mostrato che le tre popolazioni caprine della Calabria sono caratterizzate da buoni livelli di variabilità genetica, con valori di eterozigosi osservata pari a ASP $H_0 = 0,39$, NIC $H_0 = 0,38$ e RDC $H_0 = 0,40$. La struttura di popolazione valutata nel contesto italiano ha evidenziato che le tre razze, nonostante le chiare differenze fenotipiche, possiedono un pool genetico estremamente simile e affine a quello di altre popolazioni caprine dell'Italia meridionale, soprattutto all'Argentata dell'Etna e alla Messinese.

Nel caso della Capra dell'Aspromonte è, inoltre, emerso un possibile contributo genetico derivante dalla razza Girgentana. L'analisi delle relazioni evolucionistiche ha indicato altri probabili eventi di flusso genico diretti 1) dal ceppo ancestrale delle razze Maltese e Sarda Maltese verso Nicastrese, Capra dell'Aspromonte e Girgentana, e 2) dalla Maltese verso la Rustica di Calabria.

Attualmente sono in corso ulteriori indagini volte ad identificare la presenza di segnali di selezione e adattamento alle condizioni ambientali, in particolare attraverso il confronto tra i dati genotipici delle tre popolazioni calabresi e quelli delle razze dell'Italia settentrionale quali la Camosciata, la Valdostana, l'Orobica e la Bionda dell'Adamello. Simili analisi condotte nel corso del progetto ClimGen in popolazioni caprine della Romania hanno permesso di identificare una probabile associazione tra l'entità di irraggiamento solare nei mesi più caldi e le varianti genetiche presenti in regioni del ge-

noma coinvolte nell'insorgenza del melanoma.

Le indicazioni che dovessero emergere circa la presenza di possibili varianti adattative nelle tre razze in corso di studio potranno essere impiegate per i) valorizzare la biodiversità delle capre italiane, e ii) identificare gli individui portatori di genotipi utili da diffondere nelle popolazioni attraverso idonei piani di accoppiamento.

Ringraziamenti - Desideriamo ringraziare la dott.ssa Chiara Catananti e la dott.ssa Roberta Maria D'Alessio per il loro contributo nelle fasi di lavoro in laboratorio e per l'informatizzazione dei metadati.

Molecular characterisation of three goat breeds from Calabria region (Southern Italy) by means of a medium-density snp panel

Key words - Italian goats, biodiversity, adaptation, SNP markers.

Bibliografia

- Alexander DH, Novembre J, Lange K. (2009), Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Res.* 19: 1655–1664. doi:10.1101/gr.094052.109
- Aulchenko YS, Ripke S, Isaacs A, van Duijn CM. (2007), GenABEL: an R library for genome-wide association analysis. *Bioinformatics* 23: 1294–1296. doi:10.1093/bioinformatics/btm108
- Milanesi M, Capomaccio S, Vajana E, Bomba L, Garcia JF, Ajmone-Marsan P, et al. (2017), BITE: an R package for biodiversity analyses. *bioRxiv* 181610. doi: <https://doi.org/10.1101/181610>
- Nicoloso L, Bomba L, Colli L, Negrini R, Milanesi M, Mazza R, et al. (2015), Genetic diversity of Italian goat breeds assessed with a medium-density SNP chip. *Genet. Sel. Evol.* 47: 62. doi: 10.1186/s12711-015-0140-6
- Pickrell JK, Pritchard JK. (2012), Inference of Population Splits and Mixtures from Genome-Wide Allele Frequency Data. *PLOS Genet.* 8: e1002967. doi:10.1371/journal.pgen.1002967
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D, et al. (2007), PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *Am. J. Hum. Genet.* 81: 559–575. doi:10.1086/519795
- Tosser-Klopp G, Bardou P, Bouchez O, Cabau C, Crooijmans R, Dong Y, et al. (2014), Design and Characterization of a 52K SNP Chip for Goats. *PLOS ONE* 9: e86227. doi:10.1371/journal.pone.0086227

***Toxoplasma gondii*: parassita di moda o problema reale?**

Genchi M, Vismarra A, Kramer L

Sezione di Parassitologia, Dipartimento di Scienze Medico-Veterinarie, Università di Parma

Parole chiave: *Toxoplasma gondii*, toxoplasmosi, infezione

La toxoplasmosi è un'importantissima foodborne disease a livello mondiale che ha come agente causale *Toxoplasma gondii*. L'infezione è asintomatica in oltre l'80% dei casi riportati in Europa e Nord America, dove il genotipo di tipo II è predominante. Tuttavia questo parassita può essere molto pericoloso in soggetti immunodepressi/compromessi e la trasmissione transplacentare da madre infetta al feto, durante l'infezione primaria in gravidanza, può essere causa di cecità, difetti congeniti o morte fetale. Inoltre negli ultimi anni è stato messo in luce il ruolo che *T. gondii* può giocare in alcune malattie legate a patologie neurologiche come ad esempio la schizofrenia e il Parkinson.

La principale via di trasmissione di *T. gondii* è il consumo di cibo e acqua contaminati da oocisti rilasciate nell'ambiente con le feci del gatto o cisti tissutali contenute nella carne degli ospiti intermedi. In uno studio multicentrico europeo, tra il 30% e il 63% delle infezioni sono state attribuite al consumo di prodotti a base di carne cruda, mal cotta o poco cotta. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) la classifica in Europa come quarta causa di malattia nell'uomo e come terza nel Disability-Adjusted Life Year (DALY).

Le pecore e le capre sono una fonte importante per l'economia di molti paesi essendo, non sono una fonte di cibo per l'uomo, ma anche di lana, latte e pelli.

Le pecore e le capre sono comunemente infettate dal *T. gondii* con prevalenze variabili e la loro carne rivestono un'importante fonte di infezione sia in Europa che a livello mondiale. Diversi studi recenti condotti in Italia hanno riportato valori di prevalenza dell'infezione sostenuta da *T. gondii* che andavano dal 66% al 97% (Zedda et al., 2010, Chessa et al., 2014, Gazzonis et al., 2015, Bacci et al., 2017). I tassi maggiori si sono osservati nelle greggi transumanti avendo queste un rischio più elevato di ingerire le oocisti sporulate presenti nell'ambiente. Inoltre, *T. gondii* è un'importante causa di aborto in questi animali ed è stato segnalato come la causa di oltre il 25% degli aborti ovini (Gutierrez et al., 2012), dove può provocare la morte e il riassorbimento embrionale precoce, morte del feto e mummificazione, aborto, morte in utero e morte neonatale. La gravità dell'infezione è associata con lo stadio della gravidanza in cui la l'animale viene infettato. Le lesioni nei primi stadi della gravidanza risultano essere maggiormente gravi/fatali a causa della necrosi indotta dalla moltiplicazione del parassita all'interno di cellule ancora totipotenti.

Anche per quanto riguarda la capra come possibile fonte d'infezione per l'uomo, numerosi studi hanno evidenziato elevate prevalenze sia sierologiche che di isolamento del parassita (Hill e Dubey, 2013), suggerendo come anche la carne di capra possa essere una fonte importante per la trasmissione di *T. gondii* all'uomo.

Inoltre anche se poco si conosce riguardo all'escrezione di *T. gondii* nel latte di questo piccolo ruminante, i tachizoiti di *Toxoplasma* sono stati evidenziati nel latte di capra (Hill e Dubey, 2013), suggerendo come il consumo di latte crudo non pastorizzato possa causare un'infezione clinica nell'uomo. Infatti, casi di toxoplasmosi fatale nell'uomo sono stati collegati al consumo di latte di capra non sterilizzato e non pastorizzato (Sacks et al., 1982, Skinner et al., 1990). Inoltre, studi recenti hanno identificato il bere latte di capra non pastorizzato come fattore di rischio per la toxoplasmosi di recente acquisizione in donne in gravidanza negli Stati Uniti (Hill e Dubey, 2013).

La mancanza di una terapia vaccinale, il numero estremamente elevato di ospiti intermedi, l'ampissima distribuzione del suo ospite definitivo e la mancanza di un metodo ispettivo corrente che possa consentire la designazione di "Toxoplasma-free" per la carne hanno portato organismi internazionali come il WHO e l'EFSA a chiedere alla comunità scientifica un maggior intervento nei confronti di questa importantissima e talvolta sottovalutata zoonosi.

***Toxoplasma gondii*: fashionable parasite or real problem?**

Key words: *Toxoplasma gondii*, toxoplasmosis, infection

Bibliografia

- Bacci C, Vismarra A, Passeri B, Sciarrone F, Mangia C, Genchi M, Fabbi M, Vicari N, Bruini I, Brindani F, Kramer L. (2016), Detection of *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis tenella* in indigenous Cornigliese sheep in Italy using serological and molecular methods. *Small Ruminant Research* 135:13-16
- Chessa G, Chisu V, Porcu R, Masala G. (2014), Molecular characterization of *Toxoplasma gondii* Type II in sheep abortion in Sardinia, Italy. *Parasite* 21: 6.
- Gazzonis AL, Veronesi F, Di Cerbo AR, Zanzani SA,

-
- Molineri G, Moretta I, Moretti A, Piergili Fioretti D, Invernizzi A, Manfredi MT. (2015). *Toxoplasma gondii* in small ruminants in Northern Italy - prevalence and risk factors. *Ann Agric Environ Med.*;22(1):62-8.
- Gutierrez J, O'Donovan J, Proctor A, Brady C, Marques PX, Worrall S, Nally JE, McElroy M, Bassett H, Fagan J, Maley S, Buxton D, Sammin D, Markey BK. (2012), Application of quantitative real-time polymerase chain reaction for the diagnosis of toxoplasmosis and enzootic abortion of ewes. *J Vet Diagn Invest.* 24(5):846-54.
- Hill DE, Dubey JP. (2013), *Toxoplasma gondii* prevalence in farm animals in the United States. *Int J Parasitol.* 43(2):107-13.
- Sacks JJ, Roberto RR, Brooks NF. (1982), Toxoplasmosis infection associated with raw goat's milk. *JAMA.* 8;248(14):1728-32.
- Skinner LJ1, Timperley AC, Wightman D, Chatterton JM, Ho-Yen DO. (1990), Simultaneous diagnosis of toxoplasmosis in goats and goatowner's family. *Scand J Infect Dis.*22(3):359-61.
- Zedda MT, Rolesu S, Pau S, Rosati I, Ledda S, Satta G, Patta C, Masala G. (2010), Epidemiological study of *Toxoplasma gondii* infection in ovine breeding. *Zoonoses Public Health.* 57(7-8):e102-8.
-

***Wohlfahrtia magnifica*: una minaccia silenziosa**

GIANGASPERO A¹, GAGLIO G², BRIANTI E²

¹Dipartimento S.A.F.E., Università di Foggia; ²Dipartimento Scienze Veterinarie, Università di Messina

Parole chiave - *Wohlfahrtia magnifica*, epidemiologia, segni clinici, prospettive

Introduzione - *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera: Sarcophagidae) è una delle più importanti specie di mosche agenti di miasi traumatiche obbligatorie degli ovini ed è responsabile di significative perdite economiche. Questa specie è diffusa in molti paesi del bacino del Mediterraneo, ma anche nelle regioni dell'Est Europa, del Nord-Africa, fino al continente asiatico e alle regioni steppiche dell'Europa continentale. Dopo l'accoppiamento, le mosche depongono le larve di I stadio sulle mucose, gli orifizi corporei e sulle ferite degli ospiti, dove penetrano in profondità e si sviluppano rapidamente causando gravi danni ai tessuti. In Europa, le larve di *W. magnifica* colpiscono fino al 90% degli allevamenti ovini (Hall e Farkas, 2000). La wohlfahrtiosi è stata segnalata in numerose altre specie di mammiferi (Farkas et al., 2009), uomo compreso (Cozzani et al., 2017). Benché la presenza dell'insetto adulto sia stata documentata circa 20 anni fa, in Italia, la wohlfahrtiosi continua ad essere una patologia parassitaria poco nota e assai sottostimata dagli allevatori. Il presente lavoro ha l'obiettivo di fornire un aggiornamento relativo alla diffusione della wohlfahrtiosi in Italia, evidenziando alcuni aspetti epidemiologici, clinici e gestionali.

Materiali e metodi - Dal 2008 al 2018, nel periodo compreso tra metà Aprile e fine di Ottobre, sono stati effettuati dei sopralluoghi in n.155 allevamenti di ovini, sia a seguito di segnalazione di miasi traumatiche (n. 2 allevamenti presenti nel Lazio, in provincia di Rieti e Roma, e n. 5 allevamenti in Puglia in provincia di Foggia), sia nell'ambito di una indagine epidemiologica n. 138 allevamenti in Molise (provincia di Isernia) e n. 10 allevamenti in Sicilia (provincia di Agrigento). In ciascuna azienda sono stati raccolti i dati relativi all'allevamento, al management, alla diffusione della parassitosi all'interno del gregge, alla presenza dell'infestazione su altre specie animali e anamnestici degli animali positivi compresa la localizzazione delle ferite. Tutti i soggetti sono stati controllati per la presenza delle larve e quando presenti, queste sono state rimosse, conservate in contenitori e portate in laboratorio per l'identificazione a livello di stadio e specie. Le mosche adulte presenti su e/o intorno alle ferite sono state raccolte con un retino entomologico, e identificate.

Risultati e considerazioni - I 155 allevamenti avevano una consistenza compresa tra 90 e 750 soggetti. Tutti gli animali erano allevati al pascolo e a un'altitudine tra

100 e 1350 m s.l.m. Le pecore - di razza Merinos, seguite da Gentile di Puglia, Sopravvisana, Siciliana e incroci - erano principalmente allevate per la produzione del latte (30%) o latte e carne (60%). In 40 allevamenti erano presenti anche capre, mentre in tutti gli allevamenti erano presenti i cani. Su tutti i soggetti si praticava la tosatura del vello a fine Maggio. Tra gli allevamenti sono state registrate infestazioni comprese tra 0,7 e 8,7% e una positività all'interno dei greggi che variava dallo 0,5 al 14,6%. La maggior parte degli animali infestati apparteneva alle razze incrociate (Merino e Gentile di Puglia). La localizzazione delle infestazioni era prevalentemente vulvare e prepuziale seguita dalla base della coda e sul perineo, e altri distretti anatomici, quali il canto medio di uno o entrambi gli occhi. Le ferite erano costituite da uno a tre foci, isolati o confluenti in una grande lesione. Le larve raccolte dalle lesioni erano nella maggior parte dei casi nella stessa fase di sviluppo, ma in alcuni casi erano presenti larve a diverso stadio di sviluppo, indice di infestazioni ripetute. Gli animali infestati mostravano irrequietezza, ansia e riluttanza al pascolo. Tutte le larve raccolte sono state identificate come *W. magnifica*. Le mosche adulte, catturate intorno e sulle ferite, sono state identificate come *Musca autumnalis*. La presenza di questa infestazione è stata registrata a tutte le altitudini, particolarmente nei maschi, e, tra la fine di Maggio e l'inizio di Settembre, a partire dal 2005 nel Lazio, tra il 2007 e il 2009 in Molise e dal 2010 in Sicilia e dal 2013 in Puglia. Gli allevatori hanno riferito di non effettuare alcuna profilassi ma di trattare solo localmente le ferite con disinfettanti (creolina o cloramfenicolo spray). I risultati ottenuti, oltre a fornire una fotografia aggiornata sulla diffusione, gli aspetti epidemiologici e clinici della miasi da *W. magnifica* in Italia, suggeriscono una recente colonizzazione delle regioni centrali da parte dell'insetto e la sua progressiva espansione geografica, indipendentemente dall'altitudine (Giangaspero et al., 2014). Inoltre, il suo rilievo in razze autoctone (Gentile di Puglia e incroci) indica che l'infestazione è da considerarsi endemica. Interessante è il rilievo della wohlfahrtiosi anche nelle capre (Gaglio et al., 2011) e nei cani (Giangaspero et al., 2011; Gaglio et al. 2011). Tale rilievo assume particolare rilevanza anche alla luce delle recenti segnalazioni di wohlfahrtiosi nei cani in Calabria e in Puglia (Bonacci et al., 2013; Raele et al., 2018), suggerendo il possibile ruolo di specie "sentinella" (Farkas et al., 2009). La segnalazione di questa

miasi traumatica da parte dei tecnici del settore e una maggiore consapevolezza della sua importanza economica da parte degli allevatori, favorirebbero l'avvio di ricerche mirate sulla diffusione di *W. magnifica* nel territorio nazionale, allo scopo di migliorare le conoscenze, individuare le aree più a rischio, selezionare molecole efficaci e avviare adeguati programmi di controllo.

***Wohlfahrtia magnifica*: a silent threat**

Key words: *Wohlfahrtia magnifica*, epidemiology, clinical signs, perspectives.

Bibliografia

- Bonacci T., Greco S., Whitmore D. e Curcio, U. (2013), First data on myiasis caused by *Wohlfahrtia magnifica* (Schiner, 1862) (Insecta: Diptera: Sarcophagidae) in Calabria, southern Italy. *Life: Excit. Biology*, 1, 197–201
- Cozzani E., Cioni M., Gariazzo L., Javor S, Parodi A. (2017), Furuncular myiasis due to *Wohlfahrtia magnifica* in an Italian patient. *Eur. J. Dermatol.* 27:402-403.
- Farkas, R., Hall, M.J., Bouzagou, A.K., Lhor, Y., Khal-laayoune, K., (2009), Traumatic myiasis in dogs caused by *Wohlfahrtia magnifica* and its importance in the epidemiology of wohlfahrtiosis of livestock. *Med. Vet. Entomol.* 23, 80–85.
- Giangaspero A., Traversa D., Trentini R., Scala A., Otranto, D. (2011), Traumatic myiasis by *Wohlfahrtia magnifica* in Italy. *Vet. Parasitol.* 175: 109–112.
- Gaglio G., Brianti E., Abbene S., Giannetto S. (2011), Genital myiasis by *Wohlfahrtia magnifica* (Diptera, Sarcophagidae) in Sicily (Italy). *Parasitol. Res.*, 109, 1471–1474.
- Giangaspero A., Brianti E., Traversa D., e Hall M. (2014), A retrospective and geographical epidemiological survey of traumatic myiasis in southern Italy. *Med. Vet. Entomol.* 28: 391-397.
- Hall M.J. e Farkas R. (2000), Traumatic myiasis of humans and animals. *Contributions to a Manual of a Palearctic Diptera* (ed. By L. Papp & B. Darvas), pp. 751–768. Science Herald, Budapest.
- Raele D.A., Galante D., Pugliese N., e Cafiero MA. (2017), Traumatic cutaneous myiasis by *Wohlfahrtia magnifica* in a stray dog in Italy. *J. Small Anim Pract.* 58: 539.

Antimicrobico resistenza e il mondo allevatorio

IOVANE G

Settore di Malattie Infettive, Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli studi di Napoli "Federico II"

Parole chiave - Resistenza antimicrobica, Microbiota, Ceppi multiresistenti.

Introduzione - La resistenza antimicrobica (AMR) e la morbilità e mortalità associate alle infezioni da patogeni batterici sono aumentate a livello globale a livelli allarmanti e la AMR si sta diffondendo rapidamente come una pandemia silenziosa.

Il progresso nella sanità pubblica attraverso l'introduzione di antibiotici nei confronti degli agenti infettivi è ora minacciato dallo sviluppo globale di ceppi multiresistenti. Questi ceppi sono il prodotto sia dell'evoluzione continua che dell'uso antimicrobico non controllato (AMU).

Infatti, sebbene l'uso di antibiotici nel bestiame ne abbia ampiamente contribuito alla salute e alla produttività, ha anche svolto un ruolo significativo nell'evoluzione dei ceppi resistenti. Di fatto l'AMU nelle produzioni animali è stato indicato quale fattore chiave per la AMR in tutto il mondo. Poiché si prevede che il consumo di proteine animali e la produzione animale associata aumenteranno notevolmente nei prossimi anni nei paesi a reddito medio-basso (LMIC), il monitoraggio accurato dell'AMU è diventato imperativo.

L'uso indiscriminato di antibiotici per il trattamento di infezioni umane e animali ha portato all'aumento della resistenza nei patogeni e nei batteri commensali. In particolare, gli animali da allevamento possono fungere da vettori per la diffusione di geni resistenti ai farmaci a causa dell'uso intensivo di antibiotici consentendo la selezione di geni associati a resistenza nei confronti di un'ampia gamma di agenti antimicrobici, compresi quelli normalmente usati nella medicina umana. Di conseguenza considerevoli sforzi sono stati posti in essere dalle Autorità nazionali per porre rimedio negli allevamenti zootecnici, ottenendo buoni risultati nella maggior parte delle specie ad eccezione di ritardi accumulati negli allevamenti di suini.

L'*Escherichia coli*, essendo un commensale diffuso, è considerato un buon indicatore dell'uso di antibiotici. Recentemente quest'ultimo sta emergendo come una minaccia globale, sviluppando livelli drammaticamente elevati di resistenza agli antibiotici a più classi di farmaci. La sua prevalenza negli animali da reddito è quindi allarmante e sono necessari ulteriori studi per accertare le dinamiche di diffusione tra la catena alimentare e gli esseri umani. In questo contesto, si dovrebbe prestare grande attenzione al rilevamento accurato della resistenza mediante metodi convenzionali e molecolari.

Nondimeno, recentemente è emersa una crescente quantità di dati sperimentali che dimostrano che i batteri ambientali sono resistenti a una moltitudine di sostanze antibiotiche e che questo serbatoio ambientale di AMR è ancora in crescita. L'analisi dei genomi dei patogeni batterici indica che essi hanno acquisito i loro profili di resistenza incorporando diversi elementi genetici attraverso il trasferimento genico orizzontale. Gli antenati dei batteri patogeni, così come l'origine dei determinanti di resistenza, si trovavano molto probabilmente nel microbiota ambientale. Infatti, ci sono alcune prove che almeno alcuni geni di resistenza clinicamente rilevanti hanno avuto origine in specie batteriche ambientali. Pertanto, sono necessarie misure attuabili per ridurre i rischi derivanti dai geni AMR e dai batteri resistenti presenti nell'ambiente. È stato dimostrato che una concomitanza di fattori, come alte concentrazioni di antibiotici o metalli pesanti usati come biocidi e alte densità batteriche, promuove lo sviluppo e la diffusione della resistenza antimicrobica. A tale scopo, è essenziale limitare l'uso di antibiotici per il trattamento del bestiame e degli esseri umani alle necessità mediche, nonché ridurre l'applicazione di biocidi e metalli pesanti nell'allevamento di animali. Programmi di sorveglianza efficaci e lodevolmente collegati a livello multidisciplinare possono contribuire a comprendere meglio e minimizzare l'emergere di resistenza. Inoltre, è necessaria una rinnovata enfasi sugli investimenti nella ricerca per trovare strategie alternative, sicure, convenienti e innovative, parallelamente alla scoperta di nuovi antibiotici. Inoltre, numerosi nuovi approcci diretti o indiretti basati sull'interazione ospite-microbi e sui meccanismi molecolari dei patogeni sono stati sviluppati e confermati dai ricercatori per combattere la minaccia di resistenza.

Bibliografia

- Cuong NV, Padungtod P, Thwaites G, Carrique-Mas JJ. (2018) Antimicrobial Usage in Animal Production: A Review of the Literature with a Focus on Low- and Middle-Income Countries. *Antibiotics* (Basel). Aug 15;7(3). pii: E75. doi: 10.3390/antibiotics7030075.
- Callens B, Cargnel M, Sarrazin S, Dewulf J, Hoet B, Vermeersch K, Wattiau P, Welby S. (2018) Associations between a decreased veterinary antimicrobial use and resistance in commensal *Escherichia coli* from
-

- Belgian livestock species (2011-2015). *Prev Vet Med.* Sep 1;157:50-58. doi: 10.1016/j.prevetmed.2017.10.013. Epub 2017 Oct 26.
- Kidsley AK, Abraham S, Bell JM, O'Dea M, Laird TJ, Jordan D, Mitchell P, McDevitt CA, Trott DJ. (2018) Antimicrobial Susceptibility of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. Isolates From Healthy Pigs in Australia: Results of a Pilot National Survey. *Front Microbiol.* Jul 9;9:1207. doi: 10.3389/fmicb.2018.01207.
- eCollection 2018.
- Munk P, et al. (2018) Abundance and diversity of the faecal resistome in slaughter pigs and broilers in nine European countries. *Nat Microbiol.* Aug;3(8):898-908. doi: 10.1038/s41564-018-0192-9. Epub 2018 Jul 23.
- Richardson EJ, et al. (2018) Gene exchange drives the ecological success of a multi-host bacterial pathogen. *Nat Ecol Evol.* Sep;2(9):1468-1478. doi: 10.1038/s41559-018-0617-0. Epub 2018 Jul 23.
-

L'allevatore risponde: il cane e i suoi parassiti

POGLAYEN G¹, FANTASIA L¹, ROCCARO M¹, ORSONI F², PELI A¹, MORANDI B¹

Alma Mater Studiorum, Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Bologna; 2Parco Nazionale dell'Appennino Tosco-Emiliano

Parole chiave - Cane pastore, endoparassiti, epidemiologia.

Introduzione - Mentre molto si è fatto e si va facendo per approfondire le conoscenze sui parassiti dei cani da compagnia, ben poco conosciamo della situazione dei cani da pastore. Questa lacuna appare particolarmente grave perché sono questi ultimi che possono albergare e diffondere un parassita, *Echinococcus granulosus*, dal potenziale zoonotico di primaria importanza, soprattutto nel Bacino del Mediterraneo laddove l'allevamento ovi-caprino per la produzione del latte ha avuto le sue origini sin dal V° millennio a.C. Quando l'interesse economico prevale sulla Sanità Pubblica, le logiche commerciali che sottendono l'interesse per i parassiti del cane non considerano questa categoria di animali. Anche in questo campo *Homo economicus* prevale su *H. sapiens*. Non dobbiamo inoltre dimenticare che mentre si registra una notevole evoluzione tecnologica anche all'interno dell'allevamento ovi-caprino, molte aziende operano ancora a livello tradizionale e quindi sono tendenzialmente isolate dal contesto sociale e più restie ad interfacciarsi con la comunità scientifica. In queste realtà, mentre l'interesse per i parassiti degli ovini è abbastanza sviluppato in quanto soggiace a logiche economiche, quello per i parassiti del cane, che rimane un elemento essenziale nell'ambito della gestione aziendale, è del tutto trascurato. Per colmare questa lacuna abbiamo intrapreso un'indagine coprologica che non poteva prescindere da una serie di informazioni epidemiologiche ottenute con una scheda di acquisizione dati, all'uopo creata.

Materiali e metodi - Sono state incluse nello studio aziende che allevano ovi-caprini dotate di cani da pastore, prerogativa fondamentale per i nostri scopi. Il reclutamento è stato effettuato grazie al coordinamento congiunto dell'AUSL di Bologna e il WAC (*Wolf Apennine Center*). In totale sono state coinvolte 30 aziende locate in 2 regioni (Emilia-Romagna e Toscana), nelle province di Bologna, Reggio-Emilia, Ferrara, Parma, Rimini e Massa Carrara. La selezione degli allevatori è avvenuta sulla base della loro disponibilità ad essere intervistati e a permetterci la visita in azienda, dalla quale sono stati raccolti campioni di feci canine durante il periodo giugno-novembre 2017. A testimoniare le difficoltà intrinseche nella raccolta del materiale in campo, solo in due terzi delle aziende è stato possibile recuperare campioni per un totale di 105. Questi sono stati

congelati a -80°C per 10 giorni prima di essere sottoposti ad esame coprologico per la ricerca di parassiti intestinali. Il congelamento si è reso necessario per tutelare la sicurezza dell'operatore. Tale procedura permette infatti di devitalizzare totalmente gli eventuali oofori infettanti di *E. granulosus* (Deplazes et al., 2017). Previo scongelamento si è poi proceduto con l'esame copromicroscopico per sedimentazione e successiva flottazione con soluzione a peso specifico 1300. La metodica è stata scelta in quanto a nostro avviso appare più adatta ad evidenziare uova che abbiano subito lo stress del brutale congelamento che potrebbe averne modificato la morfologia.

Risultati e considerazioni - Le trenta aziende erano così territorialmente distribuite: 11 in provincia di Bologna (36%), 9 in provincia di Reggio-Emilia (29%), 4 a Massa Carrara (14%), 2 a Rimini (7%), 3 a Parma (11%) ed una a Ferrara (3%). In base alla morfologia dei territori 14 in collina, 13 in montagna e solo 3 erano site in pianura. La loro localizzazione ne ha viste 2 in un contesto suburbano, 13 rurale e 16 isolato. L'indirizzo produttivo era a favore del latte (14/30), seguito dalla carne (11/30) e solo 5 su 30 affermavano una duplice attitudine. Due strutture allevavano solo capre, 17 solamente ovini e 11 entrambe le specie. Si tratta comunque di aziende di modesta entità zootecnica: solo 9 possedevano più di 200 capi (37%), 6 si attestavano in un *range* di 101-200 capi, 11 da 31 a 100 capi e solo 4 con un numero uguale o inferiore a trenta. Animale di bassa corte, bovini, equini e suini completavano il quadro zootecnico. Quasi tutte stanziali, solamente quattro praticavano una modesta transumanza. Il totale dei cani censiti è stato di 184, di cui 91 da guardiania, 45 da conduzione, 41 da compagnia e 7 da tartufo. Questi ultimi in sede di elaborazione sono stati accorpati a quelli da compagnia in quanto ritenuti marginali per gli scopi della nostra ricerca. Solo il 65% dei soggetti risulta essere stata vaccinata, stessa percentuale privilegia il trattamento contro gli endoparassiti. I prodotti più gettonati sono associazioni all'interno delle quali è presente il praziquantel, molecola efficace nei confronti dei cestodi. Per l'alimentazione venivano utilizzati: *pet-food*, pane e siero di latte, scarti casalinghi, carne cotta e una percentuale attorno al 40% di carne cruda.

In 20 aziende siamo riusciti a raccogliere complessivamente 105 campioni in rappresentanza di 132 cani presenti. La positività per almeno un parassita a livello di allevamento è risultata dell'80%: 60% per tricocefali, 35% per cestodi e 25% per ascaridi. La maggior parte (45%) delle aziende erano monoparassitate, il 30% biparassitate e solo il 5% triparassitate. In riferimento ai campioni raccolti, quasi il 50% è risultato positivo, più rappresentati i tricocefali seguiti dai cestodi e dagli ascaridi.

Conclusioni - Questa esperienza in epoca moderna sembra essere la seconda con un approccio di questo tipo, la prima infatti realizzata nella Maremma toscana è ancora in corso di pubblicazione. Dobbiamo osservare che, considerato l'ambiente sociologico, il nostro campionamento può essere definito sotto il profilo epidemiologico come "di convenienza" (Dohoo et al., 2013). La positività per parassiti esprime quanto affermato in premessa circa uno scarso interesse per la salute del cane, confermato anche da un basso livello delle vaccinazioni e dei trattamenti antiparassitari (65%). I parassiti riscontrati rispecchiano alcune loro peculiarità relative alla resistenza delle uova ed ai fenomeni di accumulo nel grosso intestino (tricocefali), all'alimentazione (cestodi) ed alla giovane età dei soggetti (ascaridi). Se questi risultati possono avvicinarsi a quelli dell'esperienza maremmana, per altro più strutturata con l'analisi di un terzo delle aziende presenti nell'area e di circa 600 campioni processati, una differenza parassitologicamente importante è risultata l'assenza degli anchilostomatidi. La possiamo attribuire alle differenti caratteristiche pedoclimatiche delle aree indagate. In en-

trambe le esperienze preoccupante è l'elevata presenza di cestodi, fra cui potrebbe annidarsi il temuto *E. granulosus*. L'indistinguibilità delle uova ci permette solamente di sospettarlo in considerazione delle abitudini alimentari che abbiamo visto perpetrare, ma siamo impegnati a risolvere il problema attraverso analisi molecolari. Siamo trasaliti nell'udire che qualche pastore ancora utilizza le pecore decedute per alimentare i propri cani. Questo rischio ancora una volta riporta alla nostra attenzione il crudo appellativo con cui l'Organizzazione Mondiale della Sanità definisce l'echinococcosi cistica come "vergogna sociale", a sancire l'incomunicabilità fra una pastorizia tradizionale e i Servizi Veterinari. Non esiste praziquantel più efficace dell'educazione sanitaria, sarà meglio ricordarcelo.

The Shepherd answers: the dog and its own parasites

Key words: Shepherd-dogs; endoparasites; epidemiology

Bibliografia

- Deplazes P., Rinaldi L., Alvarez Rojas C.A., Torgerson P.R., Harandi M.F., Roming T., Antolova D., Schrufer J.M., Lahmar S., Cringoli G., Mogambo J., Thompson R.C.A., Jenkins E.J. (2017), "Chapter six-Global distribution of Alveolar and Cystic Echinococcosis" in Thompson R.C.A., Deplazes P., Lymbery A.J. *Advance in Parasitology* 95: 315-493.
- Dohoo I, Martin W., Stryhn H. (2013) *Veterinary Epidemiologic Research*. VER Inc. 2nd Edition Charlottetown, Canada.

Utilizzo di grassi nella dieta nella capra da latte: metabolismo e stato di salute

SAVOINI G, FARINA G, AGAZZI A, INVERNIZZI G

Dipartimento di Scienze veterinarie per la salute, la produzione animale e la sicurezza alimentare (VESPA), Università degli Studi di Milano

Parole chiave: capra da latte in transizione, acidi grassi polinsaturi, metabolismo lipidico

L'utilizzo di grassi nella dieta dei ruminanti è attualmente una comune pratica alimentare. La conoscenza del metabolismo lipidico ruminale unita all'evoluzione tecnologica hanno permesso l'impiego di dosaggi che in condizioni fisiologiche comporterebbero problemi all'animale e influenzerebbero negativamente la qualità dei prodotti. Negli ultimi decenni, in seguito alla consapevolezza che i lipidi sono in grado di agire come ormoni e controllare i fattori di trascrizione coinvolti nel metabolismo lipidico, la sintesi lattea ed il sistema immunitario, è cresciuto un forte interesse sulle modalità di azione dei differenti acidi grassi. Tipicamente, la maggior parte degli acidi grassi che costituiscono il grasso corporeo di un ruminante è saturo, questo in seguito al processo di bioidrogenazione degli acidi grassi insaturi a lunga catena (PUFA) operato dai batteri ruminali. Questo processo, grazie al quale si ha la formazione di composti come i coniugati dell'acido linoleico (CLA) ricopre un ruolo molto importante ed al tempo stesso rappresenta una fonte di forte variabilità tra il profilo acido della dieta e quello dei prodotti di origine animale (Bauman e Lock, 2006).

La composizione acidica del grasso utilizzato nella dieta ha quindi assunto maggiore rilevanza sia da un punto di vista della qualità dei prodotti derivati sia dal punto di vista nutrizionale e gestionale dell'animale. In questo contesto, se in un'ottica di arricchimento dei prodotti di origine animale con alimenti funzionali, i PUFA -3 riscuotono un indiscusso favore grazie agli studi che hanno dimostrato i loro benefici sul miglioramento della salute umana nel lungo periodo (Shingfield et al., 2008), anche per quanto riguarda la capacità di agire sulla salute dell'animale e sul metabolismo lipidico dei ruminanti questi composti ed in particolare quelli di origine marina hanno mostrato un elevato potenziale (Pisani et al., 2009, Bronzo et al., 2010, Lecchi et al., 2011).

Una serie di studi in vitro su neutrofili e monociti caprini ha infatti evidenziato la capacità degli acidi eicosapentaenoico (EPA) e docosaesaenoico (DHA), due acidi grassi caratterizzanti le fonti lipidiche di origine pelagica, di modulare la loro attività di difesa. In particolare, i monociti esposti a EPA e DHA hanno incrementato la loro attività fagocitica (Fig.1) (Lecchi et al., 2011). Hanno, inoltre, aumentato la loro espressione di PLIN2 e PLIN3, geni coinvolti nella formazione e nella movimentazione del contenuto degli adiposomi, ed hanno aumentato il loro tasso di apoptosi, suggerendo

una modalità di azione legata alla formazione e al funzionamento degli adiposomi (Lecchi et al., 2013). In funzione delle promettenti azioni sulla risposta immunitaria e sul metabolismo lipidico, una dieta arricchita con EPA e DHA (olio di pesce) è stata utilizzata in uno studio su capre da latte durante il periparto (Invernizzi et al., 2016). Lo studio ha coinvolto 23 Camosciate delle Alpi dalla settimana precedente il parto fino al ventunesimo giorno di lattazione. Gli animali sono stati suddivisi in 3 gruppi, due dei quali alimentati con diete addizionate con 30 g/capo/d (preparto) e 50 g/capo/d (post parto) di acidi grassi: una fortemente insatura con olio di pesce e una satura a base di stearato. Lo studio istologico delle biopsie epatiche e adipose ha evidenziato un'importante azione delle differenti fonti di acidi grassi sulla modulazione della lipomobilizza-

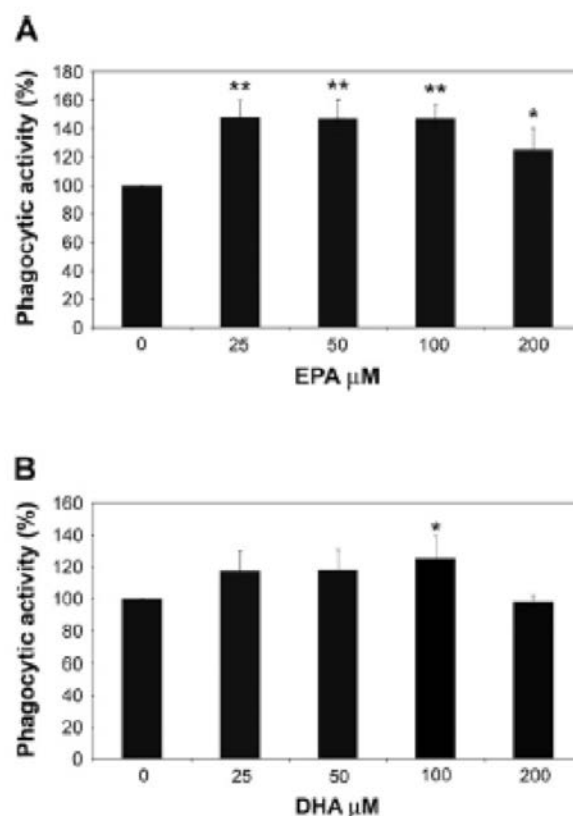


Fig. 1 - Effetto di EPA (A) e DHA (B) sull'attività fagocitica di monociti caprini (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; Lecchi et al., 2011, modificata)

zione nel post parto. In particolare, si è osservata una riduzione della mobilitazione delle riserve corporee entro le 3 settimane dal parto nel gruppo alimentato con olio di pesce (Tab.1). Il quadro epatico ha inoltre evidenziato una situazione di infiltrazione lipidica del tessuto più graduale rispetto alle capre alimentate con diete ricche di acidi grassi saturi suggerendo un migliore adattamento da parte degli epatociti alla steatosi.

L'analisi molecolare dei tessuti prelevati ha mostrato un forte effetto delle differenti fonti lipidiche della dieta sull'espressione epatica del gene SCD che codifica per l'enzima stearoil-CoA desaturasi. La dieta ricca di acidi grassi saturi ha incrementato (1.8 volte) e sostenuto l'espressione di SCD al settimo e ventunesimo giorno postparto rispetto alla settimana precedente il parto. Diametralmente opposto l'effetto degli acidi grassi insaturi che ne hanno represso l'espressione ai giorni 7 e 21 postparto. I geni ACOX1 e ACAA1, che codificano per l'acil-CoA ossidasi perossisomiale e l'acetyl-CoA aciltransferasi 1, due enzimi operanti nella β -ossidazione sono stati up-regolati al giorno 7 dopo il parto in entrambi i trattamenti, e al giorno 21 l'espressione si è ridotta maggiormente nel tessuto epatico degli animali alimentati con acidi grassi saturi, suggerendo una maggiore azione sulla β -ossidazione da parte del trattamento con acidi grassi insaturi anche al ventunesimo giorno postparto (Caputo et al., 2014). SLC27A2, CPT1 che codificano rispettivamente per l'acil-CoA sintetasi a catena molto lunga e la carnitina-palmitoil transferasi sono stati influenzati incrementando la propria espressione dal preparto alla prima settimana di lattazione senza distinzioni tra i trattamenti ritornando a livelli leggermente negativi a 21 giorni. Nessuna variazione significativa è stata osservata per quanto riguarda i fattori di trascrizione PPARA e SREBF2 (Caputo et al., 2014, Farina et al., 2016). Per quanto riguarda il tessuto adiposo, l'arricchimento della dieta con grasso ha influenzato l'espressione di geni coinvolti nella sintesi di triacilgliceroli (LPIN1), nella regolazione della lipogenesi (THRSP) e dei recettori nucleari (SREBF1). LPIN1 è stato in particolare sovra espresso al giorno 7 postparto nel tessuto adiposo degli animali alimentati con PUFA ω -3 rispetto a quelli alimentati con stearato. Questo risultato è stato osservato anche da Thering et

al. (2009) in bovine da latte alimentate con diete addizionate con olio di pesce e olio di soia e supporta l'idea che i PUFA ω -3 siano in grado di agire sul metabolismo lipidico dell'adipocita contrastandone la lipolisi e/o aumentando la sintesi di trigliceridi e fosfolipidi (Reue e Zhang, 2008).

L'andamento dell'espressione di THRSP e SREBF1 è risultato molto simile tra loro e nei due gruppi sperimentali con una riduzione dell'espressione marcata tra -7 e 7 giorni con un'ulteriore diminuzione sebbene meno importante al giorno 21. In entrambi i casi il gruppo alimentato con olio di pesce ha mostrato una riduzione numericamente maggiore rispetto al gruppo stearato. Lo studio di miRNA legati all'attività pro-adipogenica non ha riscontrato differenze significative nella loro espressione.

Un ulteriore aspetto indagato nello studio è stata la risposta infiammatoria a livello di tessuto adiposo sottocutaneo durante il periparto in conseguenza della somministrazione di diete caratterizzate da apporti lipidici saturi e insaturi (Farina et al., 2017). Nessuna differenza per effetto del trattamento alimentare è stata osservata, tuttavia, differenze significative legate al periparto sono state evidenziate per IL8, IL10, HP, SAA3 e RXRA. IL8 e IL10, geni codificanti per le rispettive interleuchine, sono state sovra espresse nei giorni 7 e 21 postparto rispetto alla settimana antecedente il parto mentre una tendenza nel seguire il medesimo andamento è stata osservata per miR-221, che è coinvolto nell'infiammazione e nella lipolisi. HP e SAA3, geni codificanti per l'aptoglobina e la siero amiloide A, sono stati espressi maggiormente al giorno 7 postparto. È stato inoltre osservato un aumento dell'espressione di miR-155, coinvolto nell'infiltrazione di cellule immunitarie, dalla settimana preparto rispetto alla prima settimana di lattazione degli animali in tutti i gruppi sperimentali indipendentemente dal trattamento alimentare. I risultati ottenuti sono indicativi di una risposta di fase acuta nella prima settimana postparto a livello di tessuto adiposo in accordo con quanto è stato osservato nella specie bovina (Vailati-Riboni et al., 2016, Vailati-Riboni et al., 2017). Tuttavia, la riduzione dell'espressione di tutti i geni legati all'infiammazione presi in considerazione nello studio al giorno 21 dal

Tab.1 - Valore medio dell'area degli adipociti (μm^2) del tessuto adiposo sottocutaneo di capre da latte alimentate con una dieta basale (C), e arricchita con olio di pesce (FO) o acido stearico (ST) (Invernizzi et al., 2016, modificata)

Time	Treatment						P^i		
	C (n=4)	SD	FO (n=4)	SD	ST (n=4)	SD	Trt	Time	Trt*Time
-7	3200.00 ^d	1002	2877.69 ^d	876	3088.80 ^d	1010	0.60	<0.01	<0.01
7	1970.44 ^e	523	1801.80 ^e	548	2156.33 ^e	718			
21	1157.74 ^{h,f}	216	1851.85 ^{a,e}	638	1066.66 ^{b,f}	269			

^{a,b} I valori sulla stessa riga con apici differenti differiscono statisticamente ($P < 0.05$).

^{d-f} I valori nella stessa colonna con apici differenti differiscono statisticamente ($P < 0.05$).

parto, lascia presupporre nella capra una lipomobilizzazione di minor intensità rispetto alla bovina.

Lo studio dei meccanismi metabolici che regolano l'azione dei differenti acidi grassi nei differenti organi chiave è ancora all'inizio di una lunga strada. In particolare, gli studi sui piccoli ruminanti in tal senso sono ancora molto limitati, nonostante appaia notevole l'interesse e le potenzialità che queste conoscenze potrebbero portare e porteranno allo sviluppo e al miglioramento del sistema produttivo zootecnico.

Fat supplementation in dairy goats on lipid metabolism and health status

Key Words - peripartum dairy goats, PUFA, lipid metabolism

Bibliografia

- Bauman, D. E. e A. L. Lock. 2006. Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows. Tri-State Dairy Nutrition Conference, Proceedings.
- Bronzo, V., M. Puricelli, A. Agazzi, G. Invernizzi, M. Ferroni, P. Moroni, e G. Savoini. 2010. Effects of protected fish oil in the diet of periparturient dairy goats on phenotypic variation in blood and milk leukocytes. *Animal* 4(9):1510-1517.
- Caputo, J. M., G. Invernizzi, M. Ferroni, A. Agazzi, J. J. Loor, V. Dell'Orto, e G. Savoini. 2014. Liver gene expression in periparturient dairy goats fed diets enriched with stearate or PUFA. Page 402 in Proc. 65th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science. Wageningen Academic Publishers, Copenhagen, DK.
- Farina, G., G. Invernizzi, J. M. Caputo, A. Agazzi, V. Dell'Orto, J. J. Loor, e G. Savoini. 2016. Transcriptional regulation of lipid metabolism in transition dairy goats by fish oil and stearate. in EAAP Annual Meeting 2016. Wageningen Academic Publishers, Belfast, UK.
- Farina, G., G. Invernizzi, V. Perricone, A. Agazzi, D. Cattaneo, J. J. Loor, e G. Savoini. 2017. Fatty acid supplementation in transition goats: a transcriptional study related to inflammation. in EAAP Annual Meeting 2017. Wageningen Academic Publishers, Tallin, EE.
- Invernizzi, G., S. Modena, D. Corbani, V. Bronzo, L. F. Pisani, J. M. Caputo, A. Agazzi, V. Dell'Orto, e G. Savoini. 2016. Hepatic and subcutaneous adipose tissue variations in transition dairy goats fed saturated or unsaturated fat supplemented diets. *Small Rumin. Res.* 144:211-219.
- Lecchi, C., G. Invernizzi, A. Agazzi, M. Ferroni, L. F. Pisani, G. Savoini, e F. Ceciliani. 2011. In vitro modulation of caprine monocyte immune functions by omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Vet. J.* 189(3):353-355.
- Lecchi, C., G. Invernizzi, A. Agazzi, S. Modena, P. Sartorelli, G. Savoini, e F. Ceciliani. 2013. Effects of EPA and DHA on lipid droplet accumulation and mRNA abundance of PAT proteins in caprine monocytes. *Res. Vet. Sci.* 94(2):246-251.
- Pisani, L. F., C. Lecchi, G. Invernizzi, P. Sartorelli, G. Savoini, e F. Ceciliani. 2009. In vitro modulatory effect of omega-3 polyunsaturated fatty acid (EPA and DHA) on phagocytosis and ROS production of goat neutrophils. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 131(1-2):79-85.
- Reue, K. e P. Zhang. 2008. The lipin protein family: Dual roles in lipid biosynthesis and gene expression. *FEBS Lett.* 582(1):90-96.
- Shingfield, K. J., Y. Chilliard, V. Toivonen, P. Kairenius, e D. I. Givens. 2008. Trans fatty acids and bioactive lipids in ruminant milk. *Adv. Exp. Med. Biol.* 606:3-65.
- Thering, B. J., D. E. Graugnard, P. Piantoni, e J. J. Loor. 2009. Adipose tissue lipogenic gene networks due to lipid feeding and milk fat depression in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 92(9):4290-4300.
- Vailati-Riboni, M., G. Farina, F. Batistel, A. Heiser, M. D. Mitchell, M. A. Crookenden, C. G. Walker, J. K. Kay, S. Meier, J. R. Roche, e J. J. Loor. 2017. Far-off and close-up dry matter intake modulate indicators of immunometabolic adaptations to lactation in subcutaneous adipose tissue of pasture-based transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100(3):2334-2350.
- Vailati-Riboni, M., M. Kanwal, O. Bulgari, S. Meier, N. V. Priest, C. R. Burke, J. K. Kay, S. McDougall, M. D. Mitchell, C. G. Walker, M. Crookenden, A. Heiser, J. R. Roche, e J. J. Loor. 2016. Body condition score and plane of nutrition prepartum affect adipose tissue transcriptome regulators of metabolism and inflammation in grazing dairy cows during the transition period. *J. Dairy Sci.* 99(1):758-770.

XXIII
CONGRESSO
NAZIONALE
SIPAOC

COMUNICAZIONI ORALI

Efficacia della paromomicina per la prevenzione e il trattamento della criptosporidiosi negli agnelli

ABBATE Y¹, D'AVINO N¹, DE FERRARI P², FELICI A¹, GOBBI M¹, PAOLUZZI O², TENTELLINI M¹, MONDIN P³, DUQUESNE B³

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati"; ²Veterinario libero professionista; ³Huvepharma N.V.

Parole chiave: agnelli, *Cryptosporidium*, paromomicina

Introduzione - La criptosporidiosi è una malattia a diffusione cosmopolita, sostenuta da un protozoo del genere *Cryptosporidium*, che interessa diverse specie animali uomo compreso. Negli agnelli *Cryptosporidium parvum* è ritenuta la specie a maggior potere patogeno, ed è uno dei principali responsabili di patologia enterica neonatale. Le manifestazioni cliniche comprendono apatia, depressione, anoressia, dolore addominale e diarrea, accompagnate dall'eliminazione di un gran numero di oocisti direttamente infettanti². La malattia può raggiungere una morbilità del 100%³ e la mortalità può arrivare a livelli elevati, soprattutto quando intervengono altri agenti eziologici batterici e/o virali. Il controllo può risultare piuttosto complesso a causa dell'elevata resistenza ambientale delle oocisti. Ad oggi è disponibile una sola molecola, registrata solo per la specie bovina, per la prevenzione della criptosporidiosi, l'alofuginone; tuttavia altre molecole hanno mostrato una certa attività farmacologica nei confronti di questo protozoo, e tra queste la paromomicina. Lo scopo dello studio è stato quello di valutare l'efficacia in campo della paromomicina per la prevenzione ed il trattamento della criptosporidiosi degli agnelli.

Materiali e metodi - La prova è stata condotta nel periodo tra marzo ed aprile 2018, in un'azienda di ovini da latte del centro Italia in cui nei due anni precedenti erano stati diagnosticati episodi di mortalità nei giovani animali riconducibili a criptosporidiosi. Sono stati inclusi nella sperimentazione 40 soggetti neonati, sia femmine che maschi, di razza Comisana e Sarda. Il protocollo sperimentale ha previsto una pesatura alla nascita (t0) di tutti i soggetti inclusi nello studio e una suddivisione randomizzata in due gruppi, insieme alle rispettive madri, stabulati in due box distinti. Il gruppo A (farmaco) con protocollo terapeutico di 50mg/kg *sid* da t5 a t9 *per os* di paromomicina solfato; il gruppo B (placebo), con protocollo di 50mg/kg *sid* da t5 a t9 *per os* di placebo. La somministrazione di farmaco e placebo è stata effettuata in cieco. Durante il trial sono stati effettuati prelievi di materiale fecale direttamente dall'ampolla rettale di ciascun animale a t2, t4, t7, t10, t14, t21 e t28, tempestivamente trasportati in laboratorio e processati con la tecnica copro-microscopica di

Telemann-Miyagawa modificata¹ per la messa in evidenza di oocisti di *Cryptosporidium* spp. e con la tecnica immunocromatografica SmartStripsTM *Cryptosporidium*-BIO K403 (BioX diagnostics). Nei soggetti di entrambi i gruppi risultati positivi ai test coprologici a t2 si è proceduto alla somministrazione anticipata del trattamento (t2-t9). Gli agnelli di entrambi i gruppi sono stati costantemente monitorati dal punto di vista clinico. I soggetti deceduti durante il corso del trial sono stati sottoposti ad esame autoptico. I dati sono stati quindi elaborati su 35 animali: 16 animali del gruppo farmaco e 19 animali del gruppo placebo. Lo scopo dello studio è stato di valutare l'efficacia dell'utilizzo della paromomicina per il trattamento e per la prevenzione di questa parassitosi, attraverso i seguenti rilievi: valutare la differenza di peso tra i due gruppi, analizzare la percentuale di soggetti colpiti da diarrea e verificare la correlazione tra presenza di diarrea e positività a *Cryptosporidium* spp.. Gli animali sono stati ulteriormente pesati a t28 per verificare se la somministrazione del farmaco avesse influito sull'incremento ponderale. Sono stati considerati significativi p-value <0,05.

Risultati e considerazioni - Le analisi condotte sui 5 soggetti deceduti hanno rilevato cause di morte non riconducibili a criptosporidiosi. Alla nascita (t0) è stata rilevata una differenza significativa di peso tra gruppo A e B (test *t* di Student, p-value=0,0283): nel gruppo A i pesi alla nascita sono risultati in media maggiori rispetto al gruppo B. Interessante, se pur al limite della significatività (p-value=0,0601), è risultata la pesatura a t28, che ha rivelato in media un peso di 1,1kg superiore nel gruppo A rispetto al B. Nell'analisi della percentuale di positività per *Cryptosporidium* spp. si è rilevato il 31,1% dei soggetti positivi nel gruppo trattato, contro il 100% del gruppo placebo. È stata infine effettuata una valutazione del diverso livello di positività coprologica in relazione ai diversi tempi di prelievo: nel gruppo A i soggetti positivi per tutti i prelievi non sono mai stati più di due contemporaneamente, con completa negativizzazione coprologica a t10 e t14. Nel gruppo B si è osservato un picco di animali positivi a t7, t10, t14 rispettivamente del 52,6%, del'84,2% e del

57,6%. La differenza di positività a t7, t10 e t14 tra i due gruppi è risultata statisticamente significativa (p-value<0,05). Inoltre nel gruppo B a t7, t10 e t14 si è raggiunto il picco massimo di positività coprologica con valori statisticamente significativi (p-value<0,0001), rispetto agli altri tempi di prelievo. Gli animali che hanno manifestato il sintomo diarrea durante la prova sono stati il 31,2% nel gruppo A e il 42,1% nel gruppo B. È stata messa in correlazione la presenza del sintomo diarrea con la positività ai test coprologici, ed è risultata più spesso associata a positività a *Cryptosporidium* spp. nel gruppo B rispetto al gruppo A (test esatto di Fisher, p-value= 0,035).

Nel trial descritto l'utilizzo preventivo di paromomicina ha ridotto in maniera significativa la morbilità della malattia, assumendo un ruolo fondamentale nel controllo della sintomatologia, nella riduzione dell'escrezione di *Cryptosporidium* spp. e conseguentemente nella prevenzione della contaminazione ambientale. Inoltre il suo utilizzo ha avuto un'importante ripercussione sull'incremento ponderale dei soggetti trattati.

Efficacy of paromomycin for prevention and treatment of cryptosporidiosis in lambs

Key words: lambs, *Cryptosporidium*, paromomycin

Bibliografia

- Ambrosi, M. (1995). *Parassitologia zootecnica*. Edagricole.
- de Graaf, D. C., Vanopdenbosch, E., Ortega-Mora, L. M., Abbassi, H., & Peeters, J. E. (1999). A review of the importance of cryptosporidiosis in farm animals. *International journal for parasitology*, 29(8), 1269-1287.
- Xiao, L., Herd, R. P., & Rings, D. M. (1993). Diagnosis of *Cryptosporidium* on a sheep farm with neonatal diarrhea by immunofluorescence assays. *Veterinary Parasitology*, 47(1-2), 17-23.

La Misura 14 in Umbria come strumento capillare per la determinazione e la gestione delle parassitosi su tutto il territorio regionale

ABBATE Y, FELICI A, FORTE C, DALMONTE G, D'AVINO N, GOBBI M, PESCA C, CONSALVI F, PEZZOTTI G, FILIPPINI G

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati"

Parole chiave - benessere animale, ovini e capini, prevalenza, Piano di Sviluppo Rurale

Introduzione - Il miglioramento delle condizioni di benessere degli animali allevati rappresenta uno degli obiettivi principali su cui si è incentrata la politica di sviluppo europea. In linea con questa visione, la Regione Umbria, con l'attuazione della Misura 14 all'interno del Piano di Sviluppo Rurale 2014-2020 ha inteso incentivare l'introduzione di pratiche gestionali capaci di portare le condizioni degli animali allevati al di sopra dei requisiti minimi obbligatori. Infatti la specifica articolazione della Misura 14 prevede 3 tipologie di Intervento: le prime 2 rivolte all'estensivizzazione della filiera suina (14.1.1) e bovina (14.1.2 - Linea vacca-vitello), la terza (14.1.3) destinata alle realtà produttive del bovino da carne, bovino da latte, degli equini e ovi-caprini. Quest'ultima è contraddistinta da una serie di adempimenti raggruppati in macroaree: conduzione manageriale, aspetti sanitari, biosicurezza, strutture e attrezzature e gestione alimentare. Nella macroarea degli aspetti sanitari erano inclusi diversi impegni assunti dall'allevatore tra cui: mantenere il rapporto tra soggetti svezzati e nati non inferiore all'80%, esecuzione di almeno un controllo parassitologico annuale, lotta regolare ai roditori ed agli infestanti e introduzione di aree destinate alla quarantena degli animali e/o ad infermeria.

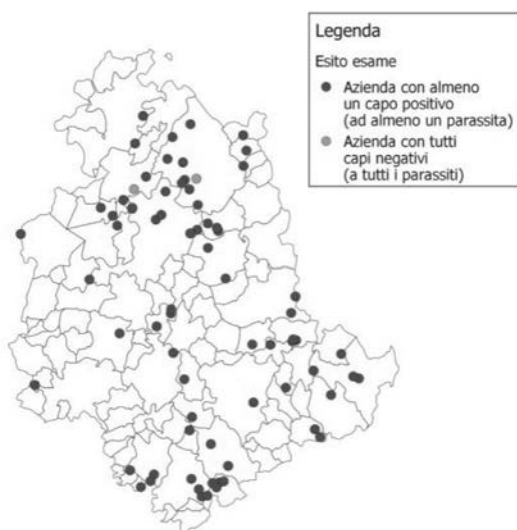


Fig. 1 - Aziende ovine analizzate.

Materiali e metodi - I dati presentati sono relativi al primo anno della Misura 14 (15 giugno 2015 - 15 giugno 2016). Il requisito minimo stabilito per poter accedere alla Misura era una consistenza di capi superiore o uguale a 3 Unità di Bestiame Adulto (1 capo ovino adulto = 0,15 UBA). Dal censimento del 2014 in banca dati nazionale gli allevamenti ovi-caprini aperti in Umbria che soddisfacevano tale prerequisito erano 749, con un totale di 93.795 capi. Un totale di 88 allevamenti ha aderito alla Misura 14 includendo 30.304 capi, cioè il 32% dei capi ovini e caprini umbri. Gli allevatori, in collaborazione con i veterinari aziendali, avevano l'obbligo di effettuare almeno una volta l'anno un esame copro microscopico quali-quantitativo che riguardasse l'1% del gregge, per un minimo di tre campioni di feci. In totale 77 allevamenti hanno conferito i campioni di feci presso l'IZSUM.

Le feci sono state analizzate con apparecchio FLOTAC®, con tecnica *dual* (Cringoli et al., 2010) che prevede l'impiego di due soluzioni flottanti con peso specifico differente, utilizzate in parallelo sullo stesso campione. È stata inoltre utilizzata la tecnica di sedimentazione per la messa in evidenza di uova di trematodi.

Tab. 1 - Valori delle diverse cariche parassitarie.

Parassita	Carico medio	Min	Max
<i>Eimeria</i> spp.(OPG)	399,3±917,7	2	14592
<i>D. dendriticum</i> (UPG)	50,1±58,1	4	288
SGI (UPG)	372,9±998,4	2	13300
<i>Nematodirus</i> spp. (UPG)	24*	-	-
<i>S. ovis</i> (UPG)	48*	-	-
<i>S. papillosus</i> (UPG)	26,3±22,9	5	96
<i>Trichuris</i> spp. (UPG)	14,3±3	6	64

*1 capo - SGI: strongili gastrointestinali

Risultati e considerazioni - In totale sono stati testati 536 capi ovi-caprini: 497 (93%) sono risultati positivi ad almeno un parassita, mentre 39 (7%) sono risultati negativi. Tra i parassiti isolati, i coccidi del genere *Eimeria* spp. risultano avere una prevalenza più elevata (85% dei capi positivi), seguono gli strongili gastrointestinali (SGI) 66%, strongili bronco polmonari 25%, *Taenia* spp. 22%, *Dicrocoelium dendriticum* 18%, *Strongyloides papillosus* 7%, *Nematodirus* spp. 0,2% e *Skryabinema ovis* 0,2%. Le infestazioni da SGI sono state classificate come “lievi” da 0- 200 UPG, “moderate” da 201 -500 UPG e “gravi” per valori superiori alle 500 UPG. Il 59% degli allevamenti ha fatto registrare cariche lievi, il 27% moderate e il 14% gravi. I risultati dell’analisi coprologica quali-quantitativa sono presentati in tabella 1.

I dati riportati, soprattutto considerando le cariche infestanti di SGI e *Dicrocoelium dendriticum*, potrebbero essere ascrivibili a forme cliniche e ad una riduzione consistente della produttività aziendale, causando ingenti perdite economiche. La capillarità sul territorio e la durata quinquennale della Misura 14 permetteranno una sorveglianza più attenta e pun-

tuale delle realtà aziendali che, attraverso l’applicazione di protocolli sanitari e di biosicurezza, si porrà come obiettivo il controllo delle cariche parassitarie su tutto il territorio e, più in generale, il miglioramento della conduzione aziendale. Inoltre la Misura 14 rappresenta un’occasione preziosa per l’implementazione dei dati epidemiologici e un punto di partenza per una programmazione efficace di sorveglianza sanitaria.

Measure 14 within Rural Development Programme in Umbria as an effective tool for parasites infection detection and management

Key words - animal welfare, sheep and goats, prevalence.

Bibliografia

Cringoli G. et al. (2010). FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. *Nat Protoc*, 5,503-15, 2010.

Studi citogenetici in pecore con anomalie congenite dell'apparato riproduttore

ALBARELLA S¹, D'ANZA E¹, GALDIERO G¹, CAPEZZONE C², CIOTOLA F¹, PERETTI V¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli Studi Federico II, Napoli; ²Libero Professionista

Parole chiave - pecora, DSD, freemartinismo

Introduzione - Le anomalie congenite dell'apparato riproduttore (DSD- Disorder Sexual Development) nella specie ovina sono raramente segnalate dagli allevatori e di conseguenza poco studiate. In questa specie le DSD sono principalmente correlate al mosaicismismo XX/XY (freemartinismo) (Ducos et al., 2008), e raramente ad altre anomalie genetiche (mosaicismo XO/XX, XY Sex Reversal Syndrome) (Baylis, 1984; Ferrer et al., 2009). Obiettivo dello studio di ovini affetti da DSD è quello di identificare indicatori precoci cosicché gli animali affetti possano essere precocemente destinati all'ingrasso evitando perdite economiche all'allevatore. Inoltre, lo studio di animali affetti da DSD consente di comprendere i meccanismi molecolari alla base dello sviluppo dell'apparato riproduttore.

Nel presente lavoro sono riportati i risultati di studi citogenetici in 4 pecore con fenotipo estremamente mascolinizzato.

Materiali e metodi - Caso 1: soggetto di 14 mesi, di razza Assaf con presenza di corna. Caso 2: soggetto di 8 mesi di razza Comisana. Caso 3: soggetto di 4 mesi, di razza Sarda. Caso 4: soggetto di 13 mesi, meticcio. Tutti i soggetti presentavano un fenotipo femminile estremamente mascolinizzato caratterizzato da vulva anomala con clitoride simile ad un piccolo pene (solo nel Caso 1 alla visita clinica è stata rilevata una vagina a fondo cieco) e presenza di due evidenti strutture simili ai testicoli in regione inguinale, in posizione caudale rispetto alla ghiandola mammaria.

Per nessuno dei casi studiati è stato possibile stabilire se i soggetti fossero nati da parto gemellare eterosessuale. Per gli studi citogenetici, per ciascun soggetto, da sangue periferico, sono state allestite due tipi di colture linfocitarie, con e senza 5-BrdU (20 mg/ml). I vetrini ottenuti dalla sospensione cellulare sono stati colorati con le tecniche per le bande C per lo studio dei cromosomi sessuali e RB per la costruzione del cariotipo, e rispettivamente sono state acquisite ed analizzate 200 e 10 metafasi.

È stato possibile effettuare un esame istologico delle gonadi e dell'apparato riproduttore solo per il Caso 1.

Risultati e considerazioni - Lo studio delle bande C ha messo in evidenza che i Casi 1, 2 e 4 sono mosaici XX/XY, rispettivamente, con le seguenti % di cellule maschili: 8,7, 78,5 e 77,46. La condizione di mosaici-

smo è stata confermata dall'elaborazione dei cariotipi, che non hanno rilevato alcuna anomalia cromosomica. L'esame istologico dell'apparato riproduttore del Caso 1 ha evidenziato la presenza di abbozzi di tube uterine, di un testicolo con ipertrofia delle cellule del Sertoli, assenza della linea germinale, presenza di ampie aree di necrosi, e di un epididimo.

Gli aspetti clinici ed istologici riscontrati nei 3 casi sono sovrapponibili a quelli descritti in letteratura. L'origine del mosaicismismo diagnosticato non può essere attribuita con certezza alla formazione di anastomosi vascolari piuttosto che ad una fusione embrionaria precoce a causa dell'assenza di dati anamnestici relativi alla gravidanza ed al parto. Del resto la frequenza del freemartinismo nella specie ovina, in caso di gravidanza gemellare eterosessuale, è tra 1 e 6,8% (Brace et al., 2008). Oltre alle ripercussioni economiche, i chimerismi non diagnosticati possono intralciare i programmi di eradicazione della Scrapie, infatti le femmine chimeriche con genotipo ARQ/ARR, dovuto alla combinazione delle due popolazioni cellulari, non necessariamente sono resistenti alla malattia (Schneider et al., 2009).

Le analisi citogenetiche hanno consentito di diagnosticare per il Caso 3 una XY DSD. Il fenotipo osservato si discosta dai pochi casi riportati in letteratura: un caso di XY Sex Reversal Syndrome (Ferrer et al., 2009) ed un caso di pseudoermafroditismo (Bruere et al., 1969). L'assenza di esami anatomopatologici ed istologici dell'apparato riproduttore non consente di classificare ed ipotizzare le basi molecolari della DSD riscontrata.

Riproduzione e fertilità sono aspetti importanti del management zootecnico e la precoce identificazione di soggetti con DSD indubbiamente comporta vantaggi economici. L'ipotesi che la diffusione di geni responsabili di ovulazioni multiple aumenti il rischio di freemartinismo nei parti plurigemellari, consolida la necessità di sensibilizzare gli allevatori al problema e di ampliare il controllo citogenetico negli allevamenti ovini.

Cytogenetic analyses in ewes with congenital abnormalities of genital apparatus

Key words - ewe, DSD, freemartinism

Bibliografia

Baylis MS, Wayte DM, Owen JB. (1984) An XO/XX

-
- mosaic sheep with associated gonadal dysgenesis. *Res Vet Sci.* 36(1):125-6.
- Brace MD, Peters O, Menzies P, King WA, Nino-Soto MI. (2008) Sex chromosome chimerism and the freemartin syndrome in Rideau Arcott sheep. *Cytogenet Genome Res.*120(1-2):132-9.
- Bruère AN, McDonald MF, Marshall RB. (1969) Cytogenetical analysis of an ovine male pseudohermaphrodite and the possible role of the Y chromosome in cryptorchidism of sheep. *Cytogenetics* 8(2):148-57.
- Ducos A, Revay T, Kovacs A, Hidas A, Pinton A, et al. (2008) Cytogenetic screening of livestock populations in Europe: an overview. *Cytogenet Genome Res.* 120(1-2):26-41.
- Ferrer LM, Monteagudo LV, García de Jalón JA, Tejedor MT, et al. (2009) A case of ovine female XY sex reversal syndrome not related to anomalies in the sex-determining region Y (SRY). *Cytogenet Genome Res.*126(4):329-32
- Padula AM. (2005) The freemartin syndrome: an update. *Anim Reprod Sci.* 87(1-2):93-109.
- Raudsepp T, Chowdhary BP. (2016) Chromosome Aberrations and Fertility Disorders in Domestic Animals. *Annu Rev Anim Biosci.* 4:15-43.
- Schneider DA, Tibary A, Raudsepp T, Das PJ, O'Rourke KI. (2009) Blood chimerism confounds genetic relative susceptibility testing for classical scrapie in sheep. *J Vet Diagn Invest.* 21(3):295-305.
-

L'analisi strumentale (E-nose) come mezzo per la valutazione dello stadio di stagionatura di formaggio di capra tipo caciotta

ANNICCHIARICO G, MORONE G, SEPE L, ROSSI R, CLAPS S

Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria - Centro di ricerca Zootecnia e Acquacoltura (CREA-ZA), Bella Muro (PZ), Italy

Parole chiave - naso elettronico, caciotta, capra, stagionatura.

Introduzione - Nella percezione olfattiva dell'uomo, le sostanze volatili, presenti o sprigionate con l'alimento, sono aspirate dalla cavità nasale e tramite il condotto rinofaringeo vengono a contatto con le cellule epiteliali del naso; qui interagiscono con recettori specifici (di tipo proteico), supportati da neuroni, le cui terminazioni sono connesse al sistema nervoso centrale. Uno studio (Gottfried et al., 2003) riporta che la percezione olfattiva dell'aroma, oltre ad essere soggettiva, con la relativa attivazione delle aree cerebrali specifiche, differisce anche a seconda dell'informazione offerta prima dell'esperienza olfattiva. L'aroma degli alimenti è costituito da miscele, a volte molto complesse (aroma primario e secondario), di composti volatili (alcoli, aldeidi, chetoni, ecc.) differentemente percepibili dal sistema olfattivo umano (*threshold limit*) e la cui concentrazione porta a sensazioni odorose differenti (es. trans-2 dodecanale in acqua, spazia da odore di plastica a cetriolo). L'analisi strumentale, mediante gas-cromatografia (GC-MS, GC-MS-OLF E-Nose) permette una valutazione oggettiva dell'aroma, con l'identificazione e quantificazione delle sostanze volatili che lo compongono (aromagramma). Obiettivo del presente lavoro è stato quello di verificare la capacità di uno strumento rapido come il naso elettronico di discriminare formaggi di

capra tipo caciotta a differenti stadi di maturazione durante la stagionatura.

Materiale e metodi - Le caciotte sono state prodotte da latte di massa di capre (di differenti razze) allevate presso l'allevamento di Bella del CREA-ZA. Sono state effettuate 3 caseificazioni in parallelo, per 3 giorni consecutivi. Il latte è stato riscaldato a 38°C, aggiunto il caglio liquido, effettuato il taglio e poi la rottura della cagliata a nocciola, quindi agitazione, riposo e asportazione del siero, messa in forma della cagliata in fucelle di plastica da 500 g. Sono stati testati 9 formaggi a 1 giorno, 21 d, 30 d e 60 d dalla produzione. I campioni (3 repliche /formaggio) di circa 5 g, inseriti in vial da 45 ml, sono stati mantenuti a una temperatura di 20 °C. I campioni sono stati analizzati tramite il naso elettronico (AIRSENSE, Analytics GmbH, Schwerin, Germany) dotato di dieci sensori di tipo MOS (Metal Oxide sensor). Questo strumento utilizza le variazioni di conducibilità elettrica dei sensori, indotte dai componenti organici volatili dei composti, e li traduce in segnali elaborati tramite un appropriato software. Il meccanismo di reazione si basa su uno scambio di ossigeno tra le molecole volatili ed il film metallico, che provoca un cambio di resistenza registrato e correlato

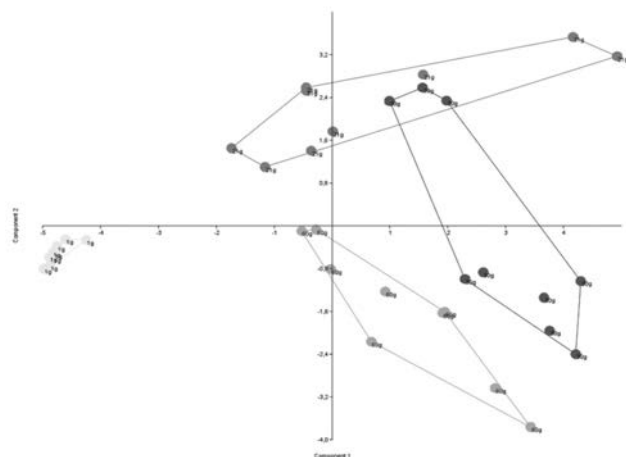


Fig. 1 - PCA di campioni di caciotta di capra a differenti giorni dalla produzione (1 giorno = giallo, 21 d = rosso, 30 d = blu, 60 d = verde)

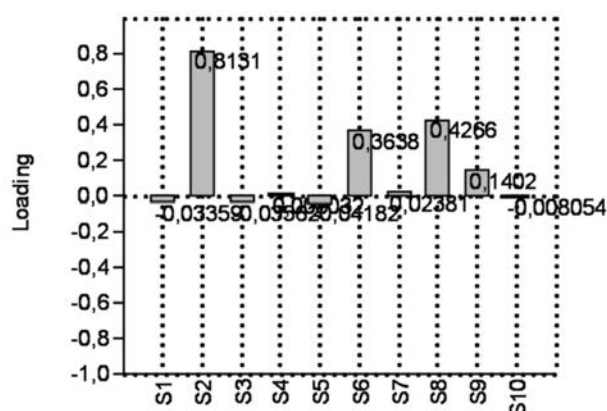


Fig. 2 - Analisi dei *loading* della PCA di campioni di caciotta di capra a differenti giorni dalla produzione

ai composti adsorbiti. La corsa di ciascun campione è durata 60". I dati sono stati elaborati tramite l'analisi multivariata delle componenti principali (PCA) del software Past.

Risultati e considerazioni - Nella figura 1 viene riportata la PCA bidimensionale (2D) di caciotte di capra di differente età. Dalla disposizione spaziale (1 punto = media di 3 repliche) si evidenzia molto chiaramente come il diverso profilo aromatico permetta allo strumento di discriminare i campioni dei formaggi di diverse età.

Dall'analisi dei *loading* (Figura 2) si evidenzia il contributo delle variabili originali al modello delle PC, fornito in modo significativo dal sensore S2 (ad ampio spettro), che reagisce agli ossidi di azoto, dal sensore S8, che reagisce ai prodotti alcolici, dal sensore S6 sensibile ai composti gruppo metano ed in minima parte dal sensore S9, sensibile ai composti organici dello zolfo.

Il naso elettronico fornisce una *fingerprint* tipica in fun-

zione dell'età della caciotta e potrebbe essere impiegato, opportunamente "tarato", come strumento rapido di discriminazione dello stadio di stagionatura dei formaggi.

Instrumental analysis (e-nose) as a mean for the evaluation of the ripening stage of goat caciotta cheese

Key words - E-nose, caciotta cheese, goat, ripening.

Bibliografia

Hammer, Ø., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. (2001). PAST-Palaeontological statistics. *www.uv.es/~pardonmv/pe/2001_1 /past/pastprog/past. pdf*, *accessado em*,25(07), 2009.

Gottfried, J. A., & Dolan, R. J. (2003). The nose smells what the eye sees: crossmodal visual facilitation of human olfactory perception. *Neuron*, 39(2), 375-386.

Pratiche innovative per la gestione della riproduzione: esempi del progetto *Sheep-Net*

ARGIOLAS G

Medico Veterinario, *Sementusa*, Italia

La gestione della riproduzione negli allevamenti ovini nei Paesi partecipanti al progetto *Sheep-Net* ha obiettivi comuni e condivisi tra cui la riduzione del numero di animali che non si riproducono, attraverso una loro specifica valutazione.

Gli strumenti e le figure professionali funzionali alla gestione e controllo dell'attività sono: l'allevatore, il Medico Veterinario, l'alimentarista, gli Enti selezionatori e la ricerca scientifica. Per noi, *Medici Veterinari Sementusa*, lo strumento principe è l'ecografo.

Attraverso il confronto con i Paesi coinvolti si sta lavorando alla definizione di linee operative condivise su operatività e obiettivi da trasferire negli allevamenti. In Italia, *Sheep-Net* ha privilegiato il protocollo *Semen-*

tusa modus operandi, nato dal confronto tra tutte le figure su menzionate e il vero gestore del sistema che è l'allevatore. *Sementusa* ha determinato un grosso passo avanti nella gestione della riproduzione, nella raccolta dati e nella valutazione dei risultati.

Due aspetti importati hanno permesso questo risultato: Il primo, la messa a punto in quattro anni di lavoro, dal 2002 al 2006, di un protocollo operativo e la ricerca di algoritmi che permettessero la ripetibilità del risultato e il reale confronto tra le produttività delle aziende.

Il secondo, un sistema semplice e pratico di raccolta dati che ci permettesse questo confronto.

I risultati positivi raggiunti hanno fatto sì che il Protocollo *Sementusa* sia stato brevettato.

Caso clinico: avvelenamento da *Spartium junceum L.* nei piccoli ruminanti

ARIANO A¹, COSTAGLIOLA A¹, DI FRANCESCO G², SALUCCI S², PIETROBATTISTA L³, PACIELLO O¹, SEVERINO L¹

¹University of Naples Federico II, Department of Veterinary Medicine and Animal Production; ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale Abruzzo e Molise; ³Azienda Sanitaria Locale Abruzzo 1 - L'Aquila

Parole chiave: pecore, capre, piante tossiche, *Spartium junceum L.*

Introduction - *Spartium junceum L.*, commonly known as Spanish broom, is a species of flowering plant in the family Leguminosae (sub-family Faboideae, Papilionoideae). All parts of *S. junceum L.* contain cytisine, an alkaloid reported as a nicotinic acetylcholine receptor agonist. In humans, poisoning occurs after ingestion of seed, flower or other parts of the plant. Clinical signs appear within an hour of ingestion and include mild irritation of the mouth and throat, hypersalivation, diarrhea and vomiting. Early signs of neurotoxicity include dilated pupils, headache, delirium, mental confusion; severe cases show tremor, tonic-clonic convulsions followed by muscle paralysis, and coma. Death may occur through respiratory failure because of central nervous system depression and muscle paralysis (Riccardi et al. 2006). To our knowledge no cases of poisoning from *S. junceum L.* have been reported in small and large ruminants.

An outbreak of neurological troubles occurred in winter 2015 in a flock of 20 sheep and 9 goats kept in a rural farm in Civitella Roveto (AQ). All the animals showed tonic-clonic convulsions followed by muscle paralysis associated to dilated pupils, tremor, tachycardia and tachypnea and in some cases also diarrhea. Two sheep died after worsening of clinical signs. At a later time, dietary intake of the flock was investigated and a detailed anamnesis was requested to obtain more information about clinical history and management of the flock. The owner reported that because of restricted economic conditions of the farm, in winter the diet of the animals was extremely poor and based almost exclusively on hay; moreover, the farmer reported that for about several weeks the animals used to eat parts of bundles of dry broom subsequently identified as *Spartium junceum L.*, stored within the paddock of the farm; in the meantime, the suspected food was removed from the farm and animals were fed only with hay and generous quantity of water.

Materials and method - Serological, bacteriological and virological examination were performed on all the flock. Complete necropsies were performed on two dead animals. Samples of brain, cerebellum, lung, kidneys and liver were collected and immersed in 10% buffered formalin (pH 7.4) for histopathological examination. Specimens of the suspect plant *Spartium*

junceum L including stem, leaves and flowers were submitted to the laboratory for evidence of toxic compounds.

Results and considerations - Anatomico-pathological investigations performed on both dead animals presented the same morphological alterations showing abdominal distension and poor nutritional status; there was diffuse moderate bilateral congestion in the lungs; the liver was slightly enlarged and petechial subdural hemorrhages were found at the inspection of central nervous system. At light microscopy we observed hemorrhages and moderate congestion of blood vessels both in cerebrum and cerebellum, and mild neuronal degeneration and gliosis. In liver and kidneys we observed severe congestion of blood vessels and, in lungs, there was a moderate to severe pulmonary edema associated with multifocal lobular emphysema. Serological, bacteriological and virological examination excluded any infectious disease.

Phytochemical study identified five different alkaloids in dried aerial part of *S. junceum L.* at the following concentrations expressed as µg/g dry weight: cytisine (2800,7 µg/g), N-methylcytisine (1583,6 µg/g), lupanine (197,2 µg/g), anagyrine (380,7 µg/g), rhombifoline (73,5 µg/g).

Anatomico-pathological, serological, bacteriological and virological examination excluded any infectious disease.

The presence of bundles of dry broom (*Spartium junceum L.*), with high concentrations of cytisine and methylcytisine, that were eaten by the animals led us to support the hypothesis of *Spartium junceum L.* intoxication.

After removal of bundles of brooms and dietary change, a complete remission of clinical signs in whole flock was observed.

There is very little documentation of *Spartium junceum L.* intoxication in both human and animals and no cases are reported in small ruminants. In areas where *Spartium junceum L.* is abundant, familiarity with its appearance and early identification of clinical signs should help prevent future outbreaks of neurotoxicity. Additional research into its toxic principles may help explain the sporadic toxicity of *Spartium junceum L.*

Case report: *Spartium Junceum L.* poisoning in small ruminant

Key words - sheep, goat, toxic plant, *Spartium junceum L.*

Bibliografia

Riccardi, A., Frumento, F., Ghinatti M., et al. (2006) Spanish Broom flower ingestion: a very unusual poisoning. Eur J EmergMed13(5), 317-318.

L'integrazione della dieta con concentrato fenolico da acque di vegetazione aumenta il contenuto in composti bioattivi e migliora lo stato ossidativo del latte ovino

BRANCIARI R¹, GALARINI R², ACUTI G¹, RANUCCI D¹, VALIANI A², SERVILI M³, PAUSELLI M³, GIUSEPPONI D², TRABALZA-MARINUCCI M¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia; ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati"; ³Dipartimento di Scienze Agrarie, Ambientali e Alimentari, Università degli Studi di Perugia.

Parole chiave - sottoprodotti, industria elaiotecnica, antiossidanti, latte

Introduzione - Dal processo di lavorazione e di estrazione dell'olio d'oliva a partire dalla materia prima si ottengono sottoprodotti di grande impatto ambientale (Servili et al., 2013). Metodologie recentemente sviluppate permettono di trattare tali sottoprodotti e di ricavare molecole con interessanti proprietà biologiche; tali composti possono essere utilizzati per la realizzazione di alimenti funzionali e nella alimentazione degli animali, contribuendo nel contempo a risolvere il problema dello smaltimento dei reflui oleari (Branciarri et al., 2017). I principali composti fenolici contenuti in questi sottoprodotti appartengono alle classi degli alcoli fenolici (idrossitirosolo e tirosolo), dei secoiridoidi, dei derivati dell'acido idrossicinnamico, degli acidi fenolici e derivati, dei flavoni e dei lignani. I polifenoli sono molecole bioattive usate comunemente come antiossidanti e antimicrobici nell'industria alimentare (Servili et al., 2013; Ghanbari et al., 2012). Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare l'effetto dell'integrazione con un concentrato fenolico da acque di vegetazione (CFAV) nella dieta di pecore di razza Sarda sulla stabilità ossidativa, sul potere antiossidante del latte e sulla presenza di molecole bioattive nel latte.

Materiali e metodi - La prova si è svolta presso l'azienda zootecnica didattica dell'Università di Perugia ed è stata condotta su 36 pecore di razza Sarda nella seconda metà della lattazione. Il gregge è stato suddiviso in due gruppi omogenei: un gruppo trattato (OW) e un gruppo controllo (CTR). Entrambi i gruppi hanno ricevuto fieno polifita a volontà ed un mangime pellettato (PG: 16,5%; NDF: 18,8%) in ragione di 800 g/capo/die, somministrato in due aliquote al momento della mungitura. Nel caso del gruppo OW, il mangime è stato integrato con CFAV disidratato mediante tecnica spray-dry (25 g/kg). Gli animali sono stati munti due volte al giorno mediante mungitrice meccanica ed il latte è stato raccolto in due tank distinti. La sperimentazione ha avuto una durata di 30 giorni ed è stata preceduta da un periodo di adattamento alla dieta pari a 2 settimane. I campioni, tra-

sportati in laboratorio in condizioni di refrigerazione (4 °C), prima delle analisi sono stati stoccati in congelatore a -80 °C.

Sul latte è stata valutata la capacità antiossidante mediante saggio DPPH ed è stata determinata la stabilità ossidativa mediante il metodo TBARS (sostanze reagenti con l'acido tiobarbiturico; Branciarri et al., 2017). La quantificazione dell'acido tiobarbiturico è stata effettuata attraverso la costruzione di una curva standard con 1,1,3,3-tetrametossipropano (Branciarri et al., 2015). La determinazione dei polifenoli nei mangimi e nel latte è stata effettuata mediante cromatografia liquida interfacciata alla spettrometria di massa tandem (LC-MS/MS). Le condizioni sperimentali sono quelle precedentemente descritte in Branciarri et al. (2017).

Risultati e considerazioni - L'inclusione nella dieta di CFAV si è dimostrata in grado di influenzare positivamente lo stato ossidativo e l'attività antiossidante del latte. I TBARS hanno fatto registrare valori inferiori nel gruppo OW rispetto al gruppo CTR (rispettivamente 0.38 e 0.54 mg MDA/kg). I valori di DPPH sono risultati superiori nel gruppo OW rispetto al gruppo CTR (23.17 mg/100 g e 11.59 mg/100 g). Per quanto riguarda i polifenoli, nel latte degli animali alimentati con il CFAV sono state rinvenute basse concentrazioni (<5 µg/L) dei principali composti presenti nel mangime (tirosolo e idrossitirosolo). Al contrario, i loro tre metaboliti solfato, ovvero il tirosolo-solfato, l'idrossitirosolo-3-solfato e l'idrossitirosolo-4-solfato, sono stati rilevati a livelli molto più elevati (rispettivamente 47, 230 e 290 µg/L). La presenza di polifenoli, ed in particolare dei loro metaboliti solfati, era già stata precedentemente segnalata nella carne di polli alimentati con sottoprodotti dell'industria elaiotecnica (Branciarri et al., 2017); tuttavia, questa è la prima volta che essi vengono evidenziati nel latte. È verosimile che questi metaboliti abbiano un ruolo nel migliorare la capacità antiossidante e lo stato ossidativo del latte, come in precedenza dimostrato nella carne (Branciarri et al., 2017; Tufarelli et al., 2016). Tali po-

lifenoli agiscono come antiossidanti primari poiché possiedono la capacità di donare un idrogeno ai radicali liberi generati dall'ossidazione dei lipidi. L'abilità di fungere da donatori di idrogeno per inibire l'ossidazione è maggiore in quelle molecole con un numero crescente di gruppi idrossilici, come l'idrossitiroso, che possiede in effetti tra i composti rinvenuti l'attività antiossidante più elevata (Baldioli et al., 1993; Servili et al., 2013).

Conclusioni - L'integrazione della dieta di pecore in lattazione con sottoprodotti dell'industria elaiotecnica può rappresentare un metodo efficace per garantire un miglioramento della stabilità ossidativa e della capacità antiossidante del latte attraverso l'introduzione di metaboliti bioattivi. L'uso in alimentazione animale di sottoprodotti ad elevato impatto ambientale, ma ricchi di composti bioattivi, può rappresentare una opzione di grande interesse anche in considerazione dei principi dell'economia circolare e della sostenibilità in agricoltura.

Ringraziamenti - Gli autori ringraziano la Dott.ssa Clarita Cavallucci ed il Gruppo Grigi per la collaborazione prestata.

Dietary supplementation with olive mill wastewater improves the content of bioactive molecules and the oxidative status of ovine milk

Key words - by-products, olive oil industry, antioxidant, milk.

Bibliografia

- Ghanbari R, Anwar F, Alkharfy KM, Gilani AH, Saari N (2012), *Int. J. Mol. Sci.* 13:3291–3340.
- Baldioli M, Servili M, Perretti G, Montedoro GF (1996), *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73:1589–1593.
- Servili M, Sordini B, Esposto S, Urbani S, Veneziani G, Di Maio I, Selvaggini R, Taticchi A (2013), *Antioxidants* 3:1–23.
- Tufarelli V, Laudadio V, Casalino E (2016), *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 23:6197–6204.
- Branciarri R, Galarini R, Giusepponi D, Trabalza-Marinucci M, Forte C, Roila R, Servili M, Acuti G, Miraglia D, Valiani A (2017), *Sustainability* 9(9):1566.
- Branciarri R, Ranucci D, Trabalza-Marinucci M, Codini M, Orrù M, Ortenzi R, Forte C, Ceccarini MR, Valiani A (2015), *Int J Food Sci Technol* 50:558–565.

Ricerca finanziata dal progetto “PROmozione della Salute del consumatore: valorizzazione nutrizionale dei prodotti agroalimentari della tradizione Italiana (ProS.IT) - CTN01_00230_413096 (CLUSTER CL.A.N. Agrifood - PON R&C 2007-2013).

Studio sieroepidemiologico sulla prevalenza della paratubercolosi nella specie ovicaprina in Basilicata

CARDILLO L¹, PAGNINI U¹, MONTAGNARO S¹, IOVANE V²

¹Dept. of Veterinary Medicine and Animal Productions – University of Naples “Federico II” - Naples - Italy;

²Dept. of Pharmacy (Preclinical testing Laboratory) - University of Salerno - Fisciano (SA)- Italy

Parole chiave - paratubercolosi, ovi-caprini, sierologia, prevalenza.

Introduzione - *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (Map) è un batterio Gram positivo della famiglia delle Mycobacteriaceae che si rende causa di un'enterite cronica granulomatosa fortemente cachettizzante, provocando ingenti perdite economiche nelle aziende nelle quali è presente. Negli ultimi anni l'attenzione è andata crescendo verso tale batterio per una sempre maggiore diffusione nell'allevamento bovino, ovicaprino e negli animali selvatici, nonché per il suo possibile ruolo zoonotico. Poco si conosce sulla prevalenza della Paratubercolosi nella specie ovi-caprina nella zona dell'Appennino meridionale, per cui lo scopo del presente lavoro è stato di valutare la sieroprevalenza del Map in ovicaprini di età superiore ai 18 mesi negli allevamenti della Regione Basilicata. Nel contesto di “One Health”, che contempla contemporaneamente un'unica salute in uomo, animali e ambiente, nasce il progetto S.E.BIO.VET BASILICATA (Studio di Epidemiologia ambientale e di BIOmonitoraggio VETERinario) con il proposito di utilizzare gli ovicaprini come animali sentinella per il monitoraggio ambientale.

Materiali e Metodi - Sono stati utilizzati 490 ovis e 50 caprini per un totale di 540 animali provenienti da 360 aziende presenti su tutto il territorio della Regione Basilicata, utilizzando una griglia di distribuzione e georeferenziando il campionamento. Durante regolare macellazione è stato eseguito il campionamento di sangue. I sieri sono stati testati per la ricerca di anticorpi per Map mediante test IDEXX ELISA *Screening* e successivamente ELISA *Confirmation*.

Risultati e Considerazioni - Dei 540 ovicaprini, 31 sono risultati positivi (AP: 5.74%; TP: 8,2%) e 4 dubbi; nella fattispecie dei 490 ovis, 17 erano positivi (AP: 3.46; TP:4.94%) e dei 50 caprini, 14 positivi (AP:28%; TP: 40%). Per quanto concerne la prevalenza aziendale, delle 360 aziende testate, 27 sono risultate con almeno un capo infetto (AP:7.5%). La specie caprina è risultata essere 9,24 volte più predisposta di quella ovina. Tale differenza potrebbe essere ascrivibile a fattori di predisposizione genetica della specie caprina o alla differente sensibilità tra le due specie ai ceppi del Micobatterio, infatti, mentre gli ovis sono maggiormente sensibili al

ceppo tipo I (*Sheep S*) i caprini risultano sensibili ad entrambi i ceppi Tipo I e tipo II (*Cattle C*).

Seroepidemiological study on the prevalence of paratuberculosis in small ruminants of Basilicata region

Key words - paratuberculosis, small ruminants, serology, prevalence

Bibliografia

- Angeles, JM., Leonardo, LR., Goto, Y., Kirinoki, M., Villacorte, EA., Hakimi, H., Moendeg, KJ., Lee, S., Rivera, PT., Inoue, N., Chigusa, Y., Kawazu, S. (2015) Water buffalo as sentinel animals for schistosomiasis surveillance. *Bull World Health Organ* 93(7):511-2.
- Backer, LC., Miller, M. (2016) Sentinel animals in a One Health approach to harmful cyanobacterial and algal bloom. *Vet sci* 3(2):8
- Bennantine, JP., Wu, CW., Hsu, C., Zhou, S., Schwartz, DC., Bayles, DO., Paustian, ML., Alt, DP., Sreevatsan, S., Kapur, V., Taalat, AM. (2012) Genome sequencing of ovine isolates of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis offers insights into host association. *BMC Genomics* 13:89.
- Nielsen, SS., Toft, n., (2009) A review of prevalence of Paratuberculosis in farmed animals in Europe. *Preventive Veterinary Medicine* 88:1-14
- Sevilla, I., Li, L., Amosin, A., Garrido, JM., Geijo, MV., Kapur, V., Juste, RA. (2008) Comparative analysis of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis isolates from cattle, sheep and goats, by short sequence repeat and pulsed-field gel electrophoresis typing. *BMC Microbiol* 8:204.
- Vialard, J. (2003) La Paratubercolosi nei piccoli ruminanti. *Summa. Animali da reddito*, 9:51-56.
- Vialard, J., Fleury, C., Lacheretz, A. (1994) Aspects anatomo-pathologiques de la paratuberculose caprine. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 170: 553-558.
- Waddell, LA, Rajic, A., Stärk, KD., McEWEN, SA. (2015) The zoonotic potential of *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis: a systemic review and meta-analyses of the evidence. *Epidemiol Infect* 143(15):3135-57.

Utilizzo di un mangime complementare liquido naturale per il controllo delle strongilosi gastrointestinali negli ovini: efficacia e benefici per gli animali.

CASTAGNA F¹, MUSELLA V¹, CRINGOLI G², BOSCO A², NISTICÒ N¹, CALIGIURI G¹, PALMA E¹, BRITTI D¹

¹Dipartimento di Scienze della Salute - Università di Catanzaro “Magna Graecia”, CIS-VetSua UNICZ, (Italia);

²Dipartimento di Medicina veterinaria e produzione animale, Università di Napoli Federico II, CREMOPAR Regione Campania, (Italia)

Parole chiave: mangime complementare naturale, FLOTAC, nematodi gastrointestinali, ovini.

Introduzione - L'infezione da strongili gastrointestinali, causata da diversi generi di nematodi, rimane uno dei principali limiti delle produzioni dei piccoli ruminanti (Manfredi et al, 2010) e il mantenimento dell'efficacia antielmintica è importante per assicurare alti livelli di produzione e benessere animale (Rinaldi et al, 2014). L'uso scorretto degli antielmintici di sintesi per il controllo delle parassitosi, sostenute da nematodi gastrointestinali, negli ovini ha portato nel tempo allo sviluppo di farmacoresistenza nei confronti di una o più classi di farmaci (Lifschitz et al 2014; Traversa et al, 2016). A causa della diffusa resistenza ai farmaci antielmintici, c'è un forte impulso ad esplorare e a utilizzare nuovi approcci per la gestione delle infezioni parassitarie (Hoste et al, 2015). Pertanto, lo scopo di questo studio è stato quello di valutare, *in vivo*, l'efficacia di un “mangime complementare naturale” ad azione antielmintica, confrontando l'efficacia con un farmaco convenzionale a base di ivermectina.

Materiali e metodi - Lo studio è stato condotto su ovini di razza comisana, naturalmente infettati da nematodi gastrointestinali, in un allevamento della Provincia di Catanzaro. Sui capi oggetto di studio abbiamo valutato, *in vivo*, l'efficacia antielmintica di un mangime complementare, a basso residuo ambientale e privo di tempi di sospensione, registrato per il trattamento delle strongilosi gastrointestinali degli ovini, comparando l'efficacia con un farmaco di sintesi a base di *ivermectina*. Il mangime complementare presenta nella sua composizione erbe ed estratti di oli essenziali di *Compositae*, *Cesalpiniaceae*, *Liliaceae*, *Bromeliaceae*, *Labiatae*, additivi, sostanze aromatizzanti e leganti. L'analisi chimica rileva sostanza secca: 9,80%; proteine grezze: 9,69%; fibra grezza: 15,11%; ceneri grezze: 7,10%; lipidi grezzi: 1,57%.

Gli animali oggetto di studio sono stati sottoposti a prelievi di feci individuali, che sono state esaminate singolarmente mediante la FLOTAC *basic technique*, utilizzando una soluzione satura di NaCl - p.s. 1.200 (Cringoli et al, 2010).

L'efficacia antielmintica dei prodotti impiegati è stata invece calcolata attraverso la Faecal Egg Count Reduction Test (FECRT), seguendo le linee guida della World

Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP). La formula utilizzata per il calcolo della FECR (basata sulle medie aritmetiche) è stata la seguente: $FECR = 100 \times (1 - [UPG_t/UPG_0])$ (Coles et al, 1992).

A 7 giorni dalla prova, su 90 capi scelti *at random* tra quelli in asciutta, abbiamo effettuato campionamenti individuali di feci per la ricerca e la conta delle uova di strongili gastrointestinali. Sulla base dei risultati abbiamo costituito tre gruppi di studio: Gruppo Mangime Complementare (GMC): trattato con 20 ml/capo di mangime complementare/OS in unica somministrazione (dose massima raccomandata dalla casa produttrice in caso di infestazioni gravi); Gruppo Ivermectina (GI): trattato con 1 ml/capo, pari a 200 µg di ivermectina/kg p.v., S.C. (dosaggio pieno); Gruppo Controllo (GC) non trattato. Gli animali, 15 per gruppo, sono stati assegnati omogeneamente ai tre gruppi in base all'intensità parassitaria espressa in Uova per Grammo di Feci (UPG). La tempistica è stata la seguente: T₀ formazione dei gruppi, prelievo delle feci dall'ampolla rettale e trattamenti antielmintici; T₇, T₁₄ e T₂₁: prelievo feci dall'ampolla rettale e valutazione dell'efficacia antiparassitaria mediante FECRT.

Risultati e considerazioni - Nella tabella di seguito riportiamo i risultati relativi alla prova di efficacia antielmintica della miscela naturale e del farmaco di sintesi, corredati delle intensità parassitarie medie espresse in UPG nei gruppi ai diversi tempi e dei valori relativi alla FECR (%).

Dall'analisi dei risultati emerge che nel “mangime complementare liquido” la FECR si è mantenuta sempre su valori molto inferiori a quelli normalmente considerati

	T ₀	T ₇	T ₁₄	T ₂₁
GMC	1023	2098 (-42,23%)	2194 (-30,75%)	1280 (17,41%)
GI	1021	668 (54,71%)	23 (98,62%)	43 (97,22%)
GC	944	1475	1678	1550

indici di efficacia dalle linee guida WAAVP, mostrando anche valori di negatività, che stanno ad indicare una totale inefficacia della miscela. Il farmaco convenzionale a base di ivermectina, utilizzato a dosaggio pieno, ha evidenziato una buona efficacia antielmintica.

Possiamo quindi affermare che se è vero che i farmaci di sintesi, se usati impropriamente, potrebbero favorire nel tempo farmacoresistenza, è altrettanto vero che le miscele naturali con attività antielmintica dovrebbero possedere una buona efficacia, perché solo così possono influenzare positivamente il benessere e lo stato di salute degli animali, con benefici per le produzioni.

Use of a complementary natural feed for gastrointestinal nematodes control in sheep: effectiveness and benefits for animal

Key words: Complementary natural feed, FLOTAC, gastrointestinal nematodes, sheep.

Bibliografia

- Coles G. C., Bauer C., Borgsteede F. H. M., Geerts S., Klei T. R., Taylor M. A., Waller P.J., (1992). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 44, 35–44.
- 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.* 2010 Mar;5(3):503-15 doi :10. 10 38/nprot.2009.235.
- Hoste H., Torres-Acosta J. F. J., Sandoval-Castro C. A., Mueller-Harvey I., Sotiraki S., Louvandini H., Thamsborg S. M., Terrill T. H. (2015). Tannin containing legumes as a model for nutraceuticals against digestive parasites in livestock. *Vet. Parasitol.* 212, 5–17.
- Lifschitz A., Ballent M., Virkel G., Sallovitz J., Lanusse C. (2014). Accumulation of monepantel and its sulphone derivative in tissues of nematode location in sheep: pharmacokinetic support to its excellent nematocidal activity. *Vet. Parasitol.* 203,120–126.
- Manfredi M. T., Di Cerbo A. R., Zanzani S., Stradiotto K. (2010). Breeding management in goat farms of Lombardy, northern Italy: Risk factors connected to gastrointestinal parasites. *Small Rum. Res.* 88 2010:113-118.
- Rinaldi L., Morgan E. R., Bosco A., Coles G. C., Cringoli G. (2014). The maintenance of anthelmintic efficacy in sheep in a Mediterranean climate. *Vet.Parasitol.*203 (2014) 139–143;
- Traversa D., von Samson-Himmelstjerna G. (2016). Anthelmintic resistance in sheep gastro-intestinal strongyles in Europe. *Small Rum. Res.* 135 (2016) 75–80

Identificazione di geni candidati per la resistenza alle infezioni da Lentivirus nella capra di razza Garfagnina

CECCHI F¹, DADOUSIS C², BOZZI R², FRATINI F¹, RUSSO C¹, BANDECCHI P¹, CANTILE C¹, MAZZEI M¹

Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa; ²DISPAA - Sez. Scienze Animali. Università degli Studi di Firenze.

Parole chiave - capra garfagnina, gwas, lentivirus

Introduzione - I lentivirus dei piccoli ruminanti (SRLV) sono un gruppo di virus ampiamente diffusi nella popolazione ovina e caprina. L'infezione determina una malattia cronica con interessamento di più organi e apparati, e nonostante una rilevabile risposta anticorpale, l'animale rimane infetto persistentemente. I programmi di controllo ed eradicazione, non essendo disponibili terapie o vaccini, sono basati sul sistema test and remove. Studi precedenti hanno evidenziato differenze significative di razza nei tassi di sieroprevalenza e di carica virale negli animali infetti. Negli ovini, tali differenze sono state collegate al gene *TMEM154*. Negli ovini e nei caprini è stato individuato un coinvolgimento del gene *CCR5* nella suscettibilità/resistenza ai SRLV. Scopo del presente lavoro è stato quello di effettuare uno studio di associazione genica per evidenziare regioni genomiche associate con l'infezione da SRLV nella razza caprina Garfagnina.

Materiali e metodi - L'indagine è stata svolta in un allevamento di capre di razza Garfagnina ubicato nella Media Valle del Serchio (LU) in cui sono presenti 269 capre e 20 becchi di razza Garfagnina, di età compresa fra 2 e 9 anni e tutte iscritte al Registro anagrafico ma senza informazioni genealogiche. Il sistema di allevamento è di tipo stanziale: nelle ore diurne gli animali usufruiscono di un ampio pascolo e del bosco, mentre la sera sono ricoverati in stalla dove ricevono un'integrazione di foraggio e mangime. Campioni di siero e sangue con anticoagulante sono stati raccolti da 48 capre. I sieri sono stati testati tramite il kit Eradikit SRLV Screening kit (In3diagnostic, Torino), che utilizza peptidi relativi ai geni virali *gag* ed *env* specifici per i tre principali genotipi di SRLV, (A, B, E). Il DNA per le analisi genomiche è stato estratto da 2ml di sangue periferico. Tutti gli animali sono stati genotipizzati utilizzando il chip Illumina GoatSNP60 dell'IGGC (International Goat Genome Consortium), che contiene 53347 SNP. Tutti i campioni sono stati sottoposti ad analisi di qualità utilizzando il software GenomeStudio V2011.1 Genotyping Module v1.9.4 (Illumina), secondo i seguenti criteri: deviazione dall'equilibrio di Hardy-Weinberg (HWP; $P > 0,000001$); call rate $> 95\%$ e il Minor Allele Frequency ($> 0,005$). Dopo il controllo di qualità sono rimasti 51565 SNP, distribuiti su 29 au-

tosomi e sul cromosoma X (1023 SNP esclusi per la bassa frequenza 1759 esclusi per il basso call rate). Gli SNP selezionati sono stati utilizzati per verificare la struttura di popolazione. L'analisi di associazione è stata condotta utilizzando il pacchetto statistico GenABEL in R. È stata adottata la funzione "mmscore". Il mappaggio e l'associazione degli SNP sono stati effettuati con *variant effect predictor* (<https://www.ensembl.org/Tools/VEP>) usando il database Ensembl e l'assemblaggio ARS1.

Risultati e considerazioni - L'analisi sierologica ha rivelato che 21 su 48 sieri testati (43,75%) risultavano positivi a SRLV. Quattro sieri hanno reagito specificamente agli antigeni del genotipo A, 5 al genotipo B e 6 al genotipo E. La caratterizzazione del genotipo non è stata determinata in 6 sieri, sebbene reattivi a SRLV. L'analisi di associazione ha evidenziato uno SNP significativo ($P < 5 \times 10^{-5}$) sul cromosoma 18 a 62,360,918bp (Fig. 1). Lo SNP era un introne della proteina 331 (*ZNF331*) (~62.35-62.37Mb). Nella regione di 1Mb a monte e a valle dello SNP significativo, sono stati trovati tre geni: il gene *NLRP12* (NLR family pyrin domain containing 12; ~62.48-62.51Mb), il gene *PRKCG* (protein kinase C gamma; ~62.32-63.34Mb) e il gene *CACNG7* (calcium voltage-gated channel auxiliary subunit gamma 7; ~63.34-63.36Mb). La proteina codificata dal gene *NLRP12* agisce come soppressore della risposta infiammatoria da parte dei

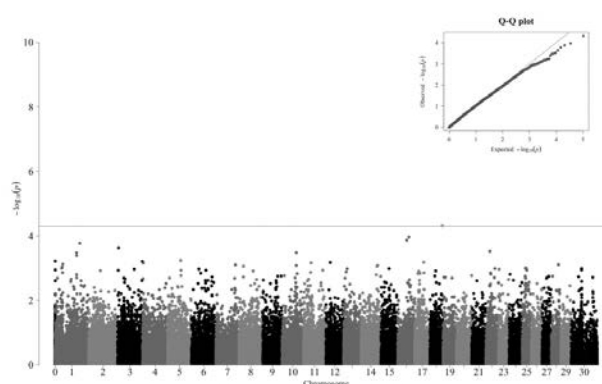


Fig. 1 - Manhattan plot di $-\log(P\text{-values})$ per la GWAS.

macrofagi attivati. Mutazioni di questa proteina sono state evidenziate in pazienti affetti da immunodeficienze primarie. La proteina codificata dal gene *PRKCG* è espressa esclusivamente nei neuroni del cervello e del midollo spinale. Alterazioni di questa proteina sono state messe in relazione allo sviluppo di malattie neurodegenerative in un modello murino. La proteina codificata dal gene *CACNG7* è una proteina regolatrice del recettore AMPA transmembrana di tipo II (TARP). Le TARP regolano i recettori AMPA (recettore post-sinaptico non-NMDA ionotropico per il glutammato importante per la trasmissione sinaptica eccitatoria rapida del sistema nervoso centrale; SNC). Questa ricerca del tutto preliminare, dato il limitato numero di soggetti, ha evidenziato per la prima volta che alcuni geni che agiscono sul SNC e sulla risposta infiammatoria potrebbero essere implicati nell'infezione da SRLV che è caratterizzata dalla comparsa di lesioni infiammatorie multiorganiche, compreso il SNC.

Genome-wide association identify genomic regions associated with goat lentivirus infections

Key words - Garfagnina goat, caprine lentivirus, SNP

Bibliografia

- Peterhans E, et al. (2004). Routes of transmission and consequences of small ruminant lentiviruses (SRLVs) Infection and eradication schemes. *Vet. Res.*, 35, 257-74.
- Houwens DJ, et al. (1989) Importance of ewe/lamb relationship and breed in the epidemiology of maedi-visna virus infections. *Res Vet Sci*:46, 5-8.
- Snowder GD, et al. (1990) Prevalence and effect of sub-clinical ovine progressive pneumonia virus infection on ewe wool and lamb production. *J Am Vet Med Assoc* 197:475-479.
- Herrmann-Hoesing LM, et al. (2008) Ovine progressive pneumonia provirus levels associated with breed and Ovar-DRB1. *Immunogenetics* 60:749-758.
- Heaton MP, et al. (2012) Reduced Lentivirus Susceptibility in Sheep with TMEM154 Mutations. *PLoS Genet* 8: e1002467.
- Colussi S, et al. (2016). Il gene CCR5 quale ausilio nel controllo dell'artrite-encefalite caprina. XXII Congresso Nazionale S.I.P.A.O.C., Cuneo 13-16 Settembre 2018, 35.
- GenABEL project developers. (2013) GenABEL: Genome-wide SNP association analysis. .R package version 1.8-0.:<http://CRAN.R-project.org/package=GenABEL>.
- R Core Team. (2013). R: A language and environment for statistical computing.
- Amin, N. et al. (2007). A genomic background based method for association analysis in related individuals. *PloS One* 2:1274.
- Borte S, et al. (2014) Novel NLRP12 mutations associated with intestinal amyloidosis in a patient diagnosed with common variable immunodeficiency. *Clin Immunol.* 154:105-111.
- Ji J, et al. (2014) Increased protein kinase C gamma activity induces Purkinje cell pathology in a mouse model of spinocerebellar ataxia 14. *Neurobiol Dis* 70:1-11.
- Chen RS, et al. (2007) Calcium channel gamma subunits: a functionally diverse protein family. *Cell Biochem Biophys.* 47:178-186.

Lavoro eseguito con finanziamenti dell'Università di Pisa (PRA2016 - Prof. C. Cantile e Fondi Ateneo - Prof. F. Cecchi).

Variabilità genetica di otto popolazioni caprine dell'Italia centrale valutata tramite un chip SNP a media densità

CECCOBELLI S¹, COSTANZA MT², LASAGNA E¹, PIERAMATI C³, SARTI FM¹, ITALIAN GOAT CONSORTIUM

¹Dipartimento Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Perugia; ²ARSIAL - Agenzia Regionale per lo Sviluppo e l'Innovazione dell'Agricoltura del Lazio; ³Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia

Parole chiave - razze autoctone, specie caprina, diversità genetica, biodiversità

Introduzione - La conservazione delle risorse genetiche animali è fondamentale per ostacolare e rallentare l'erosione genetica già in atto e tutelare il patrimonio storico, culturale e sociale che rappresentano. In Italia centro-meridionale sono presenti alcune razze caprine (Bianca Monticellana, Capestrina, Grigia Ciociara, Fulva del Lazio, Facciuta della Valnerina, Teramana, Garganica, di Montefalcone) a rischio di estinzione (Bigi e Zanon, 2008). La presente indagine intende valutare se si tratta di popolazioni che, pur tra loro morfologicamente simili, presentino assetti genetici distinti e quindi avrebbero individualmente diritto a dignità di razza o se si tratta di tipi genetici simili, anche se geograficamente separati, derivanti tutti da un'unica popolazione.

Materiale e metodi - Nello studio sono stati utilizzati un totale di 160 soggetti provenienti da 24 aziende. Da ogni animale è stato prelevato del materiale biologico (sangue) per l'estrazione del DNA che è stato poi inviato ad un laboratorio esterno per l'analisi molecolare mediante il GoatSNP50 BeadChip Illumina (Tosser-Klopp G. et al., 2014; Nicoloso et al., 2015), al fine di valutare la variabilità entro e tra popolazioni. Sono state determinate eterozigosità osservata ed attesa; test sull'equilibrio di HW; F di Wright (F_{ST} , F_{IT} e F_{IS}); Analisi Discriminante delle Componenti Principali (DAPC); distanze genetiche con il metodo di Nei. I dati molecolari sono stati elaborati con il software R Project, utilizzando i pacchetti adegenet, psych e pegas.

Risultati e considerazioni - La media dell'eterozigosità osservata sull'intero campione è molto simile in tutti i cromosomi e non si discosta molto dalla media dell'eterozigosità attesa, infatti la loro differenza è molto vicina allo 0; ciò indica che le popolazioni non sono soggette ad azioni selettive in linea con quanto effettivamente avviene su tipi genetici a rischio di estinzione. Dall'analisi è emerso che 45'083 loci si trovano in equilibrio HW, confermando, così, la mancanza di piani selettivi per queste popolazioni. $L'F_{ST}$ medio ha assunto per tutti i cromosomi valori prossimi allo 0, confermando che quasi tutti rispettano l'equilibrio di HW e che, quindi, non è presente né un eccesso di omozigoti

né di eterozigoti. I valori di F_{IS} e F_{IT} sono, peraltro, molto simili e presentano un range di variabilità limitato che oscilla tra 1,20 e 1,98 per entrambi i parametri. Attraverso la DAPC, gli individui appartenenti alle popolazioni caprine studiate, sono stati suddivisi, in relazione alle loro correlazioni genetiche, in 3 cluster (Fig. 1): il primo costituito da 22 animali, il secondo da 123 ed il terzo da 15. È interessante notare che il terzo era formato esclusivamente dalle capre Teramane provenienti da una sola azienda dell'Aquila; questo fatto, potrebbe essere causato dall'isolamento geografico di questo nucleo che da anni lavora in stretta consanguineità. Il primo cluster era costituito da 10 Bianche, 9 Capestrine e 3 Grigie, delle quali la maggior parte (6 Bianche, 8 Capestrine e 2 Grigie) provenienti dalla medesima azienda; anche in questo caso, il raggruppamento in un solo cluster di animali con la stessa provenienza può essere dovuto all'utilizzo di riproduttori aziendali o ad incroci all'interno dell'allevamento.

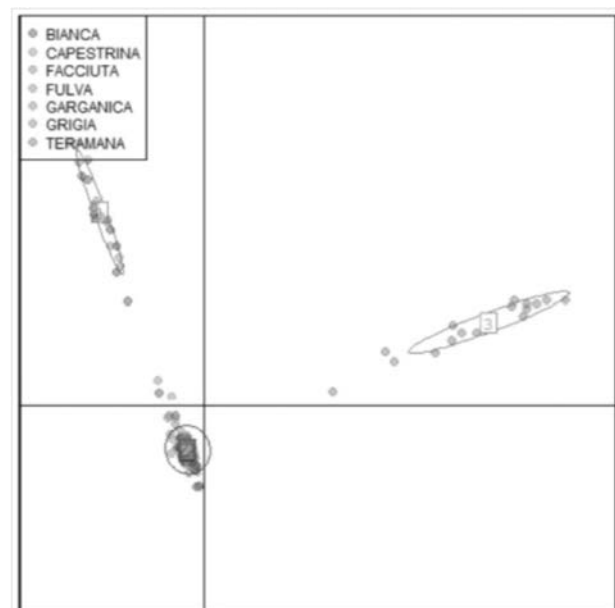


Fig. 1 - Rappresentazione dei 3 cluster con riferimento al tipo genetico

Infine, il secondo cluster, che conteneva la maggior parte degli animali studiati Garganica compresa, avvalorando l'ipotesi che i tipi genetici analizzati abbiano subito l'influenza di questa razza lungo i percorsi di transumanza.

I risultati dell'analisi genetica condotta porterebbero ad ipotizzare che ci si trovi di fronte a soggetti appartenenti a tipi genetici simili, ma geograficamente separati, pertanto, potrebbe essere opportuno farli confluire tutti in una popolazione (ad eccezione della Garganica) o razza, trans-regionale che, a seconda della numerosità e dei livelli di consanguineità, giustificerebbe anche azioni di conservazione diverse.

Genetic characterization of eight goat populations from Central-southern Italy assessed with a medium-density snp chip

Key words - autochthonous breeds, goat, genetic diversity, biodiversity

Bibliografia

- Bigi D, Zanon A. (2008), Atlante delle razze autoctone. Bovini, equini, ovicaprini, suini allevati in Italia. Edagricole, Milano.
- Nicoloso L, Bomba L, Colli L, Negrini R, Milanese M, Mazza R, Sechi T, Frattini S, Talenti A, Coizet B, Chessa S, Marletta D, D'Andrea M, Bordonaro S, Ptak G, Carta A, Pagnacco G, Valentini A, Pilla F, Ajmone-Marsan P, Crepaldi P, Italian Goat Consortium. (2015), Genetic diversity of Italian goat breeds assessed with a medium-density SNP chip. *Genetics Selection Evolution*: 47: 62-72.
<http://www.R-project.org>.
- Tosser-Klopp G, Bardou P, Bouchez O, Cabau C, Crooijmans R, Dong Y, Donnadieu-Tonon C, Eggen A, Heuven H C M, Jamli S, Jiken A J, Klopp C, Lawley C T, McEwan J, Martin P, Moreno C R, Mulsant P, Nabihoudine I, Pailhoux E, Palhière I, Rupp R, Sarry J, Sayre B L, Tircazes A, Wang J, Wang W, Zhang W, International Goat Genome Consortium. (2014), Design and Characterization of a 52K SNP Chip for Goats. *PLOS ONE* 9(1): e86227.

Risultati preliminari del progetto Ovimyco: Micoplasmi e altri agenti patogeni negli allevamenti ovini e caprini

CRUCIANI D¹, PAVONE S¹, GOBBI P¹, GOBBI M¹, PAPA P¹, FIORUCCI A¹, BENDA S¹, ANTENUCCI P², CROTTI S¹, PESCA C¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati", Perugia; ²MSD Animal Health, Segrate (MI)

Parole chiave - Micoplasmi, piccoli ruminanti, polmonite, mastite

Introduzione - I micoplasmi sono frequentemente riscontrati nell'ambito degli allevamenti ovini e caprini e sono causa di notevoli perdite economiche. Ad oggi, ne sono state isolate diverse specie. Tuttavia, le manifestazioni cliniche a loro associate non sono peculiari, anzi mimano quelle di altre malattie infettive creando problemi di interpretazione diagnostica. Generalmente, nei piccoli ruminanti le infezioni da Micoplasmi rimangono confinate all'apparato respiratorio (*Mycoplasma ovipneumoniae*, *M. arginini*, *M. mycoides subsp. capri*, *M. capricolum subsp. capricolum*, *M. capricolum subsp. capripneumoniae*) e a quello mammario (*M. agalactiae*, *M. mycoides subsp. capri*, *M. capricolum subsp. capricolum*, *M. putrefaciens*).

Queste considerazioni hanno portato a sviluppare il progetto Ovimyco, avente come obiettivo principale quello di indagare l'epidemiologia delle Micoplasmosi negli allevamenti ovini e caprini distribuiti nel territorio italiano, di considerare l'eventuale presenza di altri agenti infettivi e di correlare, ove possibile, la lesione istologica con il patogeno riscontrato. Il progetto, della durata di 12 mesi, è ancora a metà del suo percorso, pertanto i risultati presentati in questo lavoro sono da considerarsi assolutamente preliminari.

Materiali e metodi - Da novembre 2017 ad oggi sono stati analizzati complessivamente 100 campioni, di cui 47 con sospetto diagnostico di polmonite (polmoni, tamponi nasali, BAL) e 53 con sospetto diagnostico di agalassia contagiosa (secreti mammari, tamponi articolari, tamponi congiuntivali, liquidi sinoviali).

Tutti i campioni sono stati sottoposti ad estrazione del DNA (QIAGEN®, protocollo fluidi), e successivamente a PCR per *Mycoplasma spp.* In caso di positività, a seconda della matrice, è stato applicato il protocollo diagnostico per la tipizzazione degli agenti respiratori o mastidogeni, che si compone di altre PCR specie-specifiche. Per la maggior parte dei campioni (n. 40) è stato inoltre eseguito l'esame batteriologico standard, mentre solo per le forme respiratorie (polmoni) è stata anche condotta la ricerca di virus a DNA (Ovine Adenovirus, Ovine Herpesvirus 2, Caprine Herpesvirus, Bovine Herpesvirus) e a RNA (Parainfluenza 3 virus, Virus Respiratorio Sinciziale). Ove

possibile, ad ogni test diagnostico è stato associato l'esame istologico.

Risultati e considerazioni - Le indagini molecolari condotte sui Micoplasmi hanno rilevato un 78,7% (n. 37/47) di positività per le forme respiratorie e un 18,9% (n. 10/53) di positività per le mastiti. Nell'ambito delle forme respiratorie risulta essere interessante il 45,6% (n. 21/47) di coinfezioni date da *M. ovipneumoniae* e *M. arginini*, tutte osservate negli ovini, ad eccezione di due casi relativi ai caprini. Singolarmente, *M. ovipneumoniae* ha maggior peso nei caprini e *M. arginini* negli ovini. Dalla ricerca di altri germi, è emerso un 20% (n. 8/40) di positività per *Mannheimia haemolytica* e un 15% (n. 6/40) di positività per *Pasteurella multocida*. L'unico agente virale riscontrato a livello polmonare è l'Ovine Herpesvirus 2 (OvHV-2) nel 34% dei casi (n. 16/47 di cui 15/47 ovini e 1/47 caprino).

Valutando i 37 campioni risultati positivi a *Mycoplasma* in PCR, si è notato che dal 51,4% (n. 19/37) di essi erano stati isolati altri germi e che il 27% (n. 10/37) erano positivi anche a OvHV-2. Complessivamente, i casi di coinfezione da *M. ovipneumoniae*, *M. arginini*, altri batteri e OvHV-2 sono pari al 18,9% (n. 7/37). Gli esiti degli esami istologici di questi stessi campioni, concordano in toto per la presenza degli agenti batterici isolati dall'esame batteriologico e nella metà dei casi concordano anche per la positività a OvHV-2. Meno puntuale sembra essere la concordanza nei confronti dei Micoplasmi, riscontrata solo in un caso su 7. Ciò potrebbe essere dovuto alle condizioni non ottimali del campione, ad un campionamento non preciso effettuato da terzi, al fatto che i Micoplasmi siano presenti a livello polmonare senza rivestire un ruolo patogeno o che le lesioni da essi causate siano invece mascherate da altri patogeni. Va inoltre tenuto presente che il riconoscimento dei Micoplasmi ovini e caprini non è ben dettagliato a livello bibliografico e deve essere ancora affinato da parte degli operatori.

Per quanto riguarda il pannello mastidogeni, *M. agalactiae* con l'11,3% di positività (n. 6/53) rappresenta la specie di *Mycoplasma* più frequentemente rilevata,

seguita da *M. mycoides subsp. capri* (5,7%, n.3/53) e *M. putrefaciens* (1,9%, n. 1/53). La ricerca di altri germi mastidogeni, condotta in totale su 21 campioni, ha messo principalmente in evidenza *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* spp. ma mai in coinfezione con Mycoplasmi.

I dati fin qui ottenuti possono indicare delle tendenze, ma sono ancora troppo esigui per formulare delle conclusioni significative: la prosecuzione del progetto permetterà di aumentare la casistica, aggiornare i dati e rivalutare le corrispondenze tra tutti i risultati ottenuti, che verranno anche elaborati statisticamente per disegnare un quadro epidemiologico degli agenti infettivi circolanti nell'ambito degli allevamenti ovini e caprini distribuiti nel territorio italiano.

L'obiettivo più ambizioso rimarrà quello di riuscire a discriminare a livello istologico le lesioni causate da Mycoplasmi e altri batteri.

Ovimyco project preliminary results: mycoplasmas and other pathogens in sheep and goat breeding.

Key words - Mycoplasmas, small ruminant, pneumonia, mastitis

Bibliografia

- Bell S. (2008), Respiratory disease in sheep 1. Differential diagnosis and epidemiology. In practice 30: 200-207.
- Cillara G., Manca M.G., Longheu C., Tola S. (2015), Discrimination between *Mycoplasma mycoides subsp. capri* and *Mycoplasma capricolum subsp. capricolum* using PCR-RFLP and PCR. The Veterinary Journal 205: 421-423.
- Di Provvio A., Averaimo D., Zilli K., Marrucchella G., Scacchia M. (2017), Mycoplasma pneumonia in small ruminant: a ten-year long retrospective survey. Small Ruminant Research 153: 103-106.
- Loria G.R., Caracappa S., Scanziani E., Radaelli E., Giardina P., Monteverde V., Nicholas R.A.J. (2007), Mycoplasma ovipneumoniae e la polmonite "atipica" degli ovini. Large Animal Review 13:7-11.
-

Studio delle patologie tiroidee nella pecora in aree contaminate

DE BIASE D¹, PIEGARI G¹, PRISCO F¹, BOSCO A¹, GENOVESE A², CRINGOLI G¹, PACIELLO O¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria e produzioni animali, Università degli Studi di Napoli "Federico II", Via F. Delpino 1, 80137 Napoli; ²Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Napoli "Federico II" Cupa Nuova Cintia, 21, 80126 Napoli

Parole chiave: Tiroide, IPA, Ovini, Animale sentinella

Introduzione - In virtù del suo ruolo fondamentale nel metabolismo corporeo, la ghiandola tiroidea e gli ormoni ad essa associati rappresentano un'area di crescente interesse nell'ambito della patologia ambientale (Fowles et al., 2016). Gli **Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA)**, prodotti prevalentemente lavorazioni del carbone e del petrolio, sono da tempo oggetto di studio per i loro effetti sulla salute umana e animale. Gli IPA sono considerati *interferenti endocrini* per la loro capacità di alterare le funzioni del sistema endocrino. Lo scopo del nostro studio è stato quello di valutare l'eventuale correlazione tra le lesioni tiroidee riscontrate in ovini anziani ed aree geografiche ad alta densità di pozzi petroliferi.

Materiali e metodi - Per lo studio, sono state prelevate 79 tiroidi da pecore regolarmente macellate. Tutti gli animali sono stati sottoposti ad una visita *ante mortem* pre macellazione per valutarne lo stato di salute. Gli animali sono stati suddivisi in base al distretto ASL di appartenenza dell'allevamento. Per ciascun distretto è stata determinata la densità di pozzi petroliferi espressa come estensione dell'area di estrazione:

- Distr 1: POTENZA
- Distr 2: VILLA D'AGRI
- Distr 3: SENISE
- Distr 4: LAURIA

I campioni di tiroide sono stati fissati in formalina al 10%, ed inclusi in paraffina. Sezioni di 5 m di spessore sono state colorate con ematossilina-eosina.

Score system - Le modificazioni istopatologiche tiroidee sono state valutate e successivamente gradate con uno score system basato sulla presenza/assenza di neoformazioni benigne e/o maligne e sul grado di iperplasia (0=assente; 1=lieve; 2=moderata; 3=grave).

Analisi statistica - L'esame statistico è stato eseguito utilizzando il software SPSS in versione 22.0 (IBM Corporation 2014). Il Kruskal-Wallis test è stato utilizzato al fine di valutare la distribuzione normale dei campioni. L'ANOVA test, seguito dal Bonferroni test, è stato usato al fine di valutare le eventuali differenze statisticamente significative tra le gravità dell'iperplasia nei diversi distretti geografici esaminati. Inoltre è stato effettuato il Pearson's chi-square test per valutare le differenze di gruppo (distr. ASL) nella distribuzione dei tumori. Valori di P inferiori a 0,05 sono stati considerati statisticamente significativi.

Risultati e considerazioni - L'esame clinico ante mortem ha evidenziato scarse condizioni di salute in circa il 75% degli animali. Delle 79 tiroidi esaminate, 53 sono risultate positive ad alterazioni tiroidee quali iperplasie, adenomi e carcinomi. L'iperplasia, nei vari gradi di gravità, è stata riscontrata in 38 tiroidi su 53. Gli adenomi sono stati riscontrati in 14 tiroidi su 53 ed è stato osservato un solo caso di carcinoma follicolare. La distribuzione delle alterazioni tiroidee appare, ad una prima analisi, correlata alla densità dei pozzi petroliferi. Il distretto di Villa d'Agri è risultato essere quello con il maggior numero di alterazioni tiroidee (tabella 1).

Per quanto concerne la gravità dell'iperplasia, il test ANOVA ha permesso di rilevare una differenza statisticamente significativa tra i valori ottenuti dai campioni provenienti dal distretto ASL Villa d'Agri e quelli ottenuti dalle tiroidi di pecora provenienti dagli altri distretti esaminati ($P < 0.05$). Il nostro studio, suggerisce una correlazione tra le lesioni istopatologiche riscontrate e la contaminazione ambientale dovuta alla presenza dei pozzi petroliferi nelle aree di allevamento. Risulta interessante notare che la maggior parte delle iperplasie e degli adenomi e l'unico carcinoma riscontrato siano state rilevate in pecore provenienti nel distretto di Villa d'Agri, ad alta densità di pozzi petroliferi. I nostri dati, seppur preliminari, contribuiscono a rafforzare l'idea che alterazioni morfologiche e funzionali della tiroide possano essere associati alle aree più contaminate. Come molte altre sostanze considerate interferenti endocrini, gli IPA sono in grado di provocare la riduzione degli ormoni tiroidei circolanti, di interferire con i recettori tiroidei e di intervenire sui pathway che regolano la produzione e la degradazione degli ormoni tiroidei (Jain,

Tab. 1 - Alterazioni tiroidee riscontrate nei diversi distretti sanitari

distretto	iperplasie			adenomi	carcinomi
	lievi	moderate	gravi		
Potenza	3/17	1/17	0/17	1/17	0/17
Villa d'Agri	2/35	8/35	15/35	11/35	1/35
Senise	1/12	1/12	0/12	1/12	0/12
Lauria	3/15	3/15	1/15	1/15	0/15

2016). L'associazione tra IPA e cancro è ancora oggetto di studio e i dati finora riportati in letteratura sono ancora inconsistenti (Fowles et al., 2016). Ad oggi, molti dei dati tossicologici disponibili per la valutazione del rischio degli IPA sulla ghiandola tiroidea sono stati ottenuti utilizzando roditori da laboratorio. Per questo motivo, gli studi epidemiologici sono fondamentali per fornire un dato reale e non distorto sugli effetti di tali sostanze sulla tiroide. In quest'ottica, i risultati del nostro lavoro evidenziano l'importanza degli ovini come animali sentinella del biomonitoraggio ambientale.

Thyroidal pathology and environmental contaminants: ovine as sentinels for environmental biomonitoring

Key words: thyroid, PAH, ovine, animal sentinel

Bibliografia

- Fowles J.R., Banton M.I., Boogaard P.J., Ketelslegers H.B., Rohde A.M. (2016) Assessment of petroleum streams for thyroid toxicity, *Toxicology Letters* 254:52-62
- Jain R.B. (2016) Association between polycyclic aromatic hydrocarbons and thyroid function among males and females: data from NHANES 2007–2008, *International Journal of Environmental Health Research*, 26;(4): 405-419
-

Blue tongue: cambiamenti epidemiologici in Campania negli anni 2014-2018

DE FELICE A, CALIGIURI V, VITALE V, OTTAIANO M, GALIERO G, BALDI L

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno

Parole chiave - Bluetongue, Campania, BTV4 EPIDEMY

Introduzione - Da quando la Bluetongue ha fatto la sua comparsa nel territorio Italiano nel 2000, la malattia, caratterizzata da molteplici ondate epidemiche sostenute dai sierotipi 1,2,4,9,16, è divenuta endemica. Questo studio sintetizza il trend epidemiologico della BT in Campania, con particolare focus alla più recente epidemia del BTV4, in relazione ai risultati del Piano Nazionale di Sorveglianza basato sulla Decisione Europea 1266/2007. In Campania, il primo focolaio di BTV è avvenuto in Provincia di Salerno a Novembre 2002. Nello stesso anno il sistema di sorveglianza nelle sentinelle hanno mostrato sieroconversione per il BTV2 e BTV9, gli stessi sierotipi hanno continuato a circolare sino al 2005. Dal 2004 è stata rilevata anche la circolazione anche del BTV16. Dal 1 Gennaio 2001 al 31 Dicembre 2004 sono state condotte quattro campagne vaccinali verso il BTV2 ed il BTV9. Dopo dieci anni di assenza della malattia, a Gennaio 2014 si è verificata la prima incursione di BTV1 nel nostro territorio, l'anno successivo il sistema di sorveglianza sierologico ha mostrato una sieroconversione in provincia di Salerno per il BTV4. Nel 2016 il sierotipo 4 si è largamente diffuso nell'intera Regione, mentre si è ridotta la circolazione del BTV1. L'epidemia del BTV4 si è mostrata con una sintomatologia clinica di rilievo negli ovini, mostrando un tasso di morbilità pari a 7 % e un tasso di mortalità pari al 2%. Nel corso del 2016 in Campania sono stati notificati 124 focolai causati principalmente da BTV4, così suddivisi: 42 focolai clinici, 39 positività diagnostiche, 43 sieroconversioni. Nel 2017 la Campania ha adottato un Piano volontario di vaccinazione del patrimonio ovino (Decreto Dirigenziale 32, pubblicato sul BURC 26/06/2017) per proteggere gli animali dalla forma clinica sostenuta dal BTV4. Nel 2017 l'epidemia è rientrata, in SIMAN sono stati notificati 13 focolai, di cui nessun focolaio clinico.

Materiali e metodi - Per implementare GIS è stato costruito un database che contiene informazioni aggiornate sull'anagrafica delle aziende e dei focolai notificati. I dati anagrafici delle aziende sono stati estratti dalla Banca dati nazionale (BDN), i dati riguardanti le notifiche dei casi di BT sono stati estratti dal SIMAN (Sistema Informativo Malattie Infettive Animali), i dati relativi alle vaccinazioni effettuate sono stati scaricati dal SANAN (Applicativo Web dei controlli in Sanità Animale). È stato alimentato un data-

base costruito ad hoc che ha integrato l'insieme dei dati raccolti per l'elaborazione cartografica in GIS.

Risultati e considerazioni

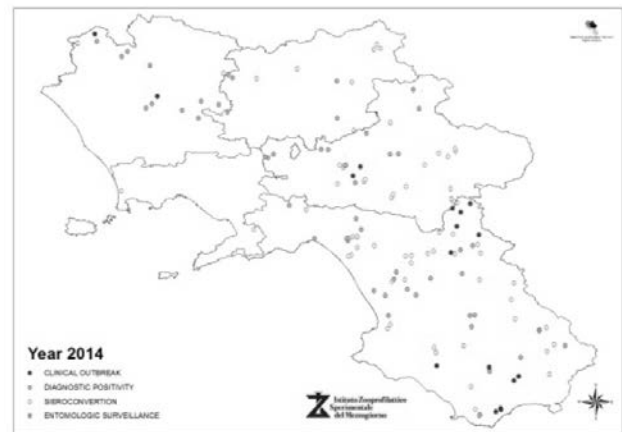


Fig. 1 - Mappa dei casi di in Campania nel 2014



Fig. 2 - Mappa dei casi BT in Campania nel 2015

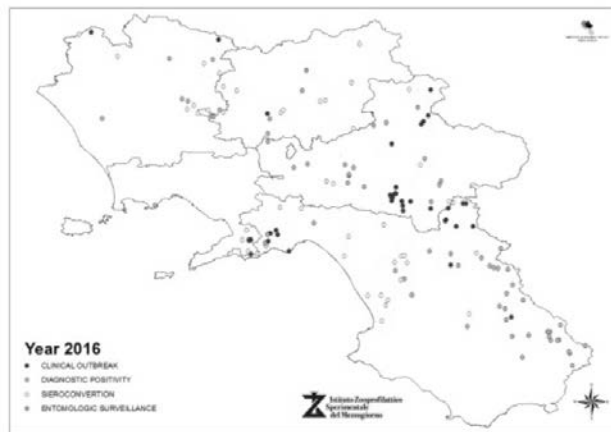


Fig. 3 - Mappa dei casi BT in Campania nel 2016



Fig. 4 - Mappa dei casi BT in Campania nel 2017

Discussione - Dopo la grave epidemia da BTV4 che nel 2016 ha afflitto la maggior parte delle Regioni Italiane, nel 2017 e nei primi cinque mesi del 2018 il sistema di siero sorveglianza ha evidenziato una esigua circolazione virale da i BTV1 e BTV4 (5 notifiche per BTV1 e 8 notifiche per BTV4, SIMAN). In passato vi sono state molteplici vie di ingresso nel territorio italiano: un corridoio a ovest attraverso il Nord Africa e un corridoio a est attraverso la Turchia e la Grecia. Possibili modalità di introduzione potrebbero avvenire attraverso i *Culicoides* trasportati dai venti o movimentazioni di animali infetti. In base alla mappa di rischio basata sul Sistema GIS per definire la presenza/assenza di *Culicoides* il 90% della Campania rientra nelle zone di rischio medio-alto per la presenza di *C. imicola* (Caligiuri et al.). La Campania a causa della sua peculiare posizione geografica potrebbe essere esposta ad altre incursioni. Nell'Ottobre 2017 il BTV3 è stato isolato in Sicilia (Lorusso et al.) In base al parere EFSA (2011) la Campania rientra nelle tre principali vie di introduzione di sierotipi esotici del BTV in Europa, considerando la Grecia, l'Italia Meridionale, la Spagna, le Isole Baleari, la Sardegna e la Corsica le vie di ingresso a maggior rischio e, conseguentemente le aree più appropriate per la sorveglianza attiva tesa a rilevare precocemente la circolazione virale di nuovi sierotipi, in aggiunta alla già consolidata sorveglianza passiva.

Blue tongue: epidemiological changes in Campania region in years 2014-2018

Key words - Blue tongue, Campania region, BTV4 EPIDEMY

Biografia

Caligiuri et al. (2004) Bluetongue surveillance in Campania Region of Italy using a geographic information system to create risk map *Veterinaria Italiana*, 40 (3): 358-359

Lorusso A, Guercio A., Purpari G., Cammà C., Calistri P., D'Alterio N, Hammami S., Sghaier S. and Savini G. (2017) Bluetongue virus serotype 3 in Western Sicily, *Veterinaria Italiana*, 53 (4): 273-275

Studio di associazione genome-wide tra CNV e parametri qualitativi del latte nella razza ovina Valle del Belice

DI GERLANDO R, SUTERA AM, SARDINA MT, TOLONE M, PORTOLANO B, MASTRANGELO S

Università degli Studi di Palermo, Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali

Parole chiave - CNV, GWAS, parametri qualitativi del latte, Valle del Belice

Introduzione - L'avvento delle moderne tecnologie genomiche ha permesso l'identificazione di piccole varianti strutturali dette copy number variants (CNVs). Le CNVs sono definite come regioni genomiche che coinvolgono segmenti di DNA maggiori di 0,5 kb e che si possono trovare in un numero variabile di copie rispetto a una sequenza di riferimento (Mills et al., 2011; Jiang et al., 2013). Studi di associazione genome-wide (GWAS) tra le CNVs e fenotipi sono stati condotti in diverse specie di interesse zootecnico. I risultati hanno evidenziato il loro coinvolgimento come fattori di variabilità fenotipica (colore del mantello, produzione di latte, fertilità). Questo lavoro riporta per la prima volta i risultati di uno studio di associazione genome-wide tra le CNVs e i parametri qualitativi del latte nella razza ovina Valle del Belice, con l'obiettivo di individuare regioni genomiche che mostrano CNVs coinvolte nei caratteri presi in esame.

Materiali e metodi - Un totale di 468 pecore Valle del Belice sono state genotipizzate con Illumina OvineSNP50K BeadChip. Solo gli SNPs (polimorfismi a singolo nucleotide) autosomici (52.413) (assemblaggio del genoma Oar_v3.1) sono stati utilizzati per le analisi successive. Per la chiamata delle CNVs è stato utilizzato il software Golden Helix SNP & Variation Suite (SVS) 8.7.0, che utilizza i valori di Log R Ratio (LRR) di ogni SNP. La qualità dei LRR e il filtraggio dei campioni outlier sono stati eseguiti con il software

SVS. È stata condotta un'analisi delle componenti principali (PCA) per rilevare la presenza di effetti batch e correggere i valori LRR. In totale sono stati esclusi 52 campioni. Le regioni genomiche contenenti le varianti strutturali (CNVR) sono state determinate aggregando CNVs sovrapposti in almeno due campioni.

I dati fenotipici raccolti, 5.446 records di lattazione da 468 pecore, comprendevano la produzione di latte (MY), percentuale di grasso (FP), contenuto in grasso (FY), percentuale di proteine (PP), contenuto di proteine (PY) e contenuto di cellule somatiche (SCC). Di tutti i caratteri fenotipici sono stati stimati gli EBV e i DEBV. Come stima del valore riproduttivo, i DEBV sono stati considerati più accurati e pertanto utilizzati nella GWAS. I test di associazione sono stati eseguiti utilizzando il plug-in "Correlation-trend test" nel software SVS 8.7.0 con correzione PCA. Sono state considerate significative le CNVs il cui p-value era <0,05 dopo la correzione FDR. Il Genome Data Viewer è stato utilizzato per l'identificazione dei geni presenti nelle CNVR. Inoltre, è stata eseguita un'analisi di enrichment utilizzando il QTL database (Sheep Quantitative Trait Locus) per identificare le CNVR che si sovrapponevano alle regioni QTL (QTLR). Infine, il DAVID Bioinformatics Resources 6.8 è stato usato per l'analisi di Gene Ontology (GO), mentre il database di Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) per l'analisi dei pathways.

Tab. 1 - GO terms associate con le CNVRs ($P < 0.05$)

Category	GO Name	N°	P-value
GOTerm_CC	intracellular	21	0.004622
GOTerm_MF	olfactory receptor activity	17	1.60E-04
	nucleic acid binding	19	2.40E-04
	G-protein coupled receptor activity	19	5.17E-04
	metal ion binding	22	0.00261
GOTerm_BP	regulation of transcription	13	0.004813

Risultati e considerazioni - Sono state identificate un totale di 7.208 CNVs, con un numero medio di 17,32 per animale e una lunghezza media di 348,10 kb. Aggregando le CNVs sovrapposte, sono state identificate 724 CNVR: 82 CNVR con duplicazione e 642 con delezione. Il numero medio di CNVR era di 8,37 per animale, con una lunghezza media di 352,00 kb.

I risultati hanno mostrato 216 CNVR significativamente associate a uno o più caratteri produttivi tra quelli inclusi nell'analisi. In particolare, un totale di 70, 93, 75 e 6 CNVR erano significativamente associate con MY, FP, FY and PP.

Una sola CNVR si trovava contemporaneamente associata a tre dei caratteri produttivi, 73 a due caratteri e le restanti 142 ad un solo carattere. Diverse CNVR sono state localizzate all'interno di diversi QTL correlati con i caratteri fenotipici considerati. Un totale di 514 geni erano annotati all'interno delle CNVR significativamente associate ai caratteri studiati. I risultati delle analisi GO (Tab 1) e KEGG hanno mostrato che le funzioni delle proteine codificate da questi geni includevano un ampio spettro di processi biologici, componenti cellulari, funzioni molecolari e pathways. In

particolare, alcuni geni erano legati alla sintesi e alla produzione di latte ed allo stato sanitario degli animali. I geni identificati nelle CNVR associate ai caratteri studiati potrebbero essere utilizzati per approfondire il loro ruolo nelle vie metaboliche correlate alla produzione di latte.

Genome-wide association study between CNVs and milk production traits in Valle del Belice sheep breed

Key words - CNV, GWAS, milk production traits, Valle del Belice sheep

Bibliografia

- Jiang L, Jiang J, Yang J, Liu X, Wang J, Wang H, et al. (2013), Genome-wide detection of copy number variations using high-density SNP genotyping platforms in Holsteins. *BMC Genomics* 14:131.
- Mills RE, Walter K, Stewart C, Handsaker RE, Chen K, Alkan C, et al. (2011) Mapping copy number variation by population scale genome sequencing. *Nature* 470:59-65.

Questa ricerca è stata finanziata da
PON02_00451_3133441, CUP: B61C1200076005
finanziato dal MIUR.

Isolamento di *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* da feci e tessuti di piccoli ruminanti utilizzando un metodo colturale liquido non automatizzato

De Grossi L¹, Santori D¹, Barone A¹, Abbruzzese S¹, Ricchi M², Marcario GA¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana "M. Aleandri"; ²Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna "B. Ubertini", centro di referenza nazionale per la Paratuberculosis

Parole chiave - Map ovino, ceppi, colture, paratuberculosis

Introduzione - In Italia i ceppi di *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* nei bovini sono frequentemente isolati e studiati mentre l'isolamento di MAP nelle pecore e nelle capre è molto raro e i ceppi circolanti e le loro caratteristiche sono pressochè sconosciuti. La paratuberculosis è molto comune sia nei bovini che nei piccoli ruminanti, c'è quindi bisogno di approfondire questo aspetto per molteplici ragioni legate alle forme di malattia, contagio, sviluppo di eventuali vaccini (ora vietati in Italia) e per migliorare i programmi di controllo della Paratuberculosis.

Lo scopo di questo studio era coltivare ceppi di tipo MAP 1 (S) in ovini e caprini usando un metodo manuale liquido colturale.

Materiali e metodi - Abbiamo investigato 4 greggi con la paratuberculosis e 1 gregge considerato sano come rilevato in precedenti nostre ricerche.

Abbiamo raccolto un totale di 603 campioni di sangue e 419 campioni di feci. I campioni di siero sono stati analizzati mediante saggio immunoassorbimento enzimatico, screening e verification (IDVET di Paratuberculosis ELISA)

I campioni di feci sono stati testati usando il terreno solido Erroll's Egg Yolk Medium (HEYM) e il terreno liquido Middlebrook (7H9+) e la Real Time PCR (IS 900) impiegata anche per saggiare la positività delle colture liquide. Periodicamente, 20-40 gg, i terreni liquidi sono stati testati da qPCR per rilevare IS900. I positivi sono stati confermati da QPCR f57 e poi con PCR DMC per tipizzarli se ceppo bovino o ovino.

Durante l'esperimento due animali positivi sono morti e tessuti e feci sono stati indagati per MAP.

Risultati e considerazioni - Tutti e quattro i greggi scelti sono risultati positivi alla MAP e uno confermato negativo, usato come controllo.

86 campioni di siero sono risultati positivi al test MAP di Elisa.

17 campioni di feci provenienti dagli stessi soggetti, con alto valore % S/P (> 100), e 7 negativi sono stati selezionati per essere coltivati in mezzo liquido e solido e la coltura liquida è stata analizzata mediante RT-PCR.

In totale sono stati coltivati 28 campioni, tra cui feci e tessuti, e 12 di questi sono risultati positivi alla qPCR IS 900 per MAP. Sei ceppi sono risultati di tipo 1 (S) rispettivamente da due greggi e quattro pecore.

I risultati ottenuti rappresentano uno dei primi ceppi ovini di MAP isolati in Italia e il metodo colturale modificato utilizzato si è rivelato efficace. Ulteriori analisi dovrebbero essere svolte per studiare l'origine e l'epidemiologia dei ceppi di tipo 1 circolanti in Italia.

Isolation of *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* from feces and tissues of small ruminants using a non-automated liquid culture method

Key words - ovine Map, strains, cultures, paratuberculosis

Bibliografia

- Pozzato N., Gwozdz J., Gastaldelli M., Capello K., Dal Ben C., Stefani E., 2010. Evaluation of a rapid and inexpensive liquid culture system for the detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in bovine faeces. *Journal of Microbiological Methods* 84 (2011) 413-417
- Gwozdz, J., 2006. Comparative evaluation of two decontamination methods for the isolation of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* from faecal slurry and sewage. *Vet. Microbiol.* 115, 358-363
- Marsh, I., Whittington, R., 2001. Progress towards a rapid polymerase chain reaction diagnostic test for the identification of *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* in faeces. *Mol. Cell. Probes* 15, 105-118.
- Millar, D., Ford, J., Sanderson, J., Withey, S., Tizard, M., Doran, T., Hermon-Taylor, J., 1996. IS900 PCR to detect *Mycobacterium paratuberculosis* in retail supplies of whole pasteurized cows' milk in England and Wales. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 3446-3452
- Collins et al 2002 *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* Strains from Cattle and Sheep Can Be Distinguished by a PCR Test Based on a Novel DNA Sequence Difference.

Rilevamento precoce e pre-clinico della proteina prionica patologica nel liquido cerebrospinale caprino meditante Real-Time Quaking-Induced Conversion assay

FAVOLE A¹, MAZZA M¹, VALLINO COSTASSA E¹, D'ANGELO A², MARTINELLI N³, LOMBARDI G³, MARCONI P⁴, GALLO M¹, ACUTIS P¹, CARAMELLI M¹, CASALONE C¹, CORONA C¹

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta, Torino, Italia; ² Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Torino, Italia; ³ Istituto Zooprofilattico della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia, Italia; ⁴ Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Scandicci (FI), Italia.

Parole chiave - prioni, capre, liquor, RT-QuIC

Introduzione - La diffusione dell'Encefalopatia Spongiforme Bovina (BSE) nei piccoli ruminanti è ad oggi uno dei punti di maggior interesse nella sorveglianza delle Encefalopatie Spongiformi Trasmissibili (EST) poiché non si può escludere che, in passato, anche la popolazione ovicaprina si sia trovata esposta in condizioni naturali a questo tipo di infezione. Inoltre, il passaggio dell'agente infettivo in un nuovo ospite può determinare una variazione delle proprietà del ceppo prionico e rendere difficile il riconoscimento del ceppo originario, aumentando il rischio della diffusione epidemica dell'agente infettivo. Ad oggi non sono stati riportati casi di BSE naturale negli ovini, mentre dal 2005, sono stati identificati due casi di BSE nella capra [1,3]. Inoltre, sono state recentemente riportate anche trasmissioni sperimentali della forma classica (C-BSE) e atipica di BSE (L-BSE) nella specie caprina [4]. Su queste basi, lo sviluppo di un nuovo approccio per la diagnosi *ante mortem* e la caratterizzazione dei ceppi delle EST dei ruminanti potrebbe aiutare a ridurre il rischio di diffusione epidemica delle EST animali. Il presente progetto di ricerca si è pertanto proposto di verificare l'applicabilità del metodo RT-QuIC nella diagnostica delle EST dei piccoli ruminanti. In particolare, è stata valutata la sensibilità e la specificità del test nel rilevare la presenza della PrP^{Sc} in omogenati di cervello e nel liquido cerebrospinale (CSF), prelevato all'esordio clinico e durante il periodo asintomatico, di animali infettati naturalmente e sperimentalmente con Scrapie e con isolati di BSE classica ed atipica (C-BSE e BASE).

Materiali e metodi - Omogenati di cervello caprino (10% peso/volume) negativi (n=2) e provenienti da casi naturali di Scrapie (n=2) o da capre di razza Saanen (ARQ/ARQ) sperimentalmente inoculate per via intracranica (i.c.) con C-BSE (n=2) o BASE (n=2) sono stati preparati come descritto in precedenza [4] ed analizzati mediante Western Blot (WB). WB: l'estratto proteico è stato separato mediante corsa elettroforetica SDS - PAGE su minigel al 12% e successivamente trasferito su membrana PVDF. I blots sono stati poi incubati con gli anticorpi monoclonali P4 (dil.1:5000;

r-Biopharm) e 6H4 (1:5000; Prionics). Per l'analisi in RT-QuIC, gli omogenati di cervello sono stati diluiti in 0.1% SDS-PBS come precedentemente riportato [2]. La miscela di reazione di RT-QuIC (RTQ Buffer) aveva la seguente composizione: 10 mM tampone fosfato, 300 mM NaCl, 10 M ThT, 10 M EDTA e 0.1 mg/mL di substrato di proteina prionica ricombinante (rPrP^{Scen}). Le rPrP^{Scen} utilizzate in questo studio (Syrian golden hamster - rHaPrP^{Scen} residui da 90 a 231; chimerica criceto-pecora - rHaSprP^{Scen} 23-231) sono state prodotte e purificate come precedentemente descritto [2]. Il RTQB è stato caricato nei pozzetti di una piastra da 96 con il fondo trasparente e le reazioni avevano come seed 2 L di diluizione di tessuto cerebrale o 15 L di CSF per un volume finale per reazione di 100 L. Le piastre sono state sigillate ed incubate in un BMG Fluostar plate reader a 42°C o 55°C per 90 ore con cicli di 1 minuto di agitazione (700 rpm) ed 1 minuto di pausa durante tutto il periodo di incubazione della reazione. Le misurazioni della fluorescenza (ThT) sono state eseguite automaticamente dallo strumento ogni 45 minuti (eccitazione, 450 ± 10 nm; emissione 480 ± 10 nm).

Risultati e considerazioni - I tessuti cerebrali sono stati testati in WB per saggiare la presenza della PrP^{Sc} prima di procedere alle successive analisi in RT-QuIC. I nostri risultati indicano che l'RT-QuIC può sensibilmente rilevare l'attività di *seeding* associata sia alla PrP^{C-BSE} che alla PrP^{BASE} nei tessuti cerebrali di capra in meno di 40 ore. Inoltre, la nostra capacità di rilevare diluizioni fino a 10⁻⁸ in tutti i tessuti cerebrali di capre infettate da vari ceppi prionici indica che l'RT-QuIC è sensibile almeno quanto i saggi biologici di infettività. Per rilevare la presenza della PrP^{Sc} *ante mortem*, abbiamo confrontato gli effetti della temperatura, come delle concentrazioni di sodio dodecil solfato (SDS) sulle reazioni di RT-QuIC utilizzando il CSF come innesco di reazione. L'incremento medio della fluorescenza è stato più forte e più veloce per il CSF analizzato utilizzando le nuove condizioni migliorate del protocollo di RT-QuIC (riferite qui come Improved QuIC-CSF, IQ-CSF), mostrando segnali positivi già

dopo 5 ore, rispetto alle 40 ore che sono necessarie per le reazioni in assenza di SDS. Le nuove condizioni migliorate del protocollo di RT-QuIC sono state quindi utilizzate per le successive analisi che hanno permesso di rilevare sia la PrP^{C-BSE} che la PrP^{Scrapie} nel CSF di animali sintomatici. Successivamente, sono stati analizzati mediante IQ-CSF anche campioni di CSF raccolti da capre infettate con BASE durante la fase pre-sintomatica. Sorprendentemente, l'attività di *seeding* associata alla PrP^{BASE} è stata rilevata precocemente dopo l'inoculazione sperimentale, con un tempo medio di 439 giorni prima della comparsa dei sintomi clinici. Presi insieme questi dati sono indicativi del grande potenziale di questo saggio di amplificazione del prione *in vitro* per la diagnosi *ante mortem* delle malattie da prioni nei piccoli ruminanti asintomatici e vivi.

Early and pre-clinical detection of pathological prion protein in cerebrospinal fluid of goats using Real-Time Quaking-Induced Conversion assay

Key words - prion, goats, CSF, RT-QuIC

Bibliografia

- Eloit M, Adjou K, Coullier M, , *et al.* (2005), BSE agent signatures in a goat. *Vet Rec.* Apr 16;156(16):523-4.
- Orrú CD, Favole A, Corona C, *et al.* (2015), Detection and discrimination of classical and atypical L-type bovine spongiform encephalopathy by real-time quaking-induced conversion. *J Clin Microbiol.* Apr;53(4):1115-20.
- Spiropoulos J, Lockey R, Sallis RE, *et al.* (2011), Isolation of prion with BSE properties from farmed goat. *Emerg Infect Dis.* Dec;17(12):2253-61.
- Vallino Costassa E, D'Angelo A, Mazza M, *et al.* (2018), Clinical, pathological, and molecular features of classical and L-type atypical-BSE in goats. *PLoS One.* May 24;13(5):e0198

Benessere e biosicurezza nelle capre da latte: il metodo di valutazione del Centro di Referenza Nazionale per il Benessere Animale

GAFFURI A^{1A}, ANGELUCCI A², LORENZI V^{1B}, FUSI F^{1B}, BERTOCCHI EL^{1B}

¹Istituto Zooprofilattico della Lombardia e dell'Emilia Romagna ^a Sezione Diagnostica di Bergamo, ^b CRENBA - Brescia; ²Medico Veterinario libero professionista

Parole chiave - capra da latte, benessere animale, biosicurezza, protocollo di valutazione.

Introduzione - L'allevamento della capra da latte sta assumendo sempre più importanza nella zootecnia italiana e rappresenta un settore in espansione. Negli ultimi anni il sistema di allevamento ha subito delle profonde e rapide modificazioni, soprattutto per le razze a spiccata attitudine lattifera, affiancando ai sistemi estensivi, quelli intensivi e semi-intensivi. Ciò ha comportato una maggiore attenzione verso le problematiche connesse al benessere e, in particolare, allo studio dei fattori ambientali e tecnico-gestionali che possono rappresentare un pericolo per il benessere degli animali. Dato questo nuovo scenario, il Centro di Referenza Nazionale per il Benessere Animale (CRENBA), nell'ambito del progetto di ricerca ministeriale RuminantWelfare, ha sviluppato un protocollo (check-list) per la valutazione del benessere nell'allevamento della capra da latte. Il sistema, già validato per la valutazione del benessere della bovina da latte (Bertocchi *et al.*, 2018), si caratterizza per l'efficace rilievo delle carenze dell'allevamento e permette di individuare lo stretto collegamento fra condizioni di allevamento ed effetti sugli animali, attraverso le così dette "animal based measures" (ABMs). Il metodo inoltre utilizza parametri oggettivi e misurabili e i tempi di lavoro (visita aziendale, compilazione della check-list, invio della stessa al CRENBA ed ottenimento del risultato) sono contenuti. La valutazione è eseguita da veterinari che hanno frequentato un corso di formazione organizzato dal CRENBA.

Materiali e metodi - La check-list di valutazione è stata realizzata partendo da evidenze scientifiche (opinioni EFSA, progetto AWIN,) da riferimenti legislativi (D. L.vo n. 146/2001) e da pubblicazioni inerenti al benessere delle capre da latte. Un gruppo di esperti, costituito da veterinari liberi professionisti, professori universitari, veterinari dipendenti ATS e IZS, è stato coinvolto in una expert opinion elicitation al fine di definire e caratterizzare i pericoli e gli effetti avversi da includere nella check-list. Lo stesso gruppo ha partecipato al test di concordanza tra operatori. La check-list è costituita da 53 elementi di verifica (item) a risposta triplice: "inaccettabile", "accettabile" e "ottimale", raggruppati in 5 diverse aree di valutazione. Si basa sulla raccolta dei dati derivanti dalla misurazione sia dei pericoli presenti nell'ambiente di allevamento, tramite non-ABMs

(es. management, strutture di stabulazione, condizioni microclimatiche), sia degli effetti avversi che si riflettono sugli animali (ABMs). La valutazione dei pericoli è effettuata tramite gli item dell'area A "Management aziendale e personale" (es. numero e formazione del personale di stalla, gestione della razione alimentare, ecc.) e area B "Strutture ed attrezzature" (es. superficie di decubito, ecc.). Una terza area (Area C "ABMs") permette di rilevare gli effetti avversi sull'animale (es. valutazione del body condition score, prevalenza di zoppia, ecc.). Sono state inoltre individuate altre due aree che possono influenzare il benessere dell'animale: "Biosicurezza", ovvero l'insieme delle misure per prevenire l'introduzione di nuove malattie e per limitarne la diffusione; e "Grandi rischi e sistemi di allarme", ovvero i presidi per prevenire il verificarsi di eventi dannosi (es. incendio). La check-list può essere applicata in allevamenti di capre da latte intensivi, semi-intensivi e semi-estensivi. Il calcolo finale dei punteggi di area e complessivi di benessere, biosicurezza e prevenzione dei grandi rischi è eseguito da un programma specifico e viene riportato su un documento cartaceo, unitamente all'elenco delle eventuali "non conformità legislative", e dei punti critici.

Risultati e considerazioni - Sono stati valutati 51 allevamenti, (intensivi, semi-intensivi e semi-estensivi), 21 in Lombardia, 13 in Piemonte, 4 in centro Italia, 3 in Sardegna e 10 in Sicilia. Di questi, 11 allevamenti (21,6%) hanno evidenziato scarse condizioni di benessere (punteggio complessivo < 60%), mentre 34 (66,7%) non hanno raggiunto un livello di biosicurezza sufficiente (punteggio < 60%). Le carenze nell'area del management più frequenti sono emerse nella gestione della razione alimentare e nell'igiene di mungitura. Nell'area B i maggiori punti critici sono stati la superficie disponibile per il decubito delle capre adulte, l'accesso in mangiatoia e i numeri di posti disponibili, la dimensione e il funzionamento degli abbeveratoi e la mancanza del locale infermeria. Nell'area delle ABMs gli effetti avversi più frequenti sono stati la presenza di unghioni lunghi e l'alta mortalità delle capre adulte, benché 44 allevamenti (86,3%) abbiano dimostrato soddisfacenti condizioni generali degli animali (punteggio area ABMs > 60%). Le maggiori carenze nell'area

della biosicurezza sono state riscontrate negli allevamenti di tipo semi-intensivo e semi-estensivo e riguardano il contatto con altre specie animali e le scarse precauzioni per l'ingresso degli automezzi in allevamento.

I dati finora acquisiti permettono di formulare solo qualche considerazione generale, ovvero che l'allevamento delle capre da latte, per quanto mostri degli aspetti positivi per il benessere degli animali, non è esente da criticità e da situazioni di pericolo, soprattutto nelle aree relative al management, strutture e biosicurezza. La check-list di valutazione del benessere e della biosicurezza si è dimostrata uno strumento utile e pratico, sia per il veterinario che per l'allevatore, al fine di individuare i principali fattori di rischio e indirizzare le azioni di miglioramento.

Si ringrazia per la collaborazione: dr. G. Albrici, dr. F. Bencetti, dr.ssa S. Bergagna, dr.ssa E. Cordovani, dr.ssa C. Garbarino, dr. C. Gelmini, prof.ssa S. Mattiello, dr.ssa G. Minghetti, dr. V. Monteverde, dr.ssa P. Nicollussi, prof. A. Peli, dr. G. Pilo, Dr. A. Quasso, dr. M. Villa.

Welfare and biosecurity in dairy goats: The Assessment Protocol Developed by The Italian National Reference Centre for Animal Welfare

Key words: dairy goats, animal welfare, biosecurity, assessment protocol.

Bibliografia

- AWIN, 2015. AWIN welfare assessment protocol for goats;
- Battini M., Stilwell G., Vieira A., Barbieri S., Canali E., Mattiello S. (2015) "On-farm welfare assessment protocol for adult dairy goats in intensive production systems. *Animals* 5:934-950;
- Bertocchi L., Fusi F., Angelucci A., Bolzoni L., Pongolini S., Strano R.M., Ginestreti J., Riuzzi G., Moroni P., Lorenzi V. (2018) "Characterization of hazards, welfare promoters and animal-based measures for the welfare assessment of dairy cows: Elicitation of expert opinion". *Prev Vet Med.*:150:8-18;
- Decreto Legislativo n. 146 del 26 marzo 2001, "Attuazione della direttiva 98/58/CE relativa alla protezione degli animali negli allevamenti", pubblicato nella Gazzetta Ufficiale n. 95 del 24 aprile 2001
- Muri K, Stubsjøen S.M. and Valle P.S. (2013) "Development and testing of an on-farm welfare assessment protocol for dairy goats". *Animal Welfare* 22:385-400

Mastiti da *Staphylococcus intermedius* in allevamenti ovini siciliani

GAMBINO D¹, VICARI D¹, CRUCITTI D¹, PERSICETTI MF¹, CARACAPPA G¹, SCHIRÒ G¹, GENTILE A¹, CARACAPPA S¹

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri", Palermo

Parole chiave - *Staphylococcus intermedius*, latte, ovini, mastite

Introduzione - Nei piccoli ruminanti come gli ovini, le mastiti sono infezioni della ghiandola mammaria che, oltre a costituire un problema sanitario, rappresentano la principale causa di perdita economica per gli allevatori in quanto provocano effetti non solo sulla quantità e qualità delle produzioni di latte ma anche perdita di animali e costi sanitari.

La diagnosi di mastite si esegue valutando i sintomi riscontrabili nell'animale come le lesioni della mammella, le alterazioni del latte quali il colore, la densità e l'odore, la conta delle cellule somatiche ed eseguendo l'esame colturale del latte per l'identificazione del microrganismo responsabile. Le mastiti sono, infatti, malattie a carattere infettivo determinate da diversi microrganismi (batteri, micoplasmi, muffe, lieviti, virus) che possono coinvolgere una parte o tutta la mammella.

Tra i batteri coagulasi positivi, gli stafilococchi sono il principale agente eziologico di mastite nei ruminanti e *S. aureus* è la specie maggiormente isolata nei casi di mastite clinica. Recentemente, l'attenzione scientifica sta prendendo in considerazione anche lo *Staphylococcus intermedius* come potenziale agente mastidogeno ed è stato associato anche ad altre patologie. Il comune iter di isolamento e identificazione utilizzato nei laboratori di batteriologia per la ricerca di Stafilococchi non permette di discriminare tra i coagulasi positivi l'*aureus* dall'*intermedius*.

Lo scopo di questo studio è di valutare la prevalenza dello *Staphylococcus intermedius* responsabile di mastite negli ovini siciliani e valutarne la sensibilità agli antimicrobici maggiormente in uso.

Materiali e metodi - La ricerca di *Staphylococcus intermedius* è stata effettuata presso i laboratori dell'Area Palermo dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia. Nel triennio 2016-2018, 604 campioni di latte, prelevati sterilmente e pervenuti in laboratorio a temperatura controllata (+ 4°C), sono stati sottoposti ad esame batteriologico per la ricerca di agenti mastidogeni entro 48h dal prelievo. Al fine di isolare gli stafilococchi, per ogni campione è stata eseguita la semina su mannitol salt agar (MSA) e su agar sangue (5% sangue defibrinato di montone).

Dopo 24h di incubazione a 37°C, le colonie di *Staphylococcus spp.* si presentavano gialle su MSA, in seguito

a viraggio del terreno, e prive di pigmentazione e circondate da alone di -emolisi su agar sangue. L'identificazione degli isolati è stata effettuata tramite morfologia della colonia, colorazione di Gram, test biochimici-enzimatici (catalasi, ossidasi, coagulasi) e infine gallerie API20STAPH® (bioMérieux API). Inoltre è stato eseguito il test di Voges Proskauer, che permette di differenziare, tra gli stafilococchi coagulasi positivi, *S. aureus*, capace di produrre acetoina a partire dal glucosio, da *S. intermedius*, che invece non ne produce.

Successivamente è stata valutata la sensibilità ad alcune molecole antibiotiche quali Amoxicillina (10 µg), Gentamicina (10 µg), Lincomicina + Spectinomina (109 µg), Penicillina G (10 µg), Rifampicina (30 µg), Spiramicina (100 µg), Tetraciclina (30 µg), Tilosina (30 µg). Gli antibiogrammi, eseguiti secondo la metodica della diffusione in agar (Kirby-Bauer), hanno permesso di mettere in atto una terapia mirata nei capi con infezione in corso.

Risultati e considerazioni - Su un totale di 604 campioni di latte ovino testato per la ricerca di agenti mastidogeni, 251 sono risultati positivi a *Staphylococcus spp.* In particolare, sono stati isolati 87 ceppi coagulasi positivi di cui 22 sono stati identificati come *S. intermedius*.

La sensibilità agli antibiotici testati dei 22 ceppi di *S. intermedius* isolati da latte ovino in Sicilia è riportata in tabella 1.

Da gennaio 2016 ad oggi, le analisi batteriologiche condotte su campioni di latte provenienti da ovini con sintomatologia ascrivibile a mastite, hanno permesso di isolare 22 ceppi di *Staphylococcus intermedius*. Gli antibiogrammi, oltre ad indicare la terapia antibiotica più idonea, hanno evidenziato per tutti i ceppi, la presenza di resistenze spesso a più classi di antibiotici. In particolare, il 50% dei ceppi è risultato resistente alla Penicillina G ed il 100% tra resistente ed intermedio alla Spiramicina. Per completare lo studio di resistenza, sono in corso delle indagini molecolari su questi ceppi per approfondire la presenza di geni di resistenza.

Alla luce dei nostri risultati, sarebbe opportuno approfondire il ruolo di *S. intermedius* come agente eziologico di mastiti negli ovini.

Tab. 1 - Risultati degli antibiogrammi eseguiti su 22 ceppi di *S. intermedius* isolati da latte ovino.

ANTIBIOTICO	R	I	S
Amoxicillina	25%	5%	70%
Gentamicina	5%	20%	75%
Lincomicina + Spectinomina	10%	10%	80%
Penicillina G	50%		50%
Rifampicina			100%
Spiramicina	30%	70%	
Tetraciclina	20%	5%	75%
Tilosina	15%		85%

R: resistente, I: intermedia, S: sensibile.

Mastitis from *Staphylococcus intermedius* in sicilian sheep farms

Key words: *Staphylococcus intermedius*, milk, sheep, mastitis

Bibliografia

- Bergonier D., De Crémoux R., Rupp R., Lagriffoul G., Berthelot X.. (2003) Mastitis of dairy small ruminants. *Veterinary Research* 34: 689–716.
- CLSI. (2018) Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; 4th ed.. CLSI supplement VET08. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Gelasakis A.I., Mavrogianni V.S., Petridis I.G., Vasileiou N.G.C., Fthenakis G.C. (2015). Mastitis in sheep - The last 10 years and the future of research. *Veterinary Microbiology* 181: 136-146.
- Scatassa M.L., Miraglia V., Mancuso I., Tolone M., Portolano B. (2013). Cellule somatiche ed isolamento di agenti mastidogeni in ovini di razza Valle del Belice. *Atti XX Congresso Nazionale S.I.P.A.O.C.*: 19.

***Toxoplasma gondii* in un allevamento di capre da latte naturalmente infetto: andamento degli anticorpi e del DNA del protozoo nel latte**

GAZZONIS AL¹, ZANZANI SA¹, VILLA L¹, VILLA M², MANFREDI MT¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano; ²Veterinario libero professionista

Parole chiave - *Toxoplasma gondii*, capre, ELISA, latte

Introduzione - *Toxoplasma gondii* è considerato uno dei maggiori patogeni di origine alimentare, acquisito con il consumo di carne cruda o poco cotta, una delle principali vie di trasmissione per l'uomo. Inoltre, è stata ipotizzata la possibilità di acquisire l'infezione tramite il consumo di latte crudo di capra, rafforzata a seguito della dimostrazione della presenza di DNA di *T. gondii* nel latte caprino (Mancianti et al., 2013). Dati sull'andamento dell'infezione nelle capre in lattazione e sulla presenza di *T. gondii* nel latte caprino sono carenti. È stato quindi pianificato uno studio in un allevamento di capre da latte in provincia di Varese con una storia precedente di aborti da *T. gondii* con lo scopo di valutare i) l'andamento durante la lattazione degli anticorpi anti-*T. gondii* in due matrici biologiche (sangue e latte) e ii) la presenza del parassita nel latte tramite il rilevamento del DNA di *T. gondii*.

Materiali e metodi - Lo studio è stato condotto presso un'azienda a conduzione familiare di 30 capre di razza Camosciata delle Alpi, con precedente report di infezione da *T. gondii* (Gazzonis et al., 2015), la cui produzione di prodotti caseari caprini è destinata alla vendita diretta. Tutte le capre presenti in azienda sono state arruolate per lo studio. Durante un periodo compreso tra marzo e luglio 2013, campioni individuali di sangue e, quando in lattazione, di latte sono stati prelevati ogni due settimane, per un totale di sette campionamenti (T1-T7). Per il rilevamento di anticorpi anti-*T. gondii* è stato utilizzato un kit commerciale (ID Screen® Toxoplasmosis Indirect Multi-Species, IDVET), seguendo le istruzioni date dalla casa produttrice per quanto riguarda i campioni ematici (n=207), e seguendo il protocollo descritto da Gazzonis et al. (2018) per i campioni di latte (n=151). I campioni di latte degli animali sieropositivi (n=103) sono stati inoltre processati per l'estrazione del DNA secondo Mancianti et al., (2013) con un kit commerciale (Nucleospin tissue, Macherey-Nagel, Germany); è stato infine utilizzato un protocollo di PCR-nested per amplificare una sequenza di 227bp all'interno della regione ITS1 (Hurtado et al., 2001).

Risultati e considerazioni - I risultati in ELISA condotta su siero hanno rivelato una prevalenza di infe-

zione al T1 pari al 63,3%. Nessuna capra ha sierconvertito durante il periodo di studio; un solo animale, negativo al T1, è risultato positivo in due prelievi successivi con valori di S/P% poco al sopra del cut-off. Anticorpi anti-*T. gondii* sono stati riscontrati anche in 103 campioni di latte. Considerando il valore di S/P% in ELISA, nelle prime due settimane dal parto sono stati registrati valori più bassi nei campioni ematici e più alti nel latte. Questa dinamica può essere spiegata dall'immunodepressione durante il peri-parto che può portare ad una diminuzione nelle IgG ematiche (Camosi et al., 2011); al contrario, alti livelli di IgG sono stati riportati nel latte nelle prime 24-36 ore dal parto, quando i capretti assumono le immunoglobuline dal colostro (Ferrer et al., 1997). Si è registrato poi un picco delle IgG alle due settimane dal parto, suggerendo una finestra temporale ottimale per la diagnosi di infezione da *T. gondii* tramite analisi su latte. Successivamente, i valori S/P% diminuiscono sia nel latte sia nei campioni ematici per avere infine un rialzo nei valori in entrambe le matrici analizzate alla fine della lattazione, probabilmente per un decremento nella produzione lattea e quindi ad una maggiore concentrazione proteica, come descritto per la specie bovina (Schaes et al., 2004). L'analisi molecolare, condotta sul latte dei soli animali sieropositivi, ha rivelato la presenza del DNA del parassita nel 34,9% dei campioni analizzati solo a partire dal primo mese di lattazione; l'identificazione con *T. gondii* è stata confermata dall'analisi delle sequenze ottenute. I dati ottenuti nel presente studio confermano la possibilità per il latte di essere utilizzato nella diagnosi di infezione da *T. gondii* nell'allevamento caprino, con conseguente riduzione dei costi oltre che dello stress per gli animali legati al prelievo dei campioni. Inoltre, il rilevamento del DNA di *T. gondii* nel latte conferma il potenziale ruolo del latte caprino e dei prodotti derivati a base di latte crudo nell'infezione umana; tuttavia, ulteriori studi sono necessari per indagare questa via d'infezione.

***Toxoplasma gondii* in a naturally infected dairy caprine herd: specific antibody and DNA detection in milk samples**

Key words - *Toxoplasma gondii*, goat, ELISA, milk

Bibliografia

- Camossi LG, Greca-Júnior H, Corrêa APFL, Richini-Pereira VB, Silva RC, Da Silva AV, Langoni H. (2011). Detection of *Toxoplasma gondii* DNA in the milk of naturally infected ewes, *Vet Parasitol* 177:256-261
- Ferrer O, Real F, Molina Jm, Acosta B, Munoz Mc, Leon L. (1997). IgG concentration in mammary secretions of goats throughout lactation in healthy and coagulase-negative Staphylococci infected udders. *Comp Immun Microbiol Infect Dis* 20(3):253-260.
- Gazzonis AL, Veronesi F, Di Cerbo AR, Zanzani SA, Molineri G, Moretta I, Moretti A, Fioretti DP, Invernizzi A, Manfredi MT. (2015), *Toxoplasma gondii* in small ruminants in Northern Italy - prevalence and risk factors. *Ann Agric Environ Med* 22:62-68.
- Gazzonis AL, Zanzani SA, Stradiotto K, Olivieri E, Villa L, Manfredi MT. (2018), *Toxoplasma gondii* antibodies in bulk tank milk samples of caprine dairy herds. *J Parasitol*, in press.
- Hurtado A, Aduriz G, Moreno B, Barandika J, Garcia-Perez AL. (2001), Single tube nested PCR for the detection of *Toxoplasma gondii* in fetal tissues from naturally aborted ewes. *Vet Parasitol* 102: 17-27.
- Mancianti F, Nardoni S, D'Ascenzi C, Pedonese F, Mugnaini L, Franco F, Papini R. (2013), Seroprevalence, detection of DNA in blood and milk, and genotyping of *Toxoplasma gondii* in a goat population in Italy. *BioMed Res Int*, 905326.
-

Formaggio a latte pastorizzato ovino: indagini microbiologiche durante le diverse fasi del processo produttivo

GIANGOLINI G, MARRI N, PATRIARCA D, PIETRINI P, BOSELLI C, SAGRAFOLI D, FILIPPETTI F, AMATISTE S

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana "M. Aleandri" - Centro di Referenza Nazionale per la Qualità del Latte e dei Prodotti derivati degli Ovini e dei Caprini (C.Re.L.D.O.C.)

Parole chiave - Ovini, latte, formaggio, *E. coli*

Introduzione - Il Reg. CE 2073/2005 e s.m.i. ha stabilito i criteri per la verifica delle condizioni igieniche durante la produzione dei formaggi, introducendo i «criteri di igiene del processo» ed individuando limiti per gli *E. coli*, previsti per i formaggi ottenuti da latte sottoposto a trattamento termico e per gli Stafilococchi Coagulasi Positivi (SCP), previsti per i formaggi freschi ottenuti da latte crudo, pastorizzato, termizzato e sottoposto a temperature più elevate della pastorizzazione. Questi criteri fissano un valore di riferimento oltre il quale devono essere avviate verifiche per l'individuazione delle cause che hanno comportato il superamento di tale limite ed applicate misure correttive. I produttori devono eseguire le opportune indagini microbiologiche durante le diverse fasi di produzione per individuare quale sia la fase più critica e verificare la corrispondenza ai limiti indicati dalla norma.

Scopo del lavoro è stato quello di verificare la conformità delle condizioni igieniche della filiera di produzione di formaggi ovini a latte pastorizzato in 3 caseifici industriali del Lazio (Ricerca Corrente IZSLT 01/13).

Materiali e metodi - Nel 2017 sono stati prelevati, durante le diverse fasi di produzione di formaggi ovini a latte pastorizzato, campioni di latte crudo, latte pastorizzato, cagliata, siero, formaggio appena prodotto (FT0), formaggio dopo 20 giorni di stagionatura (FT20). Sono stati eseguiti anche 8 campioni da salamoie liquide e 8 tamponi sulle superfici pulite delle vasche di raccolta della cagliata. I campionamenti sono stati eseguiti in 3 caseifici industriali durante 13 lavorazioni di formaggi a breve e lunga stagionatura per un totale di 68 campioni. La pastorizzazione è avvenuta tramite pastoreizzatore a piastre alla temperatura di 72°C x 15 secondi in due caseifici e 68°C x 1min nell'altro caseificio. Tutte le produzioni prevedevano l'uso di starter. Su ogni campione sono stati determinati i seguenti parametri microbiologici: *Enterobacteriaceae* (ISO 21528-2:2017), *E. coli* (ISO 16649-2:2001) e Stafilococchi Coagulasi Positivi (ISO 6888-2:1999/Amd2013). Per il latte pastorizzato è stata eseguita anche la determinazione dei Microrganismi a 30°C (ISO 4833-1:2013). Sono state calcolate le medie \pm scarto tipo per ogni parametro e per le diverse fasi delle 13 lavorazioni.

Risultati e considerazioni - Le medie delle *Enterobacteriaceae*, *E. coli* e SCP nel latte crudo sono state rispettivamente: $4,90 \pm 0,94$ log ufcxml⁻¹, $2,55 \pm 1,36$ log ufcxml⁻¹, $2,74 \pm 0,61$ log ufcxml⁻¹. I Microrganismi a 30°C del latte pastorizzato sono risultati compresi tra 1.600 ufcxml⁻¹ e 56.000 ufcxml⁻¹ mentre *Enterobacteriaceae*, *E. coli* e SCP sono risultati sempre <1xml⁻¹. Le medie in log (Tab.1) evidenziano in generale un aumento del numero delle *Enterobacteriaceae* ed *E. coli* dalla cagliata al formaggio appena prodotto (FT0) ed a 20 giorni di stagionatura (FT20) (Tab.1).

Si registra un'elevata variabilità delle *Enterobacteriaceae* ed *E. coli* in particolare nei campioni di siero e nei campioni di cagliata.

La media di *E. coli* nella fase FT20 supera di poco il limite minimo previsto dal Reg. CE 2073/2005 e s.m.i. di 100 ufcxml⁻¹ (2 log ufcxml⁻¹); esaminando i risultati di tutte le 13 lavorazioni in questa fase, 8 campioni risultano superiori o uguali a tale limite e 5 inferiori. Verificando inoltre i singoli risultati nella fase FT0, 5 lavorazioni risultano con un valore di *E. coli* superiore al limite di legge e 8 con valore inferiore.

Tab. 1 - Medie (log ufcxml⁻¹) \pm scarto tipo dei parametri considerati nelle diverse fasi di produzione

	Siero	Cagliata	FT0	FT20
Enterob.	0,85 \pm 1,09	1,29 \pm 1,66	2,16 \pm 1,87	3,28 \pm 1,21
E.coli	0,18 \pm 0,49	0,70 \pm 1,19	1,62 \pm 1,76	2,15 \pm 1,56
SCP	0,0	0,0	0,0	0,0

Tab. 2 - Medie \pm scarto tipo dei parametri considerati nei campioni di salamoia e tamponi

	Enterob.	E.coli	SCP
Salamoia(log ufcxml ⁻¹)	1,34 \pm 1,11	0,95 \pm 0,78	1,0 \pm 0,78
Tamponi vasche raccolta cagliata(log ufcxcm ⁻²)	0,70 \pm 0,48	0,30 \pm 0,0	0,0

In 3 lavorazioni si è evidenziata la presenza di *Enterobacteriaceae* ed *E. coli* nella fase FT20 benché nei campioni di cagliata e FT0 non fossero stati isolati.

Dai campioni di salamoia è stata riscontrata la presenza dei tre parametri considerati mentre dai tamponi eseguiti sulle vasche di raccolta sono stati isolati *Enterobacteriaceae* ed *E. coli* (Tab.2).

Risulta evidente come la presenza di *Enterobacteriaceae* ed *E. coli* nella cagliata e nel formaggio sia dovuta a contaminazioni successive al trattamento termico del latte, probabilmente in relazione alla contaminazione delle salamoie liquide e delle superfici non adeguatamente pulite e sanificate. Nelle verifiche eseguite è emerso infatti che in alcuni casi non venivano applicate correttamente le procedure di pulizia e sanificazione. Il contenimento delle contaminazioni batteriche in caseificio risulta di estrema importanza soprattutto per la possibile presenza e diffusione di microrganismi patogeni.

La non corretta pulizia e sanificazione favorisce la formazione di biofilm che può peggiorare le condizioni di contaminazione dei prodotti.

È quindi necessaria l'applicazione corretta di quanto stabilito nel sistema HACCP ed in particolare risulta

indispensabile la formazione continua del personale anche in considerazione dei limiti spesso stringenti, richiesti in alcuni casi per *E. coli* nei formaggi destinati all'esportazione.

Pasteurized sheep milk cheese: microbiological evaluation during manufacture

Key words: Sheep, milk, cheese, *E.coli*

Bibliografia

De Santis E.P.L., Mazzette R., Pilo A.L., Scarano C., Meloni D., (2005) Indagine sulla prevalenza di *L. monocytogenes* e sui siti di contaminazione in caseifici ovini. Atti XV Convegno Nazionale Associazione Italiana Veterinari Igienisti, 227-231.

Giangolini G., Boselli C., Filippetti F., Marri N., Bitonti G., Pietrini P., Patriarca D., Amatiste S., Leto A., Della Marta U. (2017) Microbiological and chemical dynamics during manufacturing and ripening of pasteurized goat's cheese in a dairy farm. Atti 22nd Congress of the Animal Science and Production Association.

Utilizzo di diverse fonti di carboidrati nell'alimentazione di pecore in lattazione al pascolo

LAI F, SIOUTAS D, RUBATTU R, SPANU G, FENU A, MAZZA A, CANNAS A

Università di Sassari, Dipartimento di Agraria, viale Italia 39, 07100, Sassari, Italy

Parole chiave - concentrato, carboidrati, pascolo, pecore

Introduzione - L'alimentazione delle pecore al pascolo può determinare, nel caso di utilizzazione di erbe ricche in proteine, problemi associati all'eccesso proteico (Cannas, 2001). In questo senso nella pratica aziendale si è diffusa la tecnica del terzo pasto (terza somministrazione di concentrati oltre alle altre due effettuate in corrispondenza delle mungiture giornaliere), che consiste nel somministrare un pasto ricco di energia e/o fibra molto digeribile subito prima dell'inizio del pascolamento, al fine di ridurre la fame delle pecore, e quindi la velocità di ingestione dell'erba all'ingresso nel pascolo, e di rendere disponibile energia a livello ruminale per facilitare la captazione dell'azoto dell'erba da parte dei batteri ruminali (Cannas, 2001). L'effetto di modulazione dell'uso dell'azoto dell'erba potrebbe cambiare in funzione del tipo di carboidrato utilizzato, in particolare della sua degradabilità ruminale. Questo effetto può essere monitorato misurando l'urea nel latte, che aumenta al crescere dello spreco azotato (Cannas et al., 1998).

Pertanto, l'obiettivo del seguente studio è stato quello di valutare varie fonti alimentari di carboidrati da somministrare come terzo pasto in pecore alimentate in un pascolo con erba ricca in proteina.

Materiali e metodi - Lo studio è stato condotto tra novembre e dicembre 2017 su 12 pecore pluripare di razza Sarda ad inizio lattazione. Gli animali, alimentati al pa-

scolo, sono stati suddivisi in 2 gruppi isoproduttivi. Gli animali erano munti la mattina alle 7.00. Durante la mungitura ricevevano 100 g per capo di granella intera di mais. Le stesse quindi rimanevano senza mangiare sino alle 10.00, momento nel quale ricevevano il terzo pasto. Subito dopo venivano portate su un prato di medica di primo anno in fase vegetativa (Tab. 1), per un periodo compreso tra 45 minuti (primo ciclo) e 90 (ultimo ciclo) minuti. Al rientro dal pascolo le pecore ricevevano, per il resto della giornata, 1500 g/giorno per capo (suddivisi in due pasti) di *unifeed* secco e 100 grammi di granella di mais nella mungitura serale (ore 16.00). Come terzo pasto un gruppo ha sempre utilizzato 200 g per capo di polpe di bietola (notoriamente ricche di fibra digeribile). L'altro gruppo, invece, ha utilizzato in sequenza (periodi di 10 giorni) 200 g per capo di granella intera di mais (con amido a bassa velocità di degradazione), 200 g per capo di granella intera di orzo (con amido ad elevata velocità di degradazione) ed infine 200 g per capo di un mangime pellettato ricco di fibra digeribile e con una quantità bassa (circa 10% sulla SS) di amido. Tutte le quantità riportate sono sul tal quale.

Durante la prova sono stati eseguiti 1 rilievo preliminare e 6 rilievi nel periodo sperimentale (2 per tipo di alimento) della produzione di latte individuale, con campionamento del latte separatamente nelle due mungiture per le successive analisi di grasso, proteine, lat-

Tab. 1 - Composizione chimica media delle diete somministrate.

	Erba medica	Gruppo			
		Bietola	Mais	Orzo	Mangime
SS, % tq	17.1	87.3	87.1	87.1	87.1
PG, % SS	32.5	17.2	17.1	17.3	17.5
NDF, % SS	36.1	39.2	30.3	31.9	34.0
ADF, % SS	18.3	20.6	15.7	16.3	18.1
ADL, % SS	4.8	3.5	2.8	2.9	3.1
Ceneri, % SS	10.9	6.6	6.2	6.3	7.0
UFL, % SS	0.88	0.96	0.95	0.95	0.94

SS = sostanza secca; PG = proteina grezza; NDF = fibra al detergente neutro; ADF = fibra al detergente acido; ADL = lignina al detergente acido; UFL = unità foraggiere latte

Tab. 2 - Analisi statistica della composizione chimica del latte (dati covariati con i dati dell'ultimo rilievo del ciclo precedente).

Variabile	Gruppo					
	B	M	B	O	B	Ma
Latte, kg/d	1.49	1.46	1.63	1.44	1.23 ^a	1.31 ^b
Gasso, %	6.00	6.30	5.69	5.97	5.77	5.84
Proteine, %	5.70	5.61	5.61	5.49	5.72 ^a	5.62 ^b
Lattosio, %	5.16	5.23	5.05 ^a	5.20 ^b	5.08	5.26
CSC, log cell	1.78	2.40	2.69	2.57	1.93	1.92
Urea, mg/dl	46.0	44.2	51.3	57.3	37.3	40.8
Urea pre, mg/dl	47.7	44.7	51.8	56.1	39.4 ^a	47.2 ^b
Urea post mg/dl	49.1	49.2	55.7	57.9	43.4	47.1

B = gruppo polpe di bietola; M = gruppo granella di mais; O = gruppo granella di orzo; Ma = gruppo mangime commerciale.

tosio (con Milkoscan), cellule somatiche (con citometria di flusso) ed urea del latte (col metodo della pHmetria differenziale). Negli stessi giorni è stato campionato il latte anche poco prima dell'introduzione delle pecore al pascolo e subito dopo il loro rientro. L'analisi statistica è stata eseguita con il GLM del software Minitab, considerando l'effetto del trattamento, l'effetto del tempo e la loro interazione.

Risultati e considerazioni - Durante il periodo preliminare, la produzione media \pm SEM era pari a 1.53 \pm 0.13 kg/giorno per capo. Durante i primi due cicli non si sono mostrate differenze significative nel livello produttivo e nella composizione chimica del latte; nel terzo ciclo il gruppo alimentato con mangime è stato più produttivo rispetto a quello alimentato con polpe di bietola ($p < 0.05$). (Tab. 2). Inoltre, sempre nel terzo ciclo, la proteina del latte è risultata maggiore nel gruppo alimentato con polpe di bietola ($p < 0.05$). L'urea nel latte misurata prima che le pecore andassero al pascolo è risultata maggiore ($p < 0.05$) nel gruppo alimentato con il mangime pellettato (47.2 mg/dl) rispetto a quello alimentato con polpe di bietola (39.4 mg/dl). I risultati dell'urea potrebbero essere legati alla maggiore ingestione di erba al pascolo derivante dalla più alta pro-

duzione di latte da parte del gruppo alimentato con il mangime (Tab. 2). Inoltre, i risultati mostrano confermano l'utilità delle polpe di bietola nel ridurre i problemi di eccesso proteico in animali alimentati al pascolo.

Ringraziamenti - ricerca condotta col finanziamento di Animal New Tech s.r.l. e Mignini & Petrini Spa.

Use of different carbohydrate sources to supplement grazing lactating dairy ewes

Key words - concentrates, carbohydrate, pasture, sheep

Bibliografia

- Cannas A. (2001), Tecniche di alimentazione delle pecore e stima del valore energetico e proteico degli alimenti. In "L'alimentazione degli ovini da latte". Avenue Media, Bologna, Italy: 111-166.
- Cannas A., Pes A., Mancosu R., Vodret B., Nudda A. (1998), effect of dietary energy and protein concentration on the concentration of milk urea nitrogen in dairy ewes. *Journal of Dairy science* (81.2): 499:508.

Parasitology Summer Course (ParSCo): un'esperienza internazionale in Basilicata

LIA RP¹, DANTAS-TORRES F^{1,2}, OTRANTO D¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari, Bari, Italy; ²Departamento de Imunologia, Instituto Aggeu Magalhães (Fiocruz-FE), Recife, Brazil.

Parole chiave: Malattie trasmesse da vettori, educazione, Mediterraneo

Il corso estivo di Parassitologia "Parasitology Summer Course" (ParSCo) è organizzato dall'Unità di Parassitologia del Dipartimento di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Bari "Aldo Moro" e dall'"European Veterinary Parasitology College" (EVPC) in collaborazione con Parasites and Vectors. È un corso intensivo della durata di una settimana, che ha lo scopo di fornire a parassitologi e studenti post-laurea conoscenze teoriche e pratiche sugli agenti patogeni trasmessi da vettori ed altri parassiti presenti nei paesi del mediterraneo. Tutte le attività di campo si svolgono nel bosco del Parco regionale di Gallipoli Cognato e delle Piccole Dolomiti Lucane (Accettura, Matera).

Il corso si svolge in una regione ad alta biodiversità, motivo per cui è da sempre sotto i riflettori dei ricercatori, sia per la sua eccezionale ricchezza di specie animali e parassitarie sia perché rappresenta un modello di studio per altri paesi che si affacciano sul Mediterraneo. L'attività scientifica svolta durante il ParSCo è divisa in lezioni orali (35,3%) e attività pratiche (64,7%) guidate da un team internazionale di ricercatori che lavorano da anni nel campo della parassitologia veterinaria. L'obiettivo principale del corso è fornire gli elementi essenziali per la raccolta di artropodi, l'identificazione tassonomica dei parassiti e l'esecuzione di varie tecniche diagnostiche.

Le lezioni orali coprono vari aspetti della parassitologia e malattie parassitarie tra cui la biologia dei vettori, l'epidemiologia, la morfologia e il riconoscimento degli artropodi (i.e., zecche, flebotomi, muscidi e drosophile) e degli agenti patogeni da loro trasmessi (e.g., *Babesia*, spp., *Theileria* spp., *Anaplasma* spp., *Leishmania infantum*, *Thelazia callipaeda*), agli animali da reddito ovini, caprini e bovini), ai carnivori domestici (cani e gatti), e agli animali selvatici (caprioli, daini, volpi e gatti selva-

tici). Le attività pratiche consistono nella ricerca e raccolta di zecche dalla vegetazione e dagli animali da reddito, di flebotomi dall'ambiente e di numerosi altri artropodi vettori.

I corsisti partecipano attivamente allo svolgimento dell'esame clinico di animali da compagnia e specie da reddito, alla raccolta di campioni di sangue, cute, linfonodi e alla diagnosi sia con metodiche tradizionali che biomolecolari degli agenti patogeni trasmessi da vettore.

Ogni studente dispone di una postazione con un micro/stereomicroscopio collegato ad un monitor.

Fino all'ultima edizione svolta nel luglio 2018 (VI ParSCo), 78 partecipanti provenienti da ogni angolo del mondo (Europa, U.S.A., Asia America latina e Australia) hanno partecipato al ParSCo. Le attività del ParSCo hanno permesso di instaurare nuove ed interessanti collaborazioni di ricerca, che si sono concretizzate in oltre 23 articoli scientifici internazionali pubblicati sotto l'influenza diretta o indiretta del corso. Per acquisire maggiori informazioni si può consultare il video promo al seguente link:

<https://www.youtube.com/channel/UCQaKY0wwTxOs z9QiPAqJ0tA>. La Società Italiana di Parassitologia (SoIPa) assegna una borsa di studio ad un candidato italiano con lo scopo di facilitare la partecipazione di giovani soci al ParSCo, ed un ulteriore grant è messo a disposizione per giovani ricercatori provenienti da paesi in via di sviluppo.

Parasitology Summer Course (ParSCo) in Southern Italy: a bench-to-field approach

Key words - Summer course, education, vectors, Mediterranea

Infestazione da *Ixodes ricinus* (Ixodidae) in capre in un'area prealpina

MANFREDI MT, ZANZANI SA, GAZZONIS AL, GAETI B, VILLA L

Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano

Parole chiave - zecche, *Ixodes ricinus*, capre

Introduzione - Le zecche Ixodidae sono importanti vettori di patologie sia per l'uomo che per gli animali domestici e selvatici e, tra le specie diffuse in Europa, *I. ricinus* ha un ruolo principale. In particolare, *I. ricinus* è l'unico vettore conosciuto di *Anaplasma phagocytophilum* agente dell'anaplasmosi granulocitica in ruminanti domestici. Inoltre, veicola *Babesia divergens* e *Rickettsia conorii* (Stuen et al., 2013). Nel corso degli ultimi decenni, *I. ricinus* ha mostrato un'espansione sia per quanto riguarda la latitudine che l'altitudine. Analisi prospettiche ipotizzano che la popolazione di *I. ricinus* entro il 2040-2060 subirà un allargamento complessivo dell'habitat del 3,8% nelle aree più a Nord e una contrazione nel sud dell'Europa (Semenza et al., 2018). I dati relativamente all'infestazione da *I. ricinus* nei ruminanti domestici e in particolare nei caprini sono del tutto carenti in Nord Italia. È stato quindi pianificato uno studio per verificare la densità e l'andamento della popolazione di *I. ricinus* in capre durante la stagione di pascolo sul territorio prealpino della provincia di Varese. Inoltre, per valutare se *I. ricinus* è in grado di manifestare eventuali preferenze di ospite sono stati effettuati campionamenti in due greggi di cui uno misto con bovini.

Materiali e metodi - Lo studio è stato condotto in due aziende dell'area prealpina della provincia di Varese, più nello specifico della Val Veddasca che è un Sito di Importanza Comunitaria (SIC). Entrambe le aziende situate attuano una tipologia di allevamento estensivo simile e sono situate ai lati opposti della stessa valle (Val Veddasca). L'azienda A è un agriturismo biologico con un gregge di 110 capre di cui 100 in lattazione e 36 novelle da rimonta, inoltre, ha una mandria di 26 bovini di cui 12 vacche e di queste 10 in lattazione. L'azienda B ha un gregge di sole capre con una consistenza di circa 30 capi in lattazione.

Il campionamento, con cadenza mensile, si è sviluppato da aprile a ottobre del 2017. Tutti gli animali presenti sono stati ispezionati ed è stata determinata la prevalenza d'infestazione. Inoltre, sono state raccolte le zecche da una quindicina di animali per specie ospite e per azienda ed è stata calcolata l'abbondanza. È stata esaminata l'intera superficie cutanea degli animali; particolare importanza è stata data alla ricerca degli artropodi nelle zone inguinali, mammelle, sotto-

coda, pancia e zona ascellare per quanto riguarda le capre mentre per i bovini è stata anche considerata la giogaia. Le zecche sono state conservate in alcool a 70° fino all'identificazione che è stata effettuata al microscopio ottico su base morfologica (Manilla 1998). Le zecche, inoltre, sono state classificate in base al sesso e allo stadio di sviluppo.

Risultati e considerazioni - Nell'intero periodo di studio e per entrambe le aziende sono stati esaminati 620 animali, di cui 309 sono risultati infestati da zecche (P=49,8%). In Aprile e Maggio tutti gli animali dell'azienda A sono risultati infestati mentre nell'azienda B solo 66 capre su 116 (P=56,8%). Complessivamente sono stati raccolti 646 esemplari di Ixodidi che sono risultati appartenere tutti alla specie *I. ricinus* di cui 481 nell'allevamento misto capre e bovini (Azienda A) e 165 nell'azienda di sole capre (Azienda B). L'82% delle zecche prelevate erano femmine, il 17% maschi e solo l'1% degli artropodi ritrovati erano ninfe.

Nell'azienda A, mista bovini e capre, l'abbondanza media di zecche per animale è risultata pari a 1,24; tuttavia, i bovini presentavano un numero medio di zecche (A=3,6; max 21) superiore a quello delle capre (A=0,6, max=15). Il confronto relativamente all'abbondanza di zecche nel mese di aprile tra le due aziende ha evidenziato che nell'azienda A i bovini sono maggiormente parassitati rispetto alle capre e che i caprini di questa azienda, rispetto a quelli dell'azienda B, in cui vi sono solo capre al pascolo, avevano una abbondanza di zecche inferiore (Test di Kruskal Wallis, P <0,0001). Limitatamente all'azienda A, è stata valutata l'esistenza di differenze relativamente alle abbondanze registrate nei 5 mesi di campionamenti e tra le due specie ospiti campionate mediante un modello misto lineare generalizzato con distribuzione binomiale negativa. Sono risultate differenze altamente significative nell'abbondanza di zecche rispetto sia al mese di campionamento sia alla specie di animale (capra e bovino). L'andamento di *I. ricinus* è risultato bimodale con un picco elevato nei mesi primaverili e uno lieve in autunno. Lo studio ha confermato la possibilità dello sviluppo della zecca ad altitudini elevate (1300 m s.l.m.) e il suo adattamento a questi ambienti anche in presenza di valori di UR inferiori a quelli ottimali. È stata inoltre evidenziata una preferenza d'ospite di *I. ricinus* per i bovini in pascoli

in cui vi è la concomitanza di capre e bovini liberi nello stesso territorio.

***Ixodes ricinus* infestation in goats bred in a prealpine area (Northern Italy)**

Key words - ticks, *Ixodes ricinus*, goats.

Bibliografia

- Semenza J. C., Suk J. E. (2018). Vector-borne diseases and climate change: a European perspective. *FEMS Microbiology Letters* 2018 365
- Stuen, S., Granquist, E.G., Silaghi, C., (2013). *Anaplasma phagocytophilum*-a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 3,31
- Manilla G. 1998, Acari, Ixodida - Fauna d'Italia Vol. XXXVI 1/Ed. Edagricole
-

Produzione in capra di sieri iperimmuni nei confronti di proteine immunogeniche di *Mycoplasma mycoides subsp. capri*

MAROGNA G, MANCA MG, CILLARA G, ROSA NM, LONGHEU C, SCHIANCHI G, TOLA S

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna "G. Pegreffi", Sassari.

Parole chiave - *Mycoplasma mycoides subsp. capri*, sieri iperimmuni, proteine immunogeniche, Immunoblotting

Introduzione - Il *Mycoplasma mycoides subsp. capri* (Mmc) è uno degli agenti eziologici dell'agalassia contagiosa, responsabile della sindrome "MAKePS" caratterizzata da mastite, artrite, cheratocongiuntivite, polmonite e setticemia. Mmc è stato riscontrato anche nei condotti uditivi esterni di capre sane e in campioni di sperma di arieti asintomatici (Gómez-Martín et al., 2012). La presenza di questi carriers asintomatici rappresenta un potenziale rischio nella trasmissione e nel mantenimento dell'infezione (Amores et al., 2011). Finora l'approccio pratico per la diagnosi di infezione da Mmc prevede l'utilizzo di un home-made ELISA test, basato su antigeni grezzi estratti da ceppi da campo (Assunção et al., 2004), oppure un test di agglutinazione al latte per *Mycoplasma capricolum subsp. capripneumoniae* adattato al Mmc (Al-Momaniet al., 2011). Ad oggi non è disponibile nessun test sierologico commerciale e questa assenza condiziona negativamente il controllo e l'eventuale eradicazione della malattia. Questi obiettivi potrebbero essere raggiunti più facilmente se avessimo a disposizione test diagnostici rapidi e sensibili. Infatti, disporre di un test diagnostico più sensibile consentirebbe l'identificazione anche dei portatori asintomatici eventualmente presenti negli allevamenti. L'allestimento di un Kit lateral flow basato su anticorpi potrebbe consentire una risposta rapida e veloce, soprattutto per i veterinari di campo che sospettano la presenza di focolai e per i quali il fattore tempo è fondamentale per circoscrivere e contrastare l'infezione in allevamento. Allestire un kit lateral flow comporta diversi steps; in questo lavoro presentiamo esclusivamente il protocollo per la produzione di sieri iperimmuni nei confronti di tre proteine immunogene da noi precedentemente identificate (Corona et al., 2013).

Materiali e metodi - In questo lavoro abbiamo purificato tre proteine immunogeniche di Mmc: elongation factor G (proteina 1), CTP synthase (proteina 2) e piruvate dehydrogenase (acetyl-trasfering) E1-component subunit alpha (proteina 3). Le proteine sono state elettroeluite dai gel SDS-PAGE colorati con Blu-Coomassie e concentrate a 50 ng/l.

Produzione di sieri iperimmuni ai sensi dell'art. 31 del D. Lgs 26/2014 - La nostra sperimentazione (autorizzazione n°1265/2015) ha previsto l'utilizzo di 3 caprette di circa 3 mesi di età, di razza Saanen. Prima di inoculare le proteine purificate, abbiamo testato i sieri delle caprette (2222, 2297 e 243) mediante immunoblotting

per escludere contatti con micoplasmi prima e durante il periodo di acclimatamento. Alla capretta 2222 abbiamo somministrato la proteina 1, alla 2297 la proteina 2 mentre alla 243 abbiamo inoculato la proteina 3. Le proteine, adiuvate con Montanide-isa-50, sono state inoculate per 3 volte sottocute, a distanza di 3 settimane fra un inoculo e l'altro. All'incirca una settimana dopo ciascun inoculo abbiamo eseguito un prelievo di siero per valutare il titolo anticorpale. L'ultimo inoculo è stato eseguito intramuscolo a distanza di una settimana dall'ultima sottocutanea. Una settimana dopo, abbiamo avuto conferma sierologica del raggiungimento del titolo anticorpale sperato. A questo punto si è potuto procedere al recupero del siero iperimmune. I soggetti sono stati soppressi seguendo un protocollo autorizzato del Centro di Referenza Nazionale per il Benessere degli Animali che ha previsto una endovenosa rapida di Tiopentale sodico (Pentotal sodium®) alla dose di 200 mg/Kg di peso vivo. Si è quindi proceduto al dissanguamento completo per il recupero del siero iperimmune.

Analisi dei sieri iperimmuni. I sieri sono stati testati mediante immunoblotting a partire da un pool di antigeni estratti da isolati di Mmc. In questo lavoro abbiamo valutato sia la diluizione d'uso dei sieri prodotti che la reazione alle rispettive proteine inoculate.

Risultati e considerazioni - La prevenzione e il controllo dell'A.C. da *Mycoplasma mycoides subsp. capri* potrebbe essere attuata mediante l'allestimento di test diagnostici sensibili e specifici. Prima di allestire un test sierologico lateral flow da utilizzare sul campo è importante 1) caratterizzare le proteine coinvolte nella risposta anticorpale e 2) produrre sieri nei confronti delle proteine immunogeniche. In questa ricerca abbiamo prodotto in capra 3 sieri policlonali monospecifici. I sieri sono stati testati mediante immunoblotting e, per tutti e tre, la diluizione d'uso è stata di 1:30.000. In particolare il siero anti-proteina 1 (elongation factor G) ha reagito con tutti gli isolati di Mmc analizzati.

Production in goat of hyperimmune sera against immunogenic proteins of *mycoplasma mycoides subsp. capri*

Key words - *Mycoplasma mycoides subsp. capri*, hyperimmune sera, immunogenic proteins, immunoblotting

Bibliografia

- Al-Momani W., Abo-Shehada M.N., Nicholas R.A.J. (2011). Seroprevalence of and risk factors for *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* infection in small ruminants in Northern Jordan. *Trop. Anim. Health Prod.* 43:463-469.
- Amores J., Gomez-Martin A., Corrales J.C., Sanchez A. (2011). Presence of contagious agalactia causing mycoplasmas in Spanish goat artificial insemination centres. *Theriogenology* 75:1265-1270.
- Assuncao P., De la Fe C., Ramirez A.S., Andradam., Poveda J.B. (2004). Serological study of contagious agalactia in herds of goats in the Canary islands. *Vet Rec* 154:684-687.
- Corona L., Cillara G., Tola S. (2013). Proteomic approach for identification of immunogenic proteins of *Mycoplasma mycoides* subsp *capri*. *Vet. Microbiol.* 167:434-439.
- Gómez-Martín A, Corrales J.C., Amores J., Sánchez A., Contreras A., Paterna A., De la Fe C. (2012). Controlling contagious agalactia in artificial insemination centers for goats and detection of *Mycoplasma mycoides subspecies capri* in semen. *Theriogenology* 77:1252-1256.
-

Studio di associazione genome-wide per l'identificazione del locus responsabile della *microtia* nella razza ovina Valle del Belice

MASTRANGELO S¹, SOTTILE G², SUTERA AM¹, DI GERLANDO R¹, TOLONE M¹, MOSCARELLI A¹, SARDINA MT¹, PORTOLANO B¹

¹Dipartimento Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali, Università degli Studi di Palermo; ²Dipartimento Scienze Economiche, Aziendali e Statistiche, Università degli Studi di Palermo

Parole chiave - *CLRN1*, *microtia*, marcatori SNPs, Valle del Belice

Introduzione - La *microtia* è una malformazione congenita dell'orecchio esterno con fenotipi che variano da un piccolo padiglione auricolare all'assenza totale. Le basi genetiche sono ancora poco conosciute e ad oggi, pochi studi sono stati condotti nella specie ovina. Lo sviluppo di pannelli di polimorfismi a singolo nucleotide (SNP), ha permesso di identificare nuove varianti associate ai diversi fenotipi tramite approccio genome-wide (GWAS). L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di identificare potenziali geni coinvolti con la *microtia* nella razza ovina Valle del Belice.

Materiali e metodi - Lo studio è stato condotto su 40 pecore, 20 caso (con *microtia*) (Figura 1) e 20 controllo (normale), genotipizzate con l'OvineSNP50 BeadChip. Il software PLINK 1.7 (Purcell et al., 2007) è stato usato per il controllo della qualità dei dati. Dopo il filtraggio, sono stati utilizzati un totale di 45.836 marcatori autosomici. Il pacchetto SNPassoc del software R (Gonzalez et al., 2007) è stato usato per lo studio di genome-wide. Inoltre, è stata eseguita un'analisi F_{ST} caso-controllo (Chang et al., 2015). Gli SNPs considerati più divergenti nel confronto sono stati identificati tra quelli ricadenti al percentile 0.9999 della distribuzione.

Risultati e considerazioni - Dall'analisi di associazione, nessun marcatore ha raggiunto la soglia di significatività corretta con Bonferroni ($P < 0,05$). Tuttavia, a $P < 0,10$, un singolo SNP, *rs419889303*, situato a 235.105.286 bp sul cromosoma (OAR) 1, ha superato la soglia di significatività (P -value = $1,311062e-06$) (Tabella 1). Nell'analisi F_{ST} caso-controllo, 5 SNPs superavano la soglia minima selezionata ($F_{ST} = 0,368$) (Tabella 1). Combinando i risultati ottenuti dai due differenti approcci, GWAS e F_{ST} , è stato identificato un singolo marcatore, *rs419889303*, potenzialmente associato alla *microtia*.

Questo SNP, facendo riferimento alla versione Oar_v4.0 del genoma ovino, si trova mappato nel gene *Clarín 1 (CLRN1)*. In letteratura, questo gene è responsabile della sindrome di Usher di tipo 3A, una malattia autosomica recessiva caratterizzata nell'uomo da progressiva perdita della vista e dell'udito (Phillips et al.,

2013). Nella razza Valle del Belice, la *microtia* sembra non essere associata ad altri difetti; molti allevatori però ritengono che le pecore con *microtia* abbiano una maggiore produzione di latte. Un precedente studio sulla *microtia* nelle pecore Awassi riportava un'associazione con uno SNP adiacente al gene *GATA-6* (Jawasreh et al., 2016), mentre recentemente, Gao et al. (2018), hanno mostrato una forte associazione con un marcatore mappato sul gene *DCC* in una razza ovina cinese. Pertanto, è possibile ipotizzare che le basi genetiche coinvolte nella *microtia* degli ovini siano diverse tra le razze e che la condivisione della stessa mutazione sia più probabile tra razze a bassa differenziazione genetica. Tuttavia, sebbene vi siano grandi differenze nei meccanismi che determinano la variabilità delle dimensioni dell'orecchio (Zhang et al., 2014), gli studi che utilizzano la specie ovina come modello, possono anche contribuire a migliorare la conoscenza sui meccanismi genetici coinvolti nello sviluppo e nelle anomalie dell'orecchio umano. Il nostro studio ha suggerito per la prima volta un nuovo gene candidato (*CLRN1*) responsabile della *microtia* negli ovini. Nell'ottica di futuri



Fig. 1 - Pecora Valle del Belice affetta da *microtia*

Tab. 1 - SNPs candidati con la *microtia* nella razza ovina Valle del Belice.

OAR	SNP	GWAS	F _{ST}	Gene
1	rs409714664		0.382	
1	rs419889303	1.311062e-06	0.468	<i>CLRN1</i>
4	rs418996372		0.406	
4	rs399891450		0.387	
6	rs417253163		0.398	

studi, si può inoltre prevedere un aumento del numero di pecore genotipizzate e l'utilizzo del nuovo chip ad alta densità (600K), allo scopo di identificare ulteriori SNPs e geni correlati con questa malformazione congenita.

Genome-wide association study reveals the locus responsible for microtia in valle del belice sheep breed

Key words - *CLRN1*, microtia, SNP markers, Valle del Belice

Bibliografia

- Chang CC, Chow CC, Tellier LC, Vattikuti S, Purcell SM, Lee JJ. (2015) Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Giga-science* 4:7.
- Gao L, Xu SS, Yang JQ, Shen M, Li MH. (2018) Genome wide association study reveals novel genes for the ear size in sheep (*Ovis aries*). *Animal Genetics* doi.org/10.1111/age.12670
- Gonzalez JR, Armengol L, Sole X, Guino E, Mercader JM, Estivill X, Moreno V. (2007) SNPassoc: an R package to perform whole genome association studies. *Bioinformatics* 23:654-655.
- Jawasreh K, Boettcher PJ, Stella A. (2016) Genome wide association scan suggests basis for microtia in Awassi sheep. *Animal Genetics* 47:504-506.
- Phillips JB, Västinsalo H, Wegner J, Clément A, Sankila EM, Westerfield M. (2013) The cone-dominant retina and the inner ear of zebrafish express the ortholog of *CLRN1*, the causative gene of human Usher syndrome type 3A. *Gene Expression Patterns* 13:473-481.
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K. et al. (2007) PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American Journal of Human Genetics* 81:559-75.
- Zhang L, Liang J, Luo W. et al. (2014) Genome-wide scan reveals *LEMD3* and *WIF1* on *SSC5* as the candidates for porcine ear size. *PloS one* 9:e102085.

Parametri igienico-sanitari del latte e valutazione del benessere animale negli allevamenti ovisiciliani

PALMERI M¹, MANCUSO I¹, ARCURI L², GIANGOLINI G³, DARA S¹, SCATASSA ML¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia A. Mirri, Palermo; ²ASP Palermo; ³Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M. Aleandri – Centro di Referenza Nazionale per la Qualità del Latte e dei Prodotti Derivati degli Ovisiciliani e dei Caprini.

Parole chiave - allevamenti ovisiciliani da latte, cellule somatiche, benessere animale

Introduzione - Diversi studi hanno evidenziato correlazioni significative fra alcuni parametri del latte e le condizioni di gestione dell'allevamento, salute e benessere animale (Wemelsfelder e Farish, 2004; Sevi et al., 2009). Obiettivo del presente lavoro è stato monitorare i parametri igienico-sanitari del latte nell'ambito della valutazione delle condizioni di benessere negli allevamenti ovisiciliani da latte.

Materiali e metodi - L'indagine è stata condotta in 35 allevamenti ovisiciliani sottoposti a valutazione delle condizioni di benessere degli animali utilizzando la check list "Disciplinare benessere animale ovisiciliani da latte CReNBA-rev.4 1/6/16". I risultati delle check list sono stati elaborati dal CReNBA (Centro di Referenza Nazionale per il Benessere Animale) con assegnazione di punteggi per ogni area tra cui una dedicata al benessere animale.

In ogni azienda sono stati analizzati campioni di latte di massa per valutare lo stato igienico-sanitario determinando la Carica Batterica Totale (CBT), il contenuto in Cellule Somatiche (SCC) e i principali parametri chimici. Sui campioni individuali o da emimammella è stata eseguita la ricerca dei principali microrganismi mastidogeni e il SCC. Su 31 aziende è stata eseguita, su latte di massa, la ricerca di Aflatossina M1.

Risultati e considerazioni - Dalla valutazione delle check list è emerso che gli allevamenti ovisiciliani presentano situazioni generalmente favorevoli all'animale relativamente a management aziendale, personale, strutture e attrezzature, mentre i principali punti critici sono stati la mancata disponibilità di acqua per l'abbeverata in tutti i gruppi animali e l'assenza di ripari nelle aree esterne.

Nel complesso gli allevamenti monitorati presentavano buone caratteristiche igienico-sanitarie del latte, infatti in 23 aziende (65.7%) i valori di media geometrica di CBT erano <500.00 ufc/ml, limite previsto per la produzione di formaggi a latte crudo. In 8 aziende (22.8%) i valori di CBT rientravano nel limite di 1.500.000 cfu/ml per la produzione di formaggi a latte pastorizzato e soltanto quattro aziende superavano tale limite con utilizzazione del latte "in deroga" per la produzione di formaggi con stagionatura oltre 60 gg. Per

quanto riguarda il contenuto in cellule somatiche 21 allevamenti (60%) presentavano valori di media geometrica <1.500.000 cell/ml e tra queste 5 aziende (14.3%) valori ottimali <1.000.000 cell/ml. Nel complesso il latte prodotto ha presentato caratteristiche merceologiche nella norma con tenore medio in grasso del 6.72%, proteine 5.66% e caseine 4.41%. Per la valutazione delle analisi microbiologiche sui campioni di latte individuale (Tab. 1) è stato utilizzato come valore discriminante tra animali sani ed affetti da mastite la soglia di 265.000 cell/ml (Rosati et al., 2005), benché siano stati isolati agenti mastidogeni, soprattutto SNC e *S. aureus*, in campioni con basso SCC (Tab. 2). Gli stafilococchi coagulasi negativi sono stati il gruppo eziologico maggiormente isolato (76.8%) seguiti da *S. aureus* (14.2%) come riportato in altri studi (Dore et al., 2016). Per quanto riguarda gli isolamenti batterici in rapporto alle classi di SCC (Tab. 2), *S. aureus* è stato ritrovato nel 33,7 % dei campioni con valori di SCC <265.000 cell/ml, nel 19% dei campioni con SCC fino ad 1.000.000 cell/ml e nel 47.2% dei campioni con un risentimento cellulare mammario massivo (cellule somatiche >1.000.000 cell/ml). *Str. dysgalactiae* è stato identificato principalmente (78.9%) in campioni con SCC >265.000 cell/ml, mentre *Str. agalactiae* è stato ritrovato anche (58.3%) in campioni con un basso contenuto in SCC. *Pseudomonas spp* è stato ritrovato in tutte le classi di SCC prese in considerazione, mentre *B. cereus* è stato isolato sempre da campioni con basso SCC confermando l'origine ambientale del microrganismo. *Str. canis*, *Str. pyogenes* e *Str. uberis*, *Mannheimia haemolytica* e *Corynebacterium spp.* sono stati riscontrati nella quasi totalità dei casi in campioni con un numero di cellule somatiche >1.000.000 cell/ml indice di una significativa risposta infiammatoria da parte dell'organismo verso questi microrganismi.

Tutti i campioni esaminati per la ricerca dell'Aflatossina M1 sono risultati negativi (<0,03 µg/Kg).

Complessivamente il monitoraggio delle SCC si è rivelato un utile strumento per la valutazione del benessere animale, infatti nelle 21 aziende con valori di SCC <1.500.000 cell/ml sono stati riscontrati i migliori punteggi nell'area benessere animale con una media del 67,94%.

Tab. 1 - Campioni individuali suddivisi nelle tre classi di SCC

Classi SCC x 1000	n. campioni (%)	Positivi (%)	Negativi (%)
265	1236 (54.6)	481 (42.0)	755 (67.5)
265<SCC< 1000	405 (17.9)	221 (19.3)	184 (16.5)
SCC > 1000	621 (27.4)	442 (38.6)	179 (16.0)
TOTALE	2262	1144	1118

Tab. 2 - Isolamenti batterici in rapporto alle classi di SCC

Microorganismi	SCC 265 (%)	SCC265-1000 (%)	SCC>1000 (%)	TOT %
SNC	387 (44.0)	178 (20.3)	314 (35.7)	100
<i>S.aureus</i>	55 (33.7)	31 (19.0)	77 (47.2)	100
<i>Str.dysgalactiae</i>	4 (21.1)	8 (42.1)	7 (36.8)	100
<i>Str.agalactiae</i>	7 (58.3)	1 (8.3)	4 (33.3)	100
<i>Str.canis</i>			17 (100)	100
<i>Str.pyogenes</i>		1 (33.3)	2 (66.7)	100
<i>Str.uberis</i>			1 (100)	100
<i>M.haemolytica</i>			9 (100)	100
<i>Corynebacterium</i> spp			2 (100)	100
<i>Pseudomonas</i> spp	4 (44.4)	1 (11.1)	4 (44.4)	100
<i>Proteus</i> spp	16 (72.7)	1 (4.5)	5 (22.7)	100
<i>B.cereus</i>	8 (100)			100
Totale positivi	481 (42.0)	221 (19.3)	442 (38.6)	100

Monitoring of the hygienic-sanitary parameters of milk as an instrument for evaluating animal welfare in Sicilian sheep farms

Key Words - somatic cells count, animal welfare, ewe's milk

Bibliografia

Dore S., Liciardi M., Amatiste S., Bergagna S., Bolzoni G., Caligiuri V., Cerrone A., Farina G., Montagna C.O., Saletti M.A., Scatassa M.L., Sotgiu G., Cannas E.A. (2016). Survey on small ruminant bacterial mastitis in Italy, 2013–2014. *Small Rumin Res* 141, 91-93

Rosati R., Militello G., Boselli C., Giangolini G., Amatiste S., Brajon G., Gazzoni S., Casini M., Scatassa M.L., Bono P., Cannas A., Mugoni G., Simula M., Denti G., Gradassi S., Fagiolo A. (2005). Cellule somatiche nel latte ovino e caprino: definizione del valore medio nazionale e del valore fisiologico. *Scienza e tecnica lattiero casearia*; 56 (3): 161-181.

Sevi A., Massa S., Annicchiarico G., Dell'Aquila S., Muscio A. (1999). Effect of stocking density on the ewe's milk yield, udder health and microenvironment. *J. Dairy Res.* 66:489-499.

Wemelsfelder e Farish, 2004. Qualitative categories for the interpretation of sheep welfare: a review. *Animal Welfare*, 13: 261-268.

Fondi: Ministero della Salute RC - IZSSi 08/14
Monitoraggio parametri igienico-sanitari del latte come strumento di valutazione del benessere animale negli allevamenti ovini siciliani.

Indagine sui patogeni trasmessi da vettore in capre girgentane siciliane: dati preliminari

PERSICHIETTI MF, TORINA A, DE MAARIA C, MARINO F, CARACAPPA G, LA RUSSA F, BLANDA V, AUTERI M, CARACAPPA S

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia “A. Mirri”, Centro di Referenza Nazionale per *Anaplasma*, *Babesia*, *Rickettsia* e *Theileria* (C.R.A.Ba.R.T.).

Parole chiave - patogeni trasmessi da vettore, capre girgentane, Sicilia.

Introduzione - Le malattie trasmesse da vettore sono responsabili di ingenti perdite economiche per gli allevatori del territorio siciliano il quale favorisce il mantenimento di questi patogeni sia per le favorevoli condizioni geoclimatiche dell'isola che per la disponibilità dell'ospite. I protozoi *Theileria ovis* e *Babesia ovis* e il batterio *Anaplasma* sono responsabili di malattie endemiche nel territorio.

L'allevamento caprino, di frequente associato a quello ovino per tradizione, è rappresentato da circa 2.073 aziende e 117.347 capi (di cui 98.983 capre) in Sicilia (6° Censimento agricoltura, 2010). Nell'isola è diffuso soprattutto nei complessi montuosi dei Nebrodi (ME) e Madonie (PA) con sistemi di allevamento prevalentemente nomade, su terreni in affitto o occupati occasionalmente. Esso quindi ricade spesso in zone svantaggiate, caratterizzate da limiti ambientali e territoriali, che rendono ancor più difficile la produzione e la commercializzazione dei prodotti. Le razze e le popolazioni più rappresentate sono la Maltese e la Derivata di Siria, mentre ancora presenti, anche se in numero ridotto, sono le razze Girgentana e Argentata Etnea.

La capra girgentana (*Capra aegagrus hircu*) è una razza tipica della provincia di Agrigento, conosciuta per la peculiare forma delle corna che si attorcigliano formando una spirale o dette “a turacciolo”. Per quanto affascinanti, le corna devastano gli alberi e per tale motivo gli agricoltori hanno negli anni abbandonato l'allevamento di questa razza. Infatti, dopo che ha rischiato di scomparire, è stata riscoperta negli ultimi decenni per la produzione di prodotti caseari di nicchia. Vengono allevate principalmente per la produzione del latte, rinomato per la qualità dovuta all'ottimo equilibrio tra grasso e pro-

teine e che si caratterizza per essere digeribile, molto leggero, per nulla allergenico, con poco sapore di capra e dicono che ricordi quello materno. Essendo poco diffusa, ad oggi non è stata particolarmente attenzionata da un punto di vista scientifico. Lo scopo di questo studio è di valutare la diffusione di patogeni trasmessi da vettore (VBPs) in un allevamento di capre girgentane della provincia di Agrigento.

Materiali e metodi - Nel corso del mese di marzo 2018, sono stati prelevati campioni di sangue EDTA e siero da 100 capre della razza girgentana da un allevamento in purezza del territorio di Sciacca (AG). Sono stati inclusi solo animali di età superiore ad 1 anno che avevano trascorso almeno una stagionalità in cui le condizioni climatiche erano favorevoli alla maggiore presenza del vettore. Tutti gli animali si presentavano clinicamente sani ed alla visita non presentavano infestazioni da zecche. La ricerca di IgG per *Anaplasma* spp. è stata eseguita tramite un kit commerciale in ELISA (VMRD, USA) mentre il DNA di *Theileria ovis*, *Babesia ovis* e *Anaplasma ovis* è stato ricercato tramite PCR end point come descritto precedentemente da altri autori (2-4).

Risultati e considerazioni - I risultati degli esami di laboratorio per la ricerca di patogeni trasmessi da vettore sono riportati in tabella 1.

Dal nostro studio si evince come tutte le capre analizzate mostravano una positività sia sierologica che molecolare per *Anaplasma* spp. mentre nessuno è risultato positivo per le piroplasmosi. Questi dati sono in accordo con quanto riscontrato fino ad ora con la situazione epidemiologica caprina siciliana (dati Crabart) in cui la posi-

Tab. 1 - Risultati degli esami di laboratorio per da VBPs nei campioni di capre girgentane.

Patogeno	Sierologia		PCR	
	<i>Anaplasma</i> spp.	<i>Theileria ovis</i>	<i>Babesia ovis</i>	<i>Anaplasma ovis</i>
Positivi	95	0	0	19
Negativi	5	100	100	81

tività molecolare a *T. ovis* viene riscontrata in circa 2/3 degli ovini testati ma non nei caprini. Inoltre, il DNA di *B. ovis* non è mai stato rilevato negli ovicaprini nel territorio siciliano.

Poiché le malattie trasmesse da vettore sono endemiche nel territorio, questo riscontro suggerisce una potenziale resistenza delle girgentane in questo caso, ma probabilmente dei caprini in genere, verso le piroplasmosi. Recentemente infatti alcuni autori hanno già individuato nella razza girgentana geni di resistenza verso la TSE (5).

Pertanto, un campionamento più ampio è necessario al fine di confermare i risultati preliminari di questo studio e fornire un eventuale valore aggiunto ad una razza autoctona che in passato ha rischiato di estinguersi.

Survey on vector-borne pathogens in Sicilian girgentana goats: preliminary data

Key words - Vector Borne Pathogens, girgentana goat, Sicily

Bibliografia

- 6° CENSIMENTO AGRICOLTURA (2010) rapporto sui dati definitivi della Sicilia. Le statistiche sull'agricoltura siciliana: informazioni per l'analisi e le politiche - vol. 1. Ed. Leima.
- Altay et al., (2005) Detection of *Theileria ovis* in naturally infected sheep by nested PCR. *Vet Parasitol.*;127(2):99-104.
- Akta et al. (2005) Development of a polymerase chain reaction method for diagnosis of *Babesia ovis* infection in sheep and goats. *Vet Parasitol.* 2005 Nov 5;133(4):277-81.
- Torina et al. (2008) Characterization of *Anaplasma* infections in Sicily, Italy. *Ann N Y Acad Sci.* 2008 Dec;1149:90-3. doi: 10.1196/annals.1428.065.
- Vitale et al., (2016) Scrapie incidence and PRNP polymorphisms: rare small ruminant breeds of Sicily with TSE protecting genetic reservoirs. *BMC Vet Res.* 2016 Jul 15;12(1):141. doi: 10.1186/s12917-016-0766-9.

***Dichelobacter nodosus* in Italia: ceppo benigno o ceppo virulento?**

PESCA C¹, CRUCIANI D¹, FELICI A¹, ABBATEY¹, SEBASTIANI C¹, CROTTI S¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati", Perugia

Parole chiave: pedaina contagiosa, ovini, Real-Time PCR

Introduzione - La pedaina contagiosa degli ovini è una grave patologia podale a carattere suppurativo-necrotico, causata dal germe *Dichelobacter nodosus* in associazione o meno ad altri microrganismi come *Fusobacterium necrophorum*, *Treponema* spp, stafilococchi e spirochete. La pedaina contagiosa viene considerata una malattia infettiva multifattoriale, diffusa in diverse regioni italiane e di grande impatto sul benessere e sull'economia dell'allevamento ovino in termini di perdita delle produzioni e di costi per il trattamento e la prevenzione della patologia. La lesione che si riscontra può variare in gravità: da un'inflammatione lieve o moderata a livello dello spazio interdigitale fino ad una flogosi necrotizzante delle lamine dello zoccolo. Uno dei fattori che maggiormente influenza la gravità dell'espressione clinica della malattia è la virulenza del ceppo di *D. nodosus* presente in allevamento. La presenza di due ceppi distinti del batterio -benigno e virulento- è stata recentemente dimostrata attraverso il sequenziamento dell'intero genoma batterico. I ceppi sono associati rispettivamente alla presenza di due proteasi extracellulari, *AprB2* e *AprV2* che ne condizionano la virulenza. In allevamenti affetti da pedaina contagiosa, i due ceppi non vengono quasi mai riscontrati in associazione ed è nota la capacità del ceppo virulento di trasformarsi in ceppo benigno ma non viceversa. La variante benigna è caratterizzata da lesioni podali limitate ad una flogosi lieve o moderata. La variante virulenta determina invece lesioni podali più gravi fino alla necrosi delle lamine dello zoccolo. L'incapacità del ceppo benigno di evolvere in ceppo virulento fa sì che si renda auspicabile la presenza di questo ceppo in allevamenti con sospetto di pedaina contagiosa, o se ne favorisca lo shift. In ogni caso la presenza di entrambi è stata riscontrata anche in animali con assenza di lesioni podali, condizione che si riscontra o nei primissimi stadi dell'infezione o nei soggetti carriers, che dovrebbero essere prontamente individuati. Le varianti *AprB2* e *AprV2* differiscono per un polimorfismo dinucleotidico (TA/CG), che produce una sostituzione aminoacidica (Tyr92Arg) in grado di condizionare l'attività enzimatica della proteina.

Per le particolari esigenze di isolamento di *D. nodosus*, per la necessità di monitorare la malattia e di accorciare i tempi di diagnosi, la ricerca della presenza di *D. nodosus* e la discriminazione tra variante benigna e variante virulenta possono essere oggi ottenute

attraverso un protocollo in PCR real-time, tecnica in grado di fornire un approccio accurato, rapido, sensibile e specifico.

Scopo del presente lavoro è stato quello di ampliare un'indagine condotta precedentemente e relativa alla presenza di *D. nodosus*, caratterizzandone il ceppo. Lo studio è stato eseguito in allevamenti ovini distribuiti sul territorio italiano nei quali si presentava almeno il 10% di zoppia.

Materiali e metodi - Per lo sviluppo della seguente indagine sono state selezionate 70 aziende ovine in cui almeno il 10% di animali presentava zoppia. Le aziende sono site nelle province di Aquila, Brescia, Milano, Perugia, Terni, Grosseto, Siena, Macerata, Pesaro, Roma, Rieti, Viterbo, Potenza, Salerno, Sassari. I campionamenti effettuati da Gennaio 2016 a Maggio 2018 hanno interessato sia ovini con lesioni podali compatibili con pedaina contagiosa sia animali sani appartenenti allo stesso gregge. La singola unità campionaria presa in considerazione per il seguente studio è lo zoccolo, considerato un'entità indipendente, in base all'evidenza che uno stesso capo può presentare quattro arti con lesioni di gravità variabile. Complessivamente sono stati campionati 384 zoccoli. Dalle unità campionate è stata eseguita una estrazione del DNA mediante l'utilizzo di un Kit commerciale ed i campioni sono stati sottoposti a un saggio di discriminazione allelica in PCR real-time utilizzando la piattaforma 7500 Fast Real-Time PCR system (Thermo Fisher Scientific). La metodica ha permesso di discriminare tra *AprB2* e *AprV2* identificando rispettivamente il ceppo benigno e il ceppo virulento, secondo il protocollo indicato da Stäuble *et al.* (2014).

Risultati e considerazioni - Sul totale dei 384 campioni analizzati, 197 tamponi (51.3%) sono risultati positivi per la ricerca di *D. nodosus*. Tra le 70 aziende prese in esame, nel 84.28% era presente *D. nodosus* (n=59). Il ceppo virulento è stato determinato in 193 campioni (50.26%), il ceppo benigno in 4 campioni (1.04%). Non è stata rilevata co-infezione dei due ceppi.

Il presente studio ha permesso di indagare la diffusione di *D. nodosus* in allevamenti con problemi di zoppia, dove l'incidenza della sintomatologia raggiungeva almeno il 10% del totale del gregge. È stata osservata un'alta percentuale di positività a pedaina nei greggi italiani esaminati ed è stato possibile, inoltre, mettere

in evidenza un'alta percentuale di campioni positivi al ceppo virulento di *D. nodosus*.

L'utilizzo di tecniche molecolari per la diagnosi di pedaina, in particolare della PCR real-time, comporta una serie di vantaggi tra cui la rapidità di esecuzione e di diagnosi, consentendo di ottenere risultati in tempi minori rispetto all'esame colturale. Per limitare la diffusione della patologia in allevamento e ridurre la gravità risulta fondamentale riuscire a discriminare tra ceppo virulento e ceppo benigno, in modo da poter adottare misure di controllo e di trattamento diverse a seconda del tipo di ceppo presente. In caso di allevamenti positivi a ceppo virulento, l'efficacia dei protocolli terapeutici e profilattici adottati può essere testata verificando lo shift da ceppo virulento a ceppo benigno. Inoltre, un monitoraggio nell'arco dell'anno di tutti gli animali presenti nel gregge o di nuova introduzione, sia con che senza lesioni, risulta fondamentale per individuare i soggetti carriers e prevenire l'insorgenza di nuovi focolai di infezione.

***Dichelobacter nodosus* in italian sheep flocks: benign or virulent strain?**

Key words: ovine foot rot, sheep, Real-Time PCR

Bibliografia

- Crotti S., Cruciani D., Fazzari A., Magistrali C.F., Curcio L., Madeo L., Papa P., Antenucci P., Pesca C. (2017), Ovine foot rot: a welfare and economic concern. *Italian Journal of Animal Science*, vol.16:supplement 1:131-132
- Kenna R.M., Gilhuus M., Frosth S., Seeman T., Dhunghyel O.P., Whittington R.J., Boyce J.D., Powell D.R., Aspan A., Jorgensen H.J., Bulach D.M., Rood J.I. (2014), Genomic evidence for a globally distributed, bimodal population in the ovine footrot pathogen *Dichelobacter nodosus*. *Mbio* volume 5, issue 5 e01821-14.
- Stäubli, A., Steiner A., Frey J., Kuhnert P. (2014), Simultaneous detection and discrimination of virulent and benign *Dichelobacter nodosus* in sheep of flocks affected by foot rot and in clinically healthy flocks by competitive real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 52:1228-1231.
-

Valutazione della risposta immunitaria per *Mannheimia haemolytica* in agnelli provenienti da allevamenti ovis italiani

PESCA C¹, FORTI K¹, ANZALONE L¹, D'AVINO N¹, DI PAOLO A¹, FELICI A¹, FILIPPINI G¹, SCOCCIA E¹, MUNTONI S², ANTENUCCI P², CAO F³, SALIS F⁴, CROTTI S¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati", Perugia; ²MSD Animal Health, Segrate (MI); ³Veterinario libero professionista, Sardegna; ⁴Veterinario Martini S.p.A.

Parole chiave - *Mannheimia haemolytica*, ovis, Heptavac® P

Introduzione - Le malattie respiratorie sono tra le più importanti cause di perdite economiche nell'allevamento ovino, soprattutto in quello intensivo. Un'adeguata copertura anticorpale nei confronti degli agenti infettivi responsabili di patologie respiratorie rappresenta uno degli aspetti più importanti per il controllo delle patologie in allevamento. La placenta sindesmocoriale degli ovis non consente il passaggio di anticorpi tra madre e feto, di conseguenza l'unico modo per ottenere una immunità passiva valida è attraverso una corretta colostratura. Qualità del colostro (IgG>50g/L), tempo di somministrazione (entro 6 ore dalla nascita dell'agnello) e quantità somministrata (20% del peso corporeo dell'animale, circa 800 mL) rappresentano prerequisiti fondamentali per ottenere una colostratura ottimale. Lo scopo del seguente lavoro è stato quello di valutare la cinetica del titolo anticorpale passivo nei confronti di *Mannheimia (M.) haemolytica* in agnelli provenienti da madri vaccinate e non vaccinate con vaccino Heptavac® P, mediante il confronto nei due gruppi della concentrazione di anticorpi specifici nei confronti di *M. haemolytica*. A tale scopo è stato impiegato un test ELISA home made saggiando il siero degli agnelli fino al loro 75° giorno di età.

Materiali e metodi - Per questo studio sono state selezionate complessivamente 168 pecore provenienti da 3 allevamenti ubicati in provincia di Sassari. Di queste 116 sono state vaccinate con vaccino Heptavac® P, 4-6 settimane prima del parto secondo le indicazioni fornite dalla casa produttrice e 52 non sono state vaccinate. Al momento dei parti sono stati selezionati gli agnelli, sono stati esclusi dallo studio quelli provenienti da parti gemellari e i maschi, ad eccezione di quelli che sono rimasti in azienda oltre i 75 giorni di vita in quanto scelti dall'allevatore come riproduttori. Al tempo 0 (entro 24-48 ore dalla nascita) e successivamente a intervalli di 15 giorni, fino a 75 giorni di vita, sono stati eseguiti prelievi di sangue in 60 agnelli di cui 39 nati da madri vaccinate e 21 da madri non vaccinate. I 60 agnelli sono così ripartiti nelle 3 aziende sarde: 24 nella azienda 1 (14 da madri vaccinate e 10 non vaccinate), 15 nella azienda 2 (12 da madri vaccinate e 3 non vaccinate) e 21 nella azienda 3 (13 da madri vaccinate e 8 non vac-

inate). Da tenere in considerazione il fatto che durante l'intero periodo dello studio qualche soggetto è venuto a morte, per altri si è persa la certezza dell'identificazione e pertanto il numero finale degli animali saggiati ha subito un decremento (t0=60, t15=58, t30=50, t45=49, t60=47, t75=29). Per valutare la risposta anticorpale di ogni singolo agnello, presso i laboratori dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche "Togo Rosati", è stato messo a punto un Kit ELISA indiretto.

L'antigene impiegato nella fase di messa a punto è rappresentato dal vaccino Heptavac® P, in quanto contenente i sierotipi epidemiologicamente più rilevanti di *M. haemolytica* (A1, A2, A6, A7, A9). Come controllo negativo è stato invece impiegato il siero di un agnello appena nato, considerato il "vero negativo" in quanto praticamente privo di anticorpi.

Risultati e considerazioni - I dati ottenuti con il test ELISA testimoniano un buon trasferimento di immunità negli agnelli nei confronti di *M. haemolytica*, garantendo una maggiore resistenza nei confronti dello sviluppo di polmonite enzootica. La curva anticorpale nei soggetti nati da madri vaccinate risulta costantemente superiore rispetto a quella dei soggetti nati da madri non vaccinate. Il valore subisce quindi un progressivo decremento, fino quasi ad azzerarsi intorno al 75° giorno di vita in entrambi i gruppi di studio. Sem-

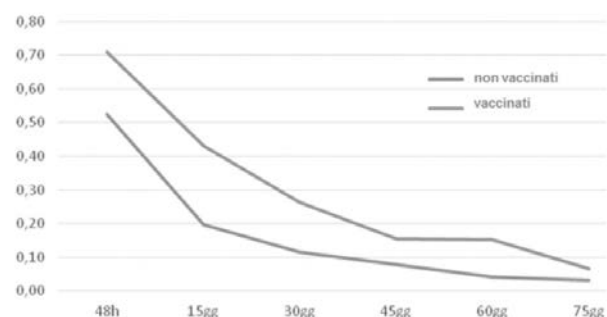


Grafico 1 - curva anticorpale -media per ogni tempo (aziende 1, 2 e 3)

bra quindi questo il periodo più critico e favorevole all'insorgenza di forme cliniche importanti che causano perdite economiche in allevamento (grafico 1).

In conclusione possiamo sostenere che il protocollo vaccinale nei confronti di *M. haemolytica* effettuato nelle madri a 4-6 settimane prima del parto consente di ottenere un colostro di qualità migliore, garantendo così una buona copertura immunitaria passiva verso le patologie respiratorie degli agnelli, soprattutto nelle prime settimane di vita. Conoscere il momento in cui inizia il calo della risposta anticorpale fornisce infatti indicazioni utili per programmare un corretto ed efficace piano vaccinale per le rimonte. In questa maniera, si evita il rischio di intervenire troppo precocemente, andando eventualmente incontro a fenomeni di interferenza immunitaria, oppure ancor peggio di fare un intervento vaccinale tardivo, con il rischio di creare una pericolosa finestra di scarsa protezione dovuta alla rapida riduzione dell'immunità passiva e alla mancanza ancora di quella attiva. Per questi motivi il momento migliore per iniziare ad implementare un programma

di vaccinazione attiva sulle rimonte è quello che va dalle 3 alle 4 settimane di vita.

Evaluation of the immune response for *Mannheimia haemolytica* in lambs from italian sheep flocks

key words - *Mannheimia haemolytica*, ovine Heptavac® P

Bibliografia

Gautier J.M., Corbiere F. (2017), Better knowledge for sheep colostrum quality and passive immune transfer. Ninth International Sheep Veterinary Congress, Harrogate, UK, 22-26 May 2017.

Tao S (2009), Evaluation of a vaccine against *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* in sheep. Honor Thesis presented to the College of Agriculture and Life Sciences, Department of Animal Science of Cornell University in partial fulfillment of the requirements for the research honors program.

Approccio forense ai casi di predazione in pecore e capre

PIEGARI G¹, DE BIASE D¹, PRISCO F¹, AMBROSIO N², SPADA A², PACIELLO O¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli studi di Napoli "Federico II";

²Azienda Sanitaria Locale (ASL) Napoli 2 Nord.

Parole chiave - patologia forense, autopsie, predazione

Introduzione - La predazione è un tipo di interazione in cui un animale, per nutrirsi, usa come fonte di cibo un altro animale di specie diversa. Se il soggetto predato è vivo nel momento in cui la lesione è indotta, si parla di predazione ante-mortem, diversamente, di predazione post-mortem o, più correttamente, di necrofagia. In medicina legale umana, le lesioni secondarie a necrofagia rientrano tra gli artefatti post-mortem. Con artefatti, si intende una qualsiasi modificazione post-mortale, causata ad un cadavere, che potrebbe mimare lesioni ante-mortem significative dal punto di vista medico-legale portando, in questo modo, ad interpretazioni diagnostiche errate. La necrofagia, seppur da un lato può determinare l'insorgenza di lesioni che possono, in taluni casi, essere confuse con lesioni intravitali, dall'altro, può alterare lesioni pre-esistenti. Questa condizione può determinare, in taluni casi, difficoltà nell'interpretazione della causa della morte. Nei casi di predazione, una corretta discriminazione tra predazione e necrofagia è di peculiare rilevanza al fine di determinare, in maniera corretta, la causa di morte dell'animale. La necessità di una corretta diagnosi è essenziale soprattutto per finalità risarcitorie. Infatti, le leggi vigenti sul territorio nazionale concedono indennizzi nei casi in cui pecore o capre vengano predate da cani o lupi ma non nei casi di necrofagia.

Scopo del lavoro - Lo scopo del presente lavoro è stato quello di indagare le differenze in localizzazione, estensione e tipologia, tra lesioni dovute a predazione e lesioni dovute a necrofagia in alcuni casi esaminati presso il nostro Dipartimento.

Materiali e metodi - Sono stati esaminati 25 cadaveri di ovi-caprini adulti, divisi in 3 gruppi. Il gruppo A comprendeva 7 animali morti per predazione ante-mortem, il gruppo B comprendeva 3 cadaveri che presentavano lesioni dovute ad attività necrofagica, il gruppo C comprendeva 15 resti ossei di ovicaprini ritrovati nel territorio della regione Campania. Su tutti gli animali del gruppo A e B, è stata eseguita una necropsia forense completa presso il Dipartimento di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II". Sui resti ossei del gruppo C, è stato eseguito un completo esame osteologico forense. Per ogni animale, le lesioni sono state valutate macroscopicamente, misurate e, successivamente, fotografate.

Risultati e considerazioni - L'esame necroscopico forense eseguito sugli animali del gruppo A ha permesso di osservare, in 3 animali su 7, lacerazioni cutanee e muscolari non particolarmente estese (range 15-25 cm x 13-14 cm), focali e localizzate a livello di arti posteriori. Tutte le lesioni erano associate a segni, più o meno intensi, di reattività/danno tissutale quali: iperemia ed emorragie associate ad edema sottocutaneo. In questi casi, i margini delle lesioni apparivano frastagliati, iperemici ed emorragici. Tuttavia, in 4 animali su 7, gli avanzati fenomeni putrefattivi non hanno permesso di evidenziare lesioni utili ai fini diagnostici. Di contro, in tutti i casi del gruppo B, le lesioni si presentavano particolarmente estese, spesso con completa scheletrizzazione dell'area anatomica interessata, multifocali, con completa assenza di segni di reattività tissutale. I margini si presentavano netti o frastagliati e non presentavano segni di reattività tissutale. Infine, l'esame osteologico forense eseguito sui resti ossei degli animali del gruppo C, non ha permesso di evidenziare lesioni utili ai fini diagnostici.

L'evidenziazione di lesioni riferibili a necrofagia, specialmente da parte di cani e lupi, non sono rare nella pratica autoptica forense. Per questa ragione, discernere tra ferite mortali da morso e lesioni post-mortem secondarie a necrofagia appare essere importante ai fini diagnostici e, conseguentemente, medico-legali ed assicurativi. Nel nostro studio abbiamo osservato come le differenze salienti riscontrate tra predazione ante e post-mortem risiedano nell'estensione della lesione e nell'assenza di segni di reattività/danno tissutale quali,

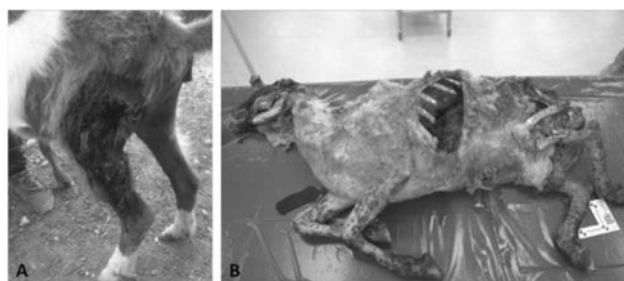


Fig. 1 - A: Capra, predazione ante-mortem; lesione, di circa 20 cm x 15, localizzata a livello di arto posteriore sx; B: Pecora, predazione post-mortem; completa scheletrizzazione dell'arto posteriore sinistro associata a lacerazioni e scheletrizzazione della regione dell'ipocondrio ipsilaterale e del collo

ad esempio: emorragie, iperemia e segni riferibili ad aspirazione di sangue in sede polmonare (nel caso di lesioni coinvolgenti grossi vasi e trachea). Tuttavia, all'aumentare del tempo intercorso dalla morte, l'insorgenza dei fenomeni putrefattivi alterava la morfologia della lesione, rendendo impossibile la caratterizzazione della stessa. Analogamente, l'assenza di lesioni ossee caratteristiche, osservate negli animali del gruppo C, suggerisce l'impossibilità di discernere tra lesioni ante e post-mortem nei casi in cui la putrefazione del cadavere raggiunga la fase di scheletrizzazione.

Conclusioni - Il presente studio evidenzia come, un attento e completo esame necroscopico forense possa essere un valido ausilio nel discriminare tra lesioni riferibili a predazione e necrofagia. Tuttavia, tale esame perde di sensibilità all'aumentare del tempo intercorso dalla morte.

Forensic approach to predation cases in sheep and goats

Key words - forensic pathology, autopsy, predation

Bibliografia

- Tyagi A., Tyagi S, Malik N, Chawla H. (2016) Post-mortem cadaveric depredation by animals - a diagnostic dilemma. *ijmtfm* (1):20-23
- Byard RW. (2005) Autopsy problems associated with postmortem ant activity. *forensic sci med, pat* 1(1):37-40.
- Fico R. IZS Abruzzo e Molise Accertamento dei casi di predazione: metodi, validazione dei risultati e implicazioni gestionali dei risultati.
-

Composizione acidica del grasso del latte di capre primipare di razza Sarda e Maltese tenute nelle stesse condizioni di allevamento semi-estensivo

PITTAU D¹, SPANU C¹, SCARANO C¹, BANNI S², DELMONTE P³, DE SANTIS EPL¹, DE RIU N¹, SEDDA P¹, MURA E¹, MONIELLO G¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria - Università di Sassari - Sassari - Italy; ²Department of Biomedical Sciences - University of Cagliari - Monserrato (Ca) - Italy; ³Food and Drug Administration - Office of Regulatory Science - United States

Parole chiave - composizione acidica, latte di capra, capra di razza Sarda, capra di razza Maltese, PUFA n-3

Introduzione - L'allevamento caprino in Sardegna è essenzialmente di tipo estensivo ed insiste principalmente nelle zone più marginali, ove svolge un ruolo economico, sociale ed ambientale insostituibile. La razza Sarda costituisce la quota prevalente, sono frequenti incroci con altri tipi genetici, a maggiore specializzazione per la produzione latte, a volte allevate in purezza, tra cui la Maltese, che in Sardegna annovera circa il 40% del totale nazionale dei capi iscritti al Libro Genealogico e sottoposti a controlli funzionali. Il presente lavoro ha lo scopo di comparare la composizione acidica del grasso del latte nel corso della lattazione di entrambe le razze tenute contemporaneamente in un unico allevamento, nelle stesse condizioni di gestione ed alimentazione.

Materiali e metodi - Il lavoro è stato eseguito in un allevamento semi-estensivo situato in provincia di Nuoro. L'alimentazione costituita prevalentemente da pascolo su prato naturale polifita e macchia mediterranea era integrata in maniera costante e regolare con fieno di erba medica e di prato polifita e concentrati. Sono state utilizzate 26 capre primipare, 13 Maltesi (M) ed altrettante Sarde (S), tutte iscritte al Libro Genealogico della rispettiva razza ed identificate elettronicamente mediante bolo ceramico ruminale. Per l'intera durata della prova sono stati monitorati la carica parassitaria e lo stato sanitario di tutti i soggetti. Da fine marzo-inizio aprile, dopo l'allontanamento dei capretti (circa 40 giorni dopo il parto) le capre sono state sottoposte a doppia mungitura giornaliera fino alla fine di giugno, quando si è passati ad una sola mungitura giornaliera fino all'asciutta. Sono stati controllati con cadenza mensile la produzione di latte e su un campione di latte individuale, rappresentativo dell'intera mungitura è stata effettuata la determinazione di grasso, proteine, lattosio e conta delle cellule somatiche mediante apparecchiatura automatica (Milkoscan), urea (metodo potenziometrico) e la composizione acidica del grasso. Dai dati ottenuti nei singoli controlli mensili sono stati stimati la produzione totale e gli stessi parametri relativi all'intera lattazione. Da ciascun soggetto è stato prelevato un campione di sangue eparinizzato dopo la mun-

gitura del mattino, dal quale è stato recuperato il plasma mediante centrifugazione. Sul latte e sul plasma del sangue è stata determinata la composizione acidica previa metilazione (Cruz-Hernandez et al., 2004) ed analisi gascromatografica. Gli acidi grassi (FA) determinati sono stati raggruppati come segue: corta catena (SCFA) somma dei FA saturi da 4 a 10 atomi di carbonio; media catena (MCFA) somma dei FA saturi da 11 a 16 atomi di carbonio; lunga catena (LCFA) somma dei FA saturi da 17 a 24 atomi di carbonio; polinsaturi (PUFA) somma dei FA polinsaturi da 17 a 24 atomi di carbonio; Cis9-monoin saturi (Cis9-MUFA) tutti i cis9 monoin saturi; Trans-FA: somma degli insaturi in configurazione trans esclusi i coniugati (FDA, 2003). Gli indici 9-desaturasi sono stati calcolati come rapporto prodotto/substrato (Soyeurt et al., 2008; Lock & Garnsworthy, 2003; Thomson et al., 2003) per cinque coppie di FAs: 14:1/14:0, 15:1/15:0, 16:1/16:0, 18:1/18:0 e cis9,trans11-18:2/trans11-18:1. Gli indici di Aterogenicità (AI) e di Trombogenicità (TI) sono stati calcolati come proposto da Ulbricht e Southgate (1991):

$$AI = [12:0 + 4(14:0 + 16:0)] / [(n6 + n3)PUFA + 18:1 + MUFA]$$

$$TI = (14:0 + 16:0 + 18:0) / [(0.5 \times 18:1) + 0.5(MUFA) + 0.5(n6 PUFA) + 3(n3PUFA) + (n3PUFA/n6PUFA)]$$
 I risultati ottenuti sono stati sottoposti ad ANOVA ponendo come effetti principali la razza (S e M) ed il prelievo.

Risultati e considerazioni - La carica parassitaria è risultata nella norma per l'intero periodo di prova e negli animali non è stato rilevato alcun segno clinico di malattia. La durata della lattazione e la produzione totale di latte sono risultate mediamente di 146±9 d e 203±55 kg per la razza Maltese, 126±16 d e 96±26 kg per la Sarda. Il contenuto in grasso e proteine e lattosio è risultato sovrapponibile nelle due razze. Nel corso della lattazione si sono avute modificazioni anche significative della composizione acidica sia nel plasma sia nel latte. La razza Sarda ha presentato nel latte un contenuto in acidi grassi saturi (SFA) significativamente superiore (P<0,05) alla Maltese (69,25 vs 68,11), tale differenza è da ascrivere essenzialmente agli SCFA, risultati significativamente (P<0,01) più elevati nella Sarda (19,13 vs 18,19). Nel plasma i SFA non hanno

mostrato differenze significative. MCFA, LCFA e PUFA sono risultati sovrapponibili nel latte delle due razze, subendo alcune modificazioni nel corso della lattazione. I PUFA del plasma sono risultati significativamente superiori ($P < 0,05$) nella Maltese rispetto alla Sarda (33,97 vs 31,91). Anche i MUFA rappresentati in massima parte dal cis-9-18:1 (19% del totali e 96% dei MUFA) sono risultati simili nel latte delle due razze, significativamente superiori ($P < 0,05$) nella Sarda rispetto alla Maltese (19,93 vs 17,80) con aumento in plasma e latte all'avanzare della lattazione. Il 18:3-n3, sia nel latte (0,81 vs 0,57) sia nel plasma sanguigno (4,85 vs 3,33) è risultato significativamente superiore ($P < 0,001$) nella Maltese rispetto alla Sarda e diminuzione all'avanzare della lattazione, mentre nella Maltese si è osservata solo una lieve flessione all'ultimo prelievo. Il 18:3-n3 anche nel plasma sanguigno si è ridotto all'avanzare della lattazione, contestualmente al peggioramento delle caratteristiche qualitative del pascolo ed in maniera più marcata nella Sarda. I valori di 20:5-n3, 22:6-n3 e 20:4-n6 sono risultati più elevati nella Sarda. Il maggiore

contenuto in 22:6 (DHA) e SCFA del latte della razza Sarda, dovuto ad una più intensa attività metabolica della ghiandola mammaria ha un benefico effetto sulla salute umana. Nella Maltese si è riscontrato un maggiore contenuto di acido vaccenico, che è in grado di ridurre i rischi di malattie cardiovascolari. Lo stadio di lattazione ha influenzato quasi tutti gli acidi grassi ed i loro rapporti, la diminuzione dei saturi (SFA) ed il corrispondente aumento del c9-MUFA fa ipotizzare una più efficiente attività dell'enzima 9-desaturasi della ghiandola mammaria. Lo stadio di lattazione ha influenzato anche il contenuto dei PUFA, che si è ridotto in concomitanza della disponibilità stagionale di foraggio fresco. Anche gli indici aterogenico e trombogenico si sono ridotti all'avanzare della lattazione.

Milk fatty acids composition of Maltese and Sarda goat breeds under semi-extensive rearing system

Key words - Fatty acids composition, goat milk, Sarda goat breed, Maltese goat breed, PUFA n-3

Lavoro eseguito con finanziamento Regione Autonoma Sardegna - Azione P5A

Miosite linfoplasmocitica associata a sarcocistosi ed espressione del complesso maggiore d'istocompatibilità di classe I e II (MHC I e II) negli ovini

PRISCO F, PAGANO TM, MAURELLI MP, RINALDI L, PAPPARELLA S, PACIELLO O

Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università di Napoli Federico II

Parole chiave - Sarcocisti, Miosite, complesso maggiore d'istocompatibilità di classe I e II

Introduzione - La sarcocistosi è una malattia infettiva non contagiosa, a decorso cronico, sostenuta da protozoi appartenenti al genere *Sarcocystis spp.* che nell'ovino è per lo più asintomatica. Il ciclo di sviluppo di *Sarcocystis spp.* comprende un ospite definitivo, in cui si realizza una riproduzione sessuale, e uno intermedio, in cui la riproduzione è asessuale. La pecora è l'ospite intermedio di quattro specie del genere *Sarcocystis*: *S. gigantea*, *S. medusiformis*, *S. tenella* and *S. arieticanis*, i cui ospiti definitivi sono i canidi e i felidi. La prevalenza di sarcocistosi muscolare è estremamente elevata nelle pecore in tutto il mondo, arrivando ad interessare il 100% della popolazione ovina.

Lo scopo del lavoro è quello di caratterizzare la miosite associata ad infezione da sarcocisti e valutare come il parassita possa modulare la risposta infiammatoria dell'ospite.

Materiali e metodi - Sono state raccolte 80 biopsie di muscolo scheletrico da pecore meticce di 4-5 anni. Le biopsie sono state congelate in isopentano preraffreddato in azoto liquido e tagliate al criostato in sezioni di 8 µm. Le sezioni sono state sottoposte a un pannello di base di colorazioni istochimiche ed istoenzimatiche oltre che a indagini immunostochimiche per tipizzare l'infiltrato infiammatorio (CD3, CD4, CD8, CD79, CD45RA, MHC I e MHC II). Sono stati raccolti inoltre campioni congelati per l'identificazione di specie mediante PCR.

Risultati e considerazioni - Cisti intra-sarcoplasmatiche sono state rilevate in 77/80 (96,2%) casi esaminati. 55/80 (68,7%) casi presentano un infiltrato infiammatorio caratterizzato prevalentemente da linfociti e plasmacellule localizzati nel connettivo endomisiale e perimisiale. L'infiltrato infiammatorio è stato classificato come lieve (57,5%), moderato (36,2%) o grave (5%). In associazione al processo infiammatorio si osservano inoltre aspetti di degenerazione e necrosi miofibrile. I linfociti presenti sono prevalentemente CD8+. Gli eosinofili erano costantemente assenti. Sia in biopsie con evidente infiltrato infiammatorio che in casi senza infiammazione si è vista una overespressione, sarcolemmale e citoplasmatica, di MHC I e MHC II. Sulla parete delle cisti si osserva una positività costante e intensa a MHC II e occasionale a MHC I. Il 100% dei

muscoli esaminati in PCR per l'identificazione di specie, ha evidenziato *Sarcocystis tenella*.

I dati esposti suggeriscono che l'infezione da *Sarcocystis spp.* può determinare l'overespressione di MHC I e MHC II. Tali antigeni possono avere un ruolo nello stimolare e nel mantenere lo stato infiammatorio del muscolo. Questi risultati confermano l'alta prevalenza di sarcocistosi negli ovini. Inoltre, contrariamente a quanto riportato in bibliografia, tale parassitosi può determinare una miopatia immuno-mediata che va considerata tra le diagnosi differenziali delle miopatie infiammatorie idiopatiche in tutte le specie (esseri umani inclusi).

Inflammatory myopathy associated with sarcocystosis and expression of the Major Histocompatibility Complex Class I (MHC I) in sheep

Key Words: Sarcocysts, Myositis, MHC class I and II

Bibliografia

Dubey J.P., Calero-Bernal R., Rosenthal B.M., Speer C.A., Fayer R. 2015, *Sarcocystis* in Animals and Man. CRC Press.

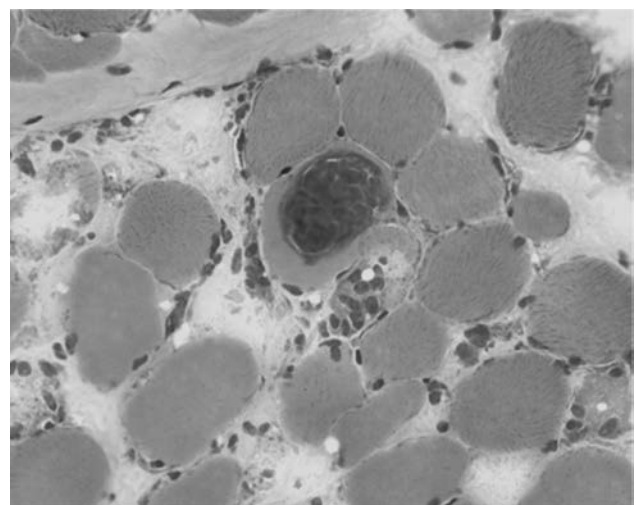


Fig 1 - Sezione trasversale di muscolo scheletrico: si osserva una cisti contenente numerosi bradizoiti (*Sarcocystis spp.*) in una miofibra e infiltrato linfocitario nell'endomysio.

- Dubey J.P. 1988, Lesions in sheep inoculated with *Sarcocystis tenella* sporocysts from canine feces. *Vet. Parasit.* 26:237-252.
- O'Donoghue P.J., Ford G.E., 1986, The prevalence and intensity of *Sarcocystis* spp infections in sheep. *Aust Vet J.* 63(9):273-8.
- Sykes J.E., Dubey J.P., Lindsay L.L., Prato P., Lappin M.R., Guo L.T., Mizisin A.P., Shelton G.D. 2011, Severe Myositis Associated with *Sarcocystis* spp. Infection in 2 Dogs. *J Vet Intern Med* 25:1277-1283
-

Effetto della sostituzione nella dieta della farina di estrazione di soia con farina di mais sulla produzione di latte caprino

RAPETTI L, COLOMBINI S, VANETTI C, ROTA GRAZIOSI A, MALAGUTTI L[†]

Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali - Produzione, Territorio, Agroenergia. Università degli Studi di Milano

Parole chiave - proteina della dieta, latte caprino, urea del latte.

Introduzione - Nella gestione dell'alimentazione della capra in lattazione frequentemente si tende a sovradosare l'apporto di proteina della dieta poiché non sempre si valuta la relazione tra apporti e fabbisogni di proteina digeribile a livello intestinale. Il contenuto di urea del latte di massa di molti allevamenti, prossimo o superiore ai 40 mg/dL, ne è una prova tangibile. L'eccessivo apporto di proteina peggiora la sostenibilità dell'allevamento, in termini economici aumentando il costo della razione, sotto il profilo ambientale aumentando l'escrezione azotata urinaria. Nell'ambito di un progetto dimostrativo strategico (A.R.CA.LA. - Allevamento Razionale Caprini da Latte - Misura 1.1.1. PSR 2007-2013 - Regione Liguria) è stata svolta una prova *in vivo* con la finalità di evidenziare che la forzatura dell'apporto di proteine della dieta non si traduce in un miglioramento delle prestazioni produttive, né in termini quantitativi, né qualitativi.

Materiali e metodi - È stata condotta una prova su 23 capre di razza Camosciata delle Alpi di un allevamento nell'Appennino ligure per valutare la sostituzione della farina d'estrazione di soia con farina di mais sulla produzione quanti-qualitativa del latte. Le capre, suddivise in due gruppi omogenei per livello produttivo, sono state alimentate con due diete differenziate per tenore proteico (HP, High Protein; LP, Low Protein), secondo un disegno sperimentale a cross-over. Le razioni somministrate in stalla erano integrate dall'erba pascolata durante le ore del mattino. La quantità di erba ingerita al pascolo è stata stimata per differenza tra l'ingestione totale di sostanza secca prevista in base al peso vivo e alla produzione di latte (Sauvant et al., 2007) dedotta della quantità di sostanza secca somministrata in stalla. Le due diete erano caratterizzate dalla seguente composizione alimentare (tab. 1) e chimica (tab. 2).

I due periodi sperimentali si sono svolti nei mesi di aprile (P1) e maggio (P2): settimanalmente è stata monitorata la produzione individuale di latte alla mungitura del mattino. Su i campioni di latte raccolti sono stati determinati: urea (piaccametrica differenziale), cellule somatiche (Fossomatic 360), grasso, proteine e lattosio (Milkoscan FT6000, Foss, Hillerod, Danimarca). Il fabbisogno delle proteine digeribili nell'intestino (PDI) è stato calcolato secondo Sauvant et al. (2007) mentre gli apporti di PDI con N quale fattore limitante

Tab 1. Composizione alimentare delle diete sperimentali (HP e LP).

	HP	LP
Prato pascolo ¹	2,50	2,50
Fieno polifita di II taglio	1,00	1,00
Mangime complementare (17,3% PG ss) ²	0,75	0,75
Mais farina	0,25	0,50
Soia farina d'estrazione (46% PG stq)	0,25	-

¹Composizione chimica riferita a dati tabulati, con PG 166 g/kg SS; ²Mangime complementare contenente il 21,6% di soia integrale estrusa.

Tab. 2. Composizione chimica (g/kg SS) e valore nutritivo (UFL, n/kg SS) delle due diete sperimentali (HP e LP).

	HP	LP
UFL ¹	0,93	0,93
PG	160	123
PDIN ¹	114	88
PDIE ¹	110	96
aNDFom	396	396
NFC	325	366
Foraggi:Concentrati	55:45	55:45

¹Valori stimati in base a Baumont et al. (2007).

la crescita microbica (PDIN) sono stati valutati secondo Baumont et al. (2007). Il bilancio proteico è stato stimato come segue: (PDIN-PDI)/PDI*100.

Risultati e considerazioni - I risultati ottenuti (tab.3), mostrano come la dieta non abbia influenzato la produzione latte. Si sono mantenute invariate anche le caratteristiche compositive del latte, fatta eccezione per il contenuto di urea, risultato più elevato nella dieta HP (51,2 vs 36,6 mg/dl), come conseguenza di un bilancio delle PDIN fortemente eccedentario rispetto ai fabbisogni (+47,8 vs +8,8%, per HP e LP, rispettivamente). La dieta HP ha determinato una peggiore efficienza di uti-

Tab. 3. Produzione quanti-qualitativa di latte in funzione delle due diete sperimentali (HP e LP).

		HP	LP	E.S.	P value
Latte	kg/d	3,32	3,42	0,07	0,385
FPCM ¹	kg/d	3,08	3,24	0,08	0,172
Grasso	g/100 g	3,21	3,27	0,03	0,238
Proteina	g/100 g	3,31	3,27	0,02	0,136
Lattosio	g/100 g	4,59	4,60	0,01	0,754
Urea	mg/dL	51,2	36,6	0,65	<0,001
LS ²		4,41	4,21	0,13	0,281

¹FPCM: latte corretto al 3,5% in grasso, al 3,1% in proteina vera, in base alle indicazioni del sistema francese INRA; ²Linear Score (LS=log₂ Cellule somatiche/12500).

lizzazione dell'azoto alimentare (N latte/N ingerito): 28,0 vs 37,2%, per HP e LP, rispettivamente. Si è stimato, secondo quanto proposto da Rapetti et al. (2014), come la diminuzione dell'apporto proteico nella dieta, abbia ridotto l'escrezione azotata urinaria del 28% e il costo della dieta del 10% circa.

Effect of substitution of soybean meal by maize meal on milk production in dairy goats

Key words - dietary protein, goat milk, milk urea.

Bibliografia

- Baumont R., Dulphy J.-P., Sauvant D., Meschy F., Aufrere J., Peyraud J.-L. (2007), Valeur ali mentaire des fourrages et des matieres premieres: tables et prevision. In: Alimentation des bovins, ovins et caprins. Editions Quae, Versailles: 149–179.
- Rapetti L., Bruni G., Zanatta G., Colombini S. (2009), The milk urea content in dairy goats farms in Lombardy. Ital. J. Anim. Sci. 8 (Suppl. 2): 356.
- Rapetti L., Colombini S., Galassi G., Crovetto G. M., Malagutti L. (2014), Relationship between milk urea level, protein feeding and urinary nitrogen excretion in high producing dairy goats. Small Rum. Res. 121: 96–100.
- Sauvant D., Giger-Reverdin S., Meschy F. (2007), Alimentation des caprins. In: Alimentation des bovins, ovins et caprins. Editions Quae, Versailles: 137–148.

La predazione da lupo nel grossetano: analisi dei dati dell'ultimo decennio

RUSSO C, SCAMPUDDU N, GIULIOTTI L, BENVENUTI N, CECCHI F

Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università di Pisa

Parole chiave: lupo, ovini, predazione, grosseto

Introduzione - La presenza del lupo è sempre più elevata in Italia ed in Toscana in quanto questo animale è specie protetta dalla convenzione di Berna che non ne consente una gestione sostenibile. Pertanto, la predazione da lupo, che è sempre stata un grande problema per le aziende ovi-caprine di tipo estensivo, è in ulteriore aumento e causa perdite economiche notevoli agli allevatori che talvolta, proprio per questo motivo, cessano la loro attività. In passato, sono state condotte indagini nelle province di Pisa, Savona e Lucca^{1,2,3} per valutare i danni causati dai lupi agli allevatori; nel presente studio l'attenzione è stata rivolta alla provincia di Grosseto dove le lamentele e le proteste degli allevatori sono particolarmente forti. In questa provincia il lupo causa circa il 56% della mortalità ed oltre la metà degli allevatori intervistati ha dichiarato che il lupo in quest'area rappresenta una vera emergenza. Nel presente lavoro si riportano i risultati relativi alle caratteristiche ed alla distribuzione temporale dell'evento predatorio, al tipo di management aziendale ed ai metodi di prevenzione utilizzati.

Materiali e metodi - L'indagine è stata svolta grazie alla collaborazione dell'Associazione Provinciale Allevatori di Grosseto che ha messo a disposizione l'elenco delle aziende ovi-caprine iscritte. Tutte le aziende sono state contattate telefonicamente ma solo sedici si sono rese disponibili a ricevere una visita ed a rispondere ad un apposito questionario suddiviso in più parti e volto a: conoscere le caratteristiche aziendali, le tecniche di protezione eventualmente utilizzate ed avere notizie più precise possibile riguardo ai fenomeni di predazione avvenuti, al grado di conoscenza della normativa vigente in materia ed alle proposte degli allevatori per risolvere o mitigare questa problematica. I risultati ottenuti sono stati sottoposti ad elaborazione statistica utilizzando il software SAS-JMP⁴.

Risultati e considerazioni - In provincia di Grosseto, le aziende che hanno risposto ai questionari sono di dimensione medio/grandi con una media di 65 ha disponibili per gli animali ed un numero di capi che oscilla da 103 a 2575. Le razze allevate sono la Sarda, la Massese e l'Appenninica; solo sette aziende hanno esclusivamente ovini, due aziende allevano anche capre, tre anche vacche e quattro anche cavalli. Tutte le aziende sono a conduzione familiare, con numero di addetti variabile da uno a cinque. Il 68,8% dei pastori ha la propria abitazione all'interno dell'azienda ed il controllo

degli animali è giornaliero. Solo il 4% delle aziende visitate ha recinzioni utilizzate per la protezione del pascolo con un'altezza consona (180-220 cm), interrate, ma formate da rete elettrosaldata che non è mai ideale in quanto, essendo rigida, può causare traumi agli animali. Tutte le aziende hanno invece ricoveri chiusi che utilizzano per il riposo notturno e, talvolta (69%) anche di giorno in caso di maltempo e per la mungitura (56%). Il materiale e le modalità di costruzione dei ricoveri è estremamente variabile. Undici aziende su sedici possiedono cani da difesa o da raduno con una numerosità adeguata a quanto riscontrato in bibliografia. I cani da difesa appartengono alle tipiche razze adatte per questo scopo: Pastore Maremmano, del Caucaso e dei Pirenei. L'utilizzo dei cani da raduno è invece piuttosto atipico: sono infatti presenti i Border Collie, che in realtà vengono usati come cani da compagnia, e i Pastori Maremmani, che sarebbero cani da guardiania e quindi non sono adatti come cani da raduno. La gestione dei cani sarebbe quindi da rivedere per avere risultati migliori: a tale proposito, infatti, gli allevatori hanno dichiarato che spesso i cani non sono utili alla prevenzione del lupo e addirittura scappano al suo ar-



Fig. 1 - Capi predati il giorno prima della visita aziendale

rivo, mostrando invece aggressività nei confronti di persone e cani estranei. Tutti gli allevatori sono a conoscenza della presenza del lupo: tredici li hanno visti, due li hanno trovati investiti ed uno ha rinvenuto le tracce (impronte, resti di predati e pelo); pertanto, per tutti gli allevatori intervistati, il lupo è un problema per lo svolgimento delle normali attività e considerano che il principale provvedimento da attuare sarebbe quello di abbattere i lupi (62,5%), il 44% vorrebbe rivedere la normativa, mentre la restante percentuale consiglierebbe di traslocare il lupo in altre zone. Nessun allevatore ha provveduto ad assicurarsi contro i danni da predazione. Nei mesi precedenti all'intervista sono state attaccate dal lupo sette aziende; una di queste ha avuto 14 capi morti in due attacchi (non è stato registrato surplus killing) mentre le altre hanno perso al massimo 1-2 capi. Ovviamente quasi tutti i predati sono femmine o agnelli e solo in un caso è stato ucciso un maschio. Purtroppo, oltre ai capi abbattuti, gli allevatori lamentano casi di aborto e calo nella produzione latte dovuti alla paura ed allo stress; riguardo questi dati, tuttavia, non vi è alcuna conferma ufficiale, che sarebbe estremamente interessante andare a verificare. Come già osservato in altre province³ il 66,6% degli attacchi è avvenuto durante la mattinata o nel primo pomeriggio, durante la notte, infatti, i capi sono chiusi nei ricoveri ed il lupo ha di conseguenza modificato le sue attitudini

predatorie. Alla luce della presente indagine e di quelle effettuate negli anni precedenti^{1,2,3} è possibile affermare che il lupo è ormai ampiamente distribuito in Toscana e sarebbe opportuno che la Regione o gli Enti preposti incoraggiassero e supportassero economicamente le aziende ad adottare le misure preventive più adeguate alla situazione che varia per ogni azienda e che quindi dovrebbe essere "personalizzata" e non generica.

Wolf predation in Grosseto province in the last decade

Key-words: wolf, ovine, predation, Grosseto province.

Bibliografia

- Mattiello S, Bresciani T, Gaggero S, Russo C, Mazzaroni V. (2012). Sheep predation: Characteristics and risk factors. *Small Ruminant Research*, 105: 315-320.
- Russo C, Gaggero S, Piccone I, Mattiello S. (2013). La predazione negli allevamenti ovi-caprini dell'entroterra savonese. *I Quaderni ZooBioDi*, 8: 292-304
- Russo C, Mattiello S, Bibbiani C, Baglini A, Bongi P, Facchini C. (2014). Impact of wolf (*Canis lupus*) on animal husbandry in an Apennine province. *Italian Journal of Animal Science*, 13: 521-527.
- SAS, JMP (2002). User's guide, ver. 5.0 SAS Inst. Cary, NC, U.S.A.

Lavoro eseguito con finanziamento dell'Università di Pisa (Fondi Ateneo).

Gestione dell'asciutta negli allevamenti caprini: studio su 5 stalle del Piemonte

SANGRALI M, MIDULLA L, PRIN ABEIL M, BERETTA M, BARAZZUOL F, SARALE A

Laboratorio Agrilab s.r.l. (CN)

Parole chiave - latte, asciutta, caprini

Introduzione - Le aziende caprine da latte in Piemonte hanno subito una rapida crescita negli ultimi anni, ciò è stato accompagnato parallelamente da un aumento dell'attenzione verso il benessere e la sanità degli animali. Mentre in precedenza alla messa in asciutta non veniva eseguito alcun esame batteriologico del latte e di conseguenza nessun trattamento antibiotico per trattare le mastiti subcliniche, ad oggi ci sono due predominanti correnti di pensiero: coloro che continuano a mettere in asciutta i capi senza antibiotico, e quelli che effettuano la somministrazione delle fiale di asciutta a tutte le emimammelle, in entrambi i casi senza l'ausilio dell'esame batteriologico. Poichè in Piemonte nelle aziende bovine da latte è sempre più frequente un approccio selettivo dei trattamenti antibiotici sia in lattazione che in asciutta con ottimi risultati, è stato proposto ad alcuni allevatori di capre più sensibili all'argomento dell'antibiotico-resistenza di iniziare a effettuare trattamenti selettivi in asciutta anche nelle capre. L'asciutta selettiva consiste nel riservare il trattamento antibiotico solamente alle capre con batteriologia positiva al momento della messa in asciutta, ed asciugare senza alcun trattamento le capre senza infezioni mammarie.

Materiali e metodi - sono state coinvolte 5 aziende, per un totale di 156 capre analizzate, monitorate dal periodo precedente all'asciutta fino al primo/secondo mese post-parto attraverso un esame batteriologico. Le aziende risultavano eterogenee per numero di capi, gestione, struttura, razza, produzioni, presenza di patogeni contagiosi e CCS del campione di massa. In base ai risultati dell'esame batteriologico del pre-asciutta, per ciascuna emimammella è stata optata una somministrazione con antibiotico a fine lattazione o in asciutta a seconda del patogeno individuato, oppure senza l'utilizzo di alcun trattamento, se negative alla batteriologia. Le stesse emimammelle sono state ricampionate da uno a due mesi dopo il parto ed analizzate per la batteriologia.

Risultati e considerazioni - Sono stati analizzati i campioni di latte di 156 capre provenienti da 5 stalle del Piemonte, per un totale di 312 emimammelle. Delle 312 emimammelle analizzate, 87 (27,9%) erano positive all'esame batteriologico alla messa in asciutta mentre 225 erano negative (72,10%).

L'80,5% dei campioni positivi ha evidenziato la presenza di Stafilococchi coagulasi negativi (CNS) mentre la restante percentuale era composta da *Corynebacte-*

rium spp. (10,4%), *Streptococcus spp.* (2,3%), *Bacillus spp.* (2,3%), Stafilococchi coagulasi positivi (2,3%), *Escherichia coli* (1,1%) e *Serratia spp.* (1,1%).

Delle 87 emimammelle positive 3 sono state curate in lattazione con cefquinome, mentre le restanti 84 sono state trattate in asciutta con cefazolina, entrambi somministrati per via intramammaria. Nessun trattamento è stato effettuato per via sistemica.

Dopo 1-2 mesi dal parto sono stati nuovamente prelevati i campioni delle emimammelle:

- Gruppo trattate: 75/87 (86,2%) hanno riscontrato esito batteriologico negativo e quindi guarigione, mentre 12/87 (13,8%) sono risultate infette (Fig.1).
- Gruppo non trattate: 208/225 (92,4%) hanno confermato esito batteriologico negativo, mentre 17/225 (7,6%) sono risultate positive all'esame batteriologico, perciò nuove infezioni (Fig.1).

Sulla base dei risultati da noi ottenuti possiamo concludere che:

- Lo studio si dimostra in linea con la letteratura per quanto riguarda le percentuali di emimammelle positive all'esame microbiologico all'asciutta (20-30%), e per quanto riguarda la prevalenza dei batteri isolati (predominanza di CNS);
- La percentuale di animali non trattati in asciutta con batteriologia negativa al parto e di guariti è significativamente più alta delle recidive e delle nuove infezioni. Inoltre avendo prelevato i campioni dopo 1-2 mesi dal parto, non è chiaro se le infezioni rinvenute siano effettivamente recidive o nuove infezioni;
- Se fossero stati seguiti gli approcci classici di messa in asciutta, coloro che utilizzano l'antibiotico in modo sistematico avrebbero trattato inutilmente il 72% degli animali, mentre coloro che non utilizzano nessun tipo di antibiotico avrebbero trascurato il 27,9% di infezioni subcliniche nelle mammelle, con conse-

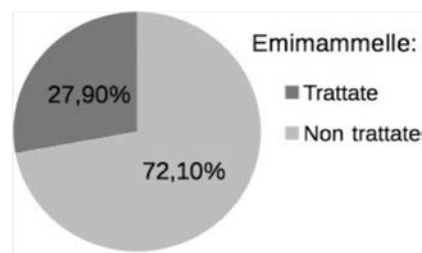


Fig. 1 - Percentuale di emimammelle trattate e non trattate prima dell'asciutta sulla base dell'esame batteriologico.

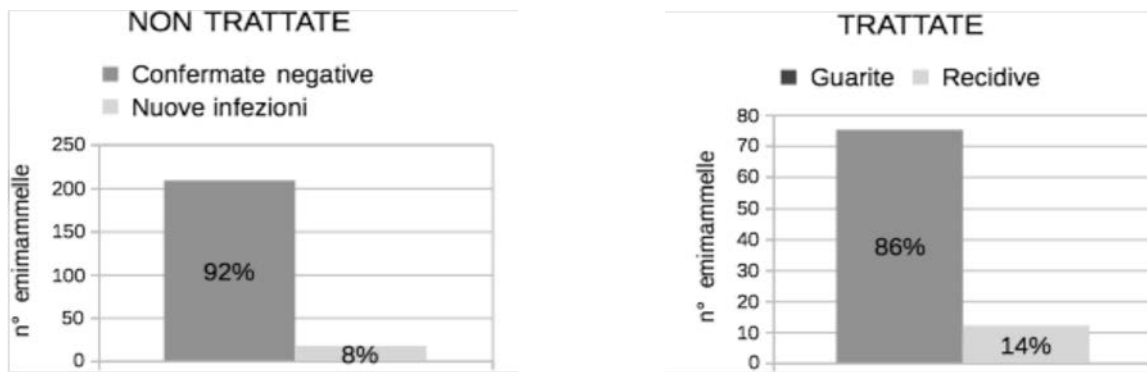


Fig. 2 - Numero di emimammelle trattate e non trattate con fiala di antibiotico da asciutta che sono guarite, recidivate, confermate negative o nuove infezioni sulla base dell'esame batteriologico effettuato dopo il parto.

Allevamenti	n° animali analizzati	emimammelle analizzate	n° emimammelle			
			Infette all'asciutta	Non trattate	Trattate	
					In lattazione	In asciutta
1	22	44	14	30	1	13
2	59	118	10	108		10
3	33	66	34	32	2	32
4	19	38	18	20		18
5	23	48	11	35		11

Tab. 1 - Allevamenti analizzati, numero di capi, emimammelle analizzate ed eventuale trattamento antibiotico effettuato.

guente calo della produzione latte, progressivo peggioramento dell'infezione sub clinica con maggiori probabilità di perdita dell'emimammella interessata e mastiti cliniche.

In conclusione il controllo dell'asciutta nella specie caprina si dimostra in questo studio una soluzione ottimale per combattere le infezioni subcliniche ed evitare l'utilizzo irrazionale ed inutile degli antibiotici in asciutta.

Dry period management: a trial in 5 goat farms in Piedmont

Key words - goat, milk, dry, period

Bibliografia

- Bacterial subclinical mastitis and its effect on milk yield in low- input dairy goat herds
Gelasakis A.I. et. al. 2018
- Prevalence and incidence of intramammary infections in lactating dairy goats
McDougall S. et all. 2014

Rivalutazione dell'efficacia di una formulazione orale a base di Fenbendazolo nei confronti dei Nematodi Gastrointestinali degli ovini in Sardegna

SCALA A^{1,2}, TAMPONI C¹, PIPIA AP¹, ANTENUCCI P³, MUNTONI S³, DESSÌ G¹, CARTA S¹, SEDDA GP¹, VARCASIA A^{1,2}

¹Parassitologia e Malattie Parassitarie, Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Sassari;

²Centro Interuniversitario di Ricerca in parassitologia (CIRPAR), Università degli Studi di Napoli "Federico II";

³MSD Animal Health, Italia

Parole chiave - ovini, fenbendazolo, nematodi gastrointestinali, Sardegna

Introduzione - I nematodi gastrointestinali (NGI) a causa della loro universale diffusione nell'ambito degli allevamenti ovini determinano notevoli problemi di salute che minano la quantità/qualità delle loro produzioni con ovvie e importanti ripercussioni zootecniche. Il fenbendazolo (FBZ) è un benzimidazolico ancora registrato e usato in Italia per il controllo profilattico-terapeutico dei NGI degli ovini.

Lo scopo di questo lavoro è quello di aggiornare i dati dell'efficacia del FBZ per valutare sul campo l'utilità di un suo impiego, ancora oggi, in programmi nazionali di rotazione delle classi dei farmaci ai fini della prevenzione della resistenza antielmintica (AR) in particolare in Sardegna, regione in cui vengono allevati oltre 3 milioni di ovini.

Materiali e metodi - La valutazione del livello di efficacia negli ovini dei FBZ (PANACUR 2,5%*OS-MSD ANIMAL HEALTH Srl) nei confronti dell'infestazione naturale dei NGI è stata attuata nell'ottobre del 2017 presso un'azienda nel comune di Ploaghe (SS). Per il trial sono stati selezionati un totale di 64 ovini, a fine gravidanza e di età variabile tra i 3 e i 6 anni, suddivisi in due gruppi di 42 (gruppo T) e 22 soggetti (gruppo C) in cui era stata rilevata la presenza di uova di NGI nel settembre 2017. Il gruppo T è stato trattato al giorno 0 (G0) per via orale con FBZ alla dose di 5 mg/Kg p.v. mentre il gruppo C non è stato trattato ed è stato considerato come gruppo controllo. Su tutti i soggetti a G0, G14, G21 e G28 sono stati effettuati prelievi individuali di feci che sono stati successivamente analizzati mediante McMaster secondo Raynaud (1970). A G0 e G14 sono state allestite coprocolture per l'isolamento e la classificazione delle larve L3. I dati ottenuti sono stati implementati su un foglio elettronico ed elaborati mediante i software Minitab (Minitab Inc. USA) ed Epi Info (CDC, USA). La valutazione dell'efficacia del trattamento è stata verificata attraverso la riduzione della conta delle uova nelle feci (Faecal egg count reduction - FECR) a G14, ottenuta con due diverse formule: $FECR1 = 100 * (\text{media aritmetica UPG Gruppo T G0} - \text{media aritmetica UPG Gruppo T GX}) / \text{media aritmetica UPG Gruppo T G0}$; $FECR2 = 100 * (1 - \text{media$

aritmetica UPG Gruppo T GX - media aritmetica UPG Gruppo C GX). Valori di FECR inferiori al 95% e limiti di confidenza del 95% inferiori al 90% sono stati considerati come indice di presenza di fenomeni di AR; se solo uno di questi due criteri era presente l'AR veniva sospettata (Coles et al., 1992).

Risultati e considerazioni - I livelli di efficacia ottenuti con il trattamento con FBZ sono risultati superiori al 95% durante a G14 con entrambe le formule utilizzate (Tab 1).

I limiti di confidenza del 95% superiore ed inferiore calcolati sulle medie di UPG dei soggetti dei gruppi T e C a G14 sono risultati rispettivamente pari al 99,97% e 99,89%.

I tassi di prevalenza rilevati nei due gruppi esaminati (Gruppo T e C) per le uova di NGI sono risultati significativamente inferiori a partire dal G14 sino alla fine della prova nel Gruppo T rispetto al Gruppo C (Tab. 2).

Tab. 1 - Livelli di efficacia (%) del trattamento.

FORMULA	G14	G21	G28
Efficacia FECR 1	96,54%	96,72%	97,91%
Efficacia FECR 2	95,04%	92,03%	93,78%

Tab. 2 - Tassi di prevalenza rilevati durante tutto il monitoraggio per gli SGI nei due gruppi ovini e confronto dei livelli di significatività delle differenze rilevate nello stesso giorno tra i due gruppi.

GRUPPO	G0	G14	G21	G28
C	100% (22/22)	100% (22/22)	100% (22/22)	95,5% (21/22)
T	100% (42/42)	31% (13/42)	34,2% (13/38)	44,7% (17/38)
P value	/	P< 0,000	P< 0,000	P< 0,000

I risultati delle coprocolture hanno evidenziato come a G14 nel Gruppo T si riscontrino delle larve L3 riportabili al morfotipo *Trichostrongylus/Teladorsagia*, segno evidente che tali generi potrebbero rappresentare un limite all'azione antielmintica del FBZ.

Alla luce dei risultati ottenuti possiamo affermare che ancora oggi in Sardegna il FBZ possa essere usato nell'ambito dei programmi di controllo dei NGI degli ovini che prevedano una rotazione razionale delle molecole utilizzate. Il mancato riscontro in Sardegna di fenomeni di AR vera e propria per il FBZ nei confronti dei NGI degli ovini, conferma quanto riportato precedentemente nell'Isola da Scala et al. (2006). Tali cause possono essere le stesse richiamate da Rinaldi et al. (2014) per giustificare l'assenza del fenomeno anche negli allevamenti ovini del Sud Italia, cioè legate al clima mediterraneo. Ciò consentirebbe la sopravvivenza per tutto l'anno della popolazione di "refugia" dei nematodi che insieme all'uso non frequente dei trattamenti antielmintici e la limitata movimentazione degli animali non favorirebbe l'AR.

Evaluation of the efficacy of an oral formulation of fenbendazole against gastrointestinal nematodes of sheep in sardinia

Key words - sheep, fenbendazole, gastrointestinal nematodes, Sardinia

Bibliografia

Coles GC, Bauer C, Borgsteede FHM, Geerts S, Klei TR, Waller PJ. (1992), World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet Parasitol* 44 (1-2): 34-44.

Raynaud JP (1970) Etude de l'efficacite d'une technique de coproscopie quantitative pour le diagnostic de routine et le controle des infestations parasitaires des bovins, ovins, equins et porcins. *Annales de Parasitologie* 45; 321-342,

Rinaldi L, Morgan ER, Bosco A, Coles GC, Cringoli G. (2014), The maintenance of anthelmintic efficacy in sheep in a Mediterranean climate. *Vet Parasitol* 203; 139-143.

Scala A, et al. (2006), Evaluation of the efficacy of anthelmintic treatments against sheep gastro-intestinal nematodes in Sardinia. *Parassitologia* 48;199.

Endoparassitosi negli ovini in Sardegna: risultati dell'attività diagnostica copromicroscopica svolta nel biennio 2016-2017

SCALA A^{1,2}, TAMPONI C¹, PIPIA AP¹, MUNTONI S³, DESSÌ G¹, CARTA S¹, SEDDA GP¹, EPIFANI GP⁴, LAI MG⁵, TILOCCA L⁵, ANTENUCCI P³, VARCASIA V^{1,2}

¹Parassitologia e Malattie Parassitarie, Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Sassari;

²Centro Interuniversitario di Ricerca in parassitologia (CIRPAR), Università degli Studi di Napoli "Federico II";

³MSD Animal Health, Italia; ⁴AGRIS Sardegna, Bonassai (SS); ⁵Medico Veterinario, Libero Professionista

Parole chiave - endoparassiti, ovini, Sardegna, Flotac

Introduzione - La presente nota nasce in Sardegna nell'ambito di una collaborazione tra il settore di Parassitologia e Malattie Parassitarie del Dipartimento di Medicina Veterinaria di Sassari e la MSD Italia, che hanno stipulato una convenzione allo scopo di fornire un servizio di diagnostica parassitologica agli allevatori di ovini di razza sarda.

Materiali e metodi - L'indagine ha coinvolto aziende situate in tutte le quattro province del territorio sardo. In fase di campionamento venivano prelevati n. 5 campioni individuali, specificandone la categoria zootecnica di provenienza (pecore adulte >3 anni e/o rimonte). Sono stati analizzati un totale di 431 pools di feci (289 di pecore adulte e 142 di rimonte) provenienti da 320 diverse aziende. In Laboratorio, dai 5 campioni prelevati per ciascuna categoria di animali, veniva allestito un pool. I pools di feci così costituiti venivano poi analizzati attraverso la metodica FLOTAC® (Cringoli et al., 2012), utilizzando una soluzione flottante di Solfato di Zinco (ZnSO₄) con un peso specifico di 1350. Sono stati inoltre elaborati i dati relativi alle molecole utiliz-

zate in 344 trattamenti antiparassitari attuati nelle aziende monitorate.

I risultati ottenuti sono stati poi riportati su foglio di calcolo Excel ed elaborati mediante l'utilizzo dei software EpiInfo 6.0 e Minitab 16.

Risultati e considerazioni - I generi e/o gruppi parassitari maggiormente riscontrati nei campioni esaminati sono stati i Nematodi Gastro-Intestinali (NGI: 93,3%) seguiti dai Coccidi (88,4%), *Moniezia* spp. (57,1%) e i Nematodi Bronco-Polmonari (NBP: 35,03%).

Nella Tabella 1 sono riportati nel dettaglio i tassi di Prevalenza per ciascuna parassitosi riscontrati nelle due categorie di animali (adulti e rimonte) esaminate, nonché i risultati dell'elaborazione statistica degli stessi.

Gli endoparassiti di maggior riscontro negli animali adulti sono: Strongili Gastro-Intestinali (SGI: 93,4%), *Eimeria* spp. (85,5%), *Moniezia* spp. (55,0%) e NBP (45,0%). Negli animali giovani, gli endoparassiti di maggior riscontro sono i Coccidi (94,4%), seguiti dagli SGI (87,3%), *Moniezia* spp. (61,3%), *Trichuris*

Tab. 1 - Valori di Prevalenza (%) riscontrate nelle due categorie di animali esaminate, confronto statistico tramite test del chi-quadro e valori di Odds Ratio.

Generi e/o gruppi parassitari	Adulte %	Rimonte %	P-value	Odds Ratio
SGI	93,4	87,3	0,0335	2.06
NGI*	93,8	92,3	0,5543	1.26
NBP	45,0	14,8	< 0,0001	4.71
<i>Nematodirus</i> spp.	26,3	48,6	< 0,0001	2.65
<i>Trichuris</i> spp.	23,5	59,2	< 0,0001	4.71
<i>Eimeria</i> spp.	85,5	94,4	0,0066	2.85
<i>Fasciola hepatica</i>	1,0	0,0	0,5471**	indefin
<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	31,5	10,6	< 0,0001	3.89
Paramphistomidi	8,3	4,2	0,1177	2.05
<i>Moniezia</i> spp.	55,0	61,3	0,2178	1.29

*NGI: SGI + *Nematodirus* spp. + *Trichuris* spp.; **Yates corretto

spp. (59,2%) e *Nematodirus* spp. (48,6%).

Tra i trematodi, quello maggiormente rinvenuto in Sardegna è *Dicrocoelium dendriticum*, sia negli animali adulti (31,5%), sia nei giovani (10,6%).

Tali differenze sono state confermate dall'analisi statistica dei dati effettuata tramite il Test del *chi*-quadro, che ha mostrato come NBP e *Dicrocoelium dendriticum* risultano statisticamente prevalenti negli ovis adulti ($P < 0,05$), mentre *Trichuris* spp., *Eimeria* spp. e *Nematodirus* spp. risultano più frequenti negli animali giovani ($P < 0,05$).

Per quanto riguarda le medie di UPG per gli SGI queste sono risultate significativamente superiori negli ovis adulti (377 UPG) rispetto alle rimonte (272 UPG) (test dei Mann-Whitney - $P = 0,022$) così come anche per le medie di UPG per *D. dendriticum* (16 vs 6 UPG - $P < 0,0008$) e i livelli di medi di LPG per i NBP (25 vs 4 LPG - $P = 0,0001$); una situazione inversa si rilevava invece per *Nematodirus* spp. e *Trichuris* spp., i cui valori medi di UPG significativamente più elevati si riscontrano invece nelle rimonte (4 vs 18 UPG per *Nematodirus* spp. - $P < 0,0001$ e 6 vs 34 UPG per *Trichuris* spp. - $P < 0,0001$).

L'esame delle UPG per NGI ha evidenziato come il 32,4% dei campioni esaminati abbia valori > 300 , ritenuti indicatori di infestione sensibile/marcata e quindi meritevole intervento terapeutico.

I tassi di Prevalenza per ciascuna endoparassitosi considerata sono stati inoltre stratificati in base alla sta-

gione dell'anno in cui è avvenuta l'analisi e sottoposti ad analisi statistica tramite il test del *chi*-quadro Trend, che tuttavia non ha evidenziato alcuna differenza significativa ($P > 0,05$).

Per quanto riguarda invece il confronto delle medie di UPG rilevate nelle varie stagioni per ciascun gruppo parassitario, attraverso il Test di Kruskal-Wallis, sono state registrate delle differenze significative ($P < 0,05$) esclusivamente per NGI (con medie di UPG più elevate in estate), NBP (autunno) e *Dicrocoelium dendriticum* (inverno).

I risultati ottenuti confermano alcuni parametri epidemiologici propri delle parassitosi monitorate (es. maggior coinvolgimento delle rimonte nei confronti di *Eimeria* spp., *Nematodirus* spp., *Trichuris* spp., e delle adulte per i NBP e *D. dendriticum*) ed evidenziano l'importante ruolo negativo interferente sulle produzioni esercitato soprattutto dai NGI in almeno il 30% delle aziende monitorate (livelli di UPG > 300).

Per ciò che concerne le molecole antiparassitarie utilizzate sono risultate: avermectine (35,8); benzimidazolici (31,4%), probenzimidazolici (18,9%); milbemicine (8,1%); praziquantel (3,2%); imidazoziazolici (2%); clorsulon (0,3%); closantel (0,3%).

Bibliografia

Cringoli G., Rinaldi L., Maurelli M.P., Utzinger J. (2010), Nat Protoc., 5(3):503-15.

Azioni di sostegno al reddito delle aziende che utilizzano i pascoli naturali appenninici, in vista del decremento del valore pastorale legato alla crescente aridità estiva

SCOCCO P¹, MERCATI F², DALL'AGLIO C², RIVAROLI S³, MALFATTI A¹, TRABALZA MARINUCCI M², DE FELICE E¹, CANAVARI M³

¹Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Camerino; ²Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia; ³Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-alimentari, Alma Mater Studiorum-Università di Bologna

Parole chiave: pecora, cheratinizzazione del rumine, aridità estiva, analisi economica

Introduzione - I sistemi pastorali sono sempre più sottoposti ad uno stress idrico dovuto alla crescente aridità estiva legata ai cambiamenti climatici. Il momento di massima fioritura del pascolo tende ad essere anticipato, ed il periodo che intercorre tra la massima fioritura e la massima secchezza del pascolo a ridursi. Il progetto CLIMAPP (FAR-UNICAM, P.I. Prof. Andrea Catorci) è focalizzato sulla valutazione degli effetti dello stress idrico estivo, sia sulle praterie che sugli animali pascolanti, e sulla ricerca di azioni facilmente adottabili dagli allevatori per migliorare le loro produzioni in vista dei cambiamenti climatici. In questo studio sono stati valutati gli effetti di una integrazione alimentare su un gruppo di pecore tenute in alpeggio a 1200m nell'appennino centrale, rispetto ad un gruppo di controllo alimentato solo al pascolo. Sono stati analizzati il grado di cheratinizzazione del rumine, il Body Condition Score (BCS), la produzione di latte, la composizione chimica di latte e formaggio derivato, e sono state svolte analisi di mercato e valutazioni economiche.

Materiali e metodi - L'indagine è stata eseguita su un gruppo di 55 pecore femmine adulte, 40 in lattazione (L) e 15 in asciutta (A), razza Comisana x Appenninica, tenute al pascolo e alimentate con foraggio fresco da giugno fino al periodo di massima fioritura (7 luglio 2016; gruppo MxF). Da questo periodo fino a quello di massima secchezza (9 agosto 2016), le pecore sono state divise in due gruppi omogenei per BCS e produzione di latte: il gruppo di controllo (Cnt, 20L, 5A) si è alimentato solo al pascolo, il gruppo sperimentale (Exp 20L, 5A) ha ricevuto anche un supplemento di 600 gr/die/capo di orzo e mais (1:1). Da 5 soggetti in asciutta per ciascun gruppo (MxF, Cnt, Exp) sono stati prelevati campioni di sacco ventrale dal rumine, che sono stati processati per calcolare il grado di cheratinizzazione dell'epitelio ruminale (Scocco et al., 2013; 2018). Durante la sperimentazione è stato monitorato il BCS di tutti gli animali. Da 10/20 soggetti per gruppo (Cnt ed Exp) è stato dosato ed analizzato il latte prodotto ad inizio, metà e fine sperimentazione. Il latte prodotto dal gruppo MxF al 7 luglio e dai gruppi Cnt

ed Exp al 9 agosto è stato caseificato ed i formaggi pecorini ottenuti sono stati analizzati (AOAC, 2000; Favaro et al., 2003; Ichiara et al., 1996). Dopo la stagionatura di 1 mese, i formaggi sono stati sottoposti all'analisi sensoriale presso il Centro Italiano Analisi Sensoriale di Matelica; sono stati inoltre utilizzati per condurre un consumer test combinato con asta sperimentale e scelta ipotetica per verificare la disponibilità a spendere dei consumatori. È stata infine applicata l'analisi costi/benefici (CBA) per stimare l'impatto economico dell'integrazione alimentare, attraverso la definizione del punto di pareggio (BEP) espresso in litri di latte prodotto da 10 pecore sia per il gruppo Cnt che per Exp. Per valutare le differenze tra le percentuali di cheratina nel rumine dei tre gruppi MxF, Exp, Cnt (5 animali ciascuno), è stato applicato il t-test per campioni indipendenti. La differenza tra le medie del BCS tra i gruppi Exp e Cnt (10 animali per gruppo) è stata testata in ogni tempo di osservazione usando il t-test per campioni indipendenti. La differenza tra le mediane della produzione di latte dei gruppi Exp e Cnt (stessi animali del BCS) è stata testata usando il test di Wilcoxon della somma dei ranghi per campioni indipendenti (Scocco et al., 2018). Per analizzare i dati relativi a composizione chimica di latte e formaggio è stata applicata l'ANOVA ($P < 0.05$ o 0.01).

Risultati e considerazioni - Nel periodo compreso tra il momento di massima fioritura e di massima secchezza del pascolo si assiste ad un incremento del grado di cheratinizzazione dell'epitelio ruminale e ad una progressiva riduzione della produzione media giornaliera del latte. L'integrazione alimentare consente tuttavia di diminuire l'intensità di tali modificazioni, mentre non ha mostrato effetti sul BCS. Il gruppo Exp ha mostrato un grado di cheratinizzazione significativamente inferiore a quello del gruppo Cnt. Significativamente superiore è stata la produzione di latte del gruppo Exp rispetto al gruppo Cnt; inoltre, anche la composizione chimica, sia del latte che del formaggio ottenuto, è risultata differente tra i due gruppi. In particolare, il gruppo Exp mostra un contenuto significativamente superiore di acidi grassi poliinsaturi (acido linolenico 3) nel latte, e di vi-

tamine A ed E sia nel latte che nel formaggio, rispetto a Cnt. Il Sensory test sui formaggi ha evidenziato differenze nelle caratteristiche organolettiche tra i 3 formaggi (Mxf>Exp>Cnt), che sono state in parte riconosciute anche al Consumer test (MxF=Exp>Cnt). L'asta sperimentale e l'esperimento di scelta ipotetica effettuati rispettivamente sui formaggi MxF ed Exp, hanno evidenziato una disponibilità a pagare dei consumatori pari ad un incremento del 35% per il formaggio MxF e 47% per il formaggio Exp rispetto al prezzo di mercato del formaggio base (Cnt). L'analisi approfondita dei risultati dell'asta sperimentale ha dimostrato che il produttore potrebbe rendere massimo l'incasso atteso con un prezzo leggermente maggiorato (di circa il 5%) rispetto a quello di mercato per il formaggio MxF. L'analisi CBA ha evidenziato che l'integrazione alimentare, oltre a determinare un miglioramento sia quantitativo che qualitativo delle produzioni, è in grado di preservare la sostenibilità economica degli allevamenti ovini in pascoli naturali appenninici, contribuendo a scongiurare l'abbandono di questi territori (Scocco et al, 2018).

Actions of economic support to the farms using the apennine natural pastures, in sight of the pastoral value decrease due to the increasing summer aridity

Key words: sheep, rumen keratinization, summer aridity, economic analysis.

Bibliografia

- AOAC (2000). Official methods of analysis of AOAC International, (17th ed.), Gaithersburg, MD, USA: AOAC.
- Fávaro R M D, Iha M H, Bianchi, M L P (2003), Liquid chromatographic determination of geometrical retinol isomers and carotene in enteral feeding formulas. *Journal of Chromatography* 1021 (A), 125-132.
- Ichihara K, Shibahara A, Yamamoto K, Nakayama T (1996), An improved method for rapid analysis of the fatty acids of glycerolipids. *Lipids* 31, 535-539.
- Scocco P, Mercati F, Brusaferrò A, Ceccarelli P, Belardinelli C, Malfatti A (2013), Keratinization degree of rumen epithelium and body condition score in sheep grazing on *Brachipodium rupestre*. *Veterinaria Italiana* 49(2), 211-217.
- Scocco P, Rivaroli S, Mercati F, Tardella FM, Malfatti A, De Felice E, Catorci A (2018), Anatomy for economy: starting from the rumen keratinization degree to enhance the farm income. *Food Economy* 20(2), 00-00.

Studio dell'effetto dell'ambiente sul genoma delle pecore di razza sarda con un approccio di *landscape genomics*

SORBOLINI S¹, CESARANI A¹, GASPA G¹, USALA M¹, PEANA I², FOIS G², MACCIOTTA NPP¹

¹ Università di Sassari, Dipartimento di Agraria - Sassari - Italy; ² Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente della Sardegna, Italy

Parole chiave - genomica dell'adattamento, pecora sarda, firme della selezione

Introduzione - Durante il processo di evoluzione e successiva domesticazione i mammiferi si sono adattati ad una varietà di ambienti. L'eterogeneità ambientale in cui i mammiferi domestici si sono evoluti si riflette sulla variabilità genetica e sulla distribuzione spaziale dei fenotipi costituendo l'oggetto di indagine della *Landscape genomics*. La possibilità di analizzare contemporaneamente centinaia di migliaia di mutazioni puntiformi (SNP) consente di ricercare le tracce di tale adattamento nel genoma delle specie di interesse zootecnico (Oleksyk et al. 2010; Gardner 2011; Lv et al. 2014). Tra queste, le razze ovine del sud Europa rappresentano un modello interessante a causa del basso impatto della selezione artificiale e del sistema di allevamento prevalentemente estensivo. Un esempio di effetto climatico con ripercussioni negative sulle performance produttive e riproduttive è offerto dallo studio dello stress da caldo (Finocchiaro et al., 2005). L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di valutare l'effetto dell'ambiente climatico sul genoma della pecora Sarda.

Materiali e metodi - Un campione di 825 pecore di razza Sarda è stato genotipizzato con il chip 50K Illumina. In seguito al controllo di qualità sono stati selezionati 44619 SNP. Allo scopo di identificare possibili effetti dell'ambiente nell'evoluzione del genoma ovino, sono stati considerati due indicatori ambientali: temperatura ed altimetria. Nella prima analisi, gli animali sono stati divisi in due gruppi sulla base delle temperature massime registrate tra il 1995 ed il 2014 dalle stazioni meteo vicine agli allevamenti di origine: gruppo freddo ($T^{\circ}\text{max} < 21^{\circ}\text{C}$) e gruppo caldo ($T^{\circ}\text{max} > 21^{\circ}\text{C}$). In una seconda analisi gli animali sono stati divisi in tre gruppi in base all'altimetria dell'allevamento di provenienza: pianura (P, <200), collina (C, ≥ 200 and ≤ 500) e montagna (M, >500 m.s.l.m.). Allo scopo di indagare le differenze tra i gruppi di animali identificati in precedenza, per ciascuno SNP è stato calcolato l'indice di fissazione di Wright (F_{ST}). Al fine di eliminare possibili falsi positivi, ai valori di F_{ST} calcolati è stata applicata una tecnica di regressione locale pesata (LOWESS). Infine, i potenziali *outlier* sono stati identificati tra quelli i cui valori di F_{ST} eccedevano la soglia delle 3σ dalla media del cromosoma. Nelle regioni genomiche individuate dall'analisi (± 250 kb da ogni *outlier*) sono

stati ricercati i geni annotati utilizzando database online (Ensembl, Genome Browser).

Risultati e considerazioni - I valori di F_{ST} che eccedevano la soglia delle tre deviazioni standard sono stati 623 nel confronto tra animali appartenenti rispettivamente ai gruppi caldo e freddo. Tra i geni potenzialmente coinvolti nell'adattamento alle condizioni ambientali, sono stati identificati alcuni geni precedentemente associati allo stress da caldo nei ruminanti (Tabella 1). In particolare, il gene *Malate Dehydrogenase 1 (MDH1)* è stato identificato come il migliore gene di riferimento per studiare lo shock termico in campioni di sangue ovino tramite tecniche di qPCR (Serrano et al., 2011). Nel confronto basato sull'altimetria, 584, 575 e 573 *outliers* sono stati identificati rispettivamente nei confronti C vs M, C vs P e P vs M. Di questi marcatori, 18, 42 e 180 erano anche in comune con quelli identificati utilizzando la temperatura come discriminante. Tra i geni interessanti, il *PRKAA2* è stato precedentemente associato all'effetto del tipo di foraggio sul profilo acidico del latte ovino (Dervishi et al., 2011). Infine, in entrambe le analisi sono stati identificati numerosi geni legati al metabolismo lipidico e alla produzione quanti-qualitativa di latte.

Tab.1 - Geni già noti in letteratura per essere legati allo stress da caldo in ruminanti di interesse zootecnico e trovati anche in questo studio.

Cromosoma	Sigla	Posizione (bp)
1	<i>FCGRIA</i>	98,816,248-98,827,299
	<i>HIST2H2BE</i>	98,904,899-98,905,279
	<i>MRPL9</i>	100,597,183-100,603,664
2	<i>SERPINE2</i>	225,124,178-225,153,645
3	<i>MDH1</i>	44,557,106-44,580,716
4	<i>MYO1G</i>	76,680,028-76,696,345
15	<i>SORL1</i>	31,617,914-31,783,893
16	<i>HSPB3</i>	24,709,925-24,710,374
20	<i>RIPK1</i>	49,443,292-49,485,391
	<i>SERPINB9</i>	49,612,122-49,617,342
	<i>SERPINB1</i>	49,640,714-49,648,102

A genome-wide study of environmental conditions effect on sarda ewes genome evolution with landscape genomics approach

Key words - landscape genomics, sheep, selection signature

Bibliografia

Dervishi, E., Serrano, C., Joy, M., Serrano, M., Rodelar, C., & Calvo, J. H. (2011). The effect of feeding system in the expression of genes related with fat metabolism in semitendinous muscle in sheep. *Meat science*, 89(1), 91-97.

Finocchiaro R, Van Kaam JBCHM, Portolano B, Mizzal I (2005) Effect of heat stress on production of Mediterranean dairy sheep. *Journal of Dairy Science*,

88(5), 1855-1864.

Gardner JL, Peters A, Kearney MR, Joseph L, Heinsohn R. (2011). Declining body size: a third universal response to warming? *Trends Ecol Evol*. 26:285–291.

Lv F-H, Agha S, Kantanen J, Colli L, Stucki S, Kijas JW, Joost S, Li M-H, Ajmone Marsan P. 2014. Adaptations to climate-mediated selective pressures in sheep. *Mol Biol Evol*. 31:3324–334

Oleksyk TK, Smith MW, O'Brien SJ. (2010). Genome-wide scans for footprints of natural selection. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 365:185–205.

Serrano M, Moreno-Sánchez N, González C, Marcos-Carcavilla A, Van Poucke M, Calvo JH, Salces J, Cubero J, Carabaño MJ (2011) Use of Maximum Likelihood-Mixed Models to select stable reference genes: a case of heat stress response in sheep. *BMC molecular biology*, 12(1), 36.

Valutazione degli arieti riproduttori: standard di visita andrologica e valutazione del potenziale riproduttivo

SPEZZIGU A, MELE C, SOTGIU F

Veterinari Sementusa - Sardegna

Parole chiave - ultrasonografia, efficienza riproduttiva, management aziendale, ariete.

Introduzione - Nell'allevamento dei piccoli ruminanti, una attenta valutazione dei maschi riproduttori è il punto di partenza di una corretta gestione della riproduzione. La base di una buona fertilità di un gregge è quella di possedere maschi fertili, efficienti e privi di patologie a carico dell'apparato riproduttore. Circa tre mesi prima dell'introduzione di maschi all'interno del gregge è importante effettuare una visita clinica completa alla quale affiancare degli esami complementari (Spezzigu et al, 2002). Il metodo d'elezione per la valutazione della fertilità di un ariete o becco è l'esame del seme, tuttavia ciò non sempre è fattibile nella pratica. Tra gli esami complementari sicuramente un ruolo fondamentale è coperto dall'ecografia (Andrade et al., 2014).

Lo scopo del presente lavoro è quello di poter fornire attraverso un numero percentuale la stima del potenziale riproduttivo del singolo ariete in modo tale da intervenire tempestivamente in caso di risultati non sufficienti.

Materiali e metodi - La raccolta dei dati ha interessato 103 arieti di razza Sarda, clinicamente sani, di età compresa tra 1,5-6 anni, effettuata circa 2 mesi prima della stagione riproduttiva, provenienti da diversi allevamenti del nord della Sardegna. Tali allevamenti presentavano un buono e moderno management aziendale. Prima di procedere alla scansione ecografica lo scroto deve essere ispezionato visivamente e palpato sia per abituare il soggetto alla manualità che per valutare l'eventuale pre-

senza di tumefazioni, aumento di temperatura locale e dolore, segni tipici della presenza di uno stato patologico (Spezzigu et al, 2002). Durante l'esame ecografico del contenuto scrotale i parametri presi in considerazione sono stati: biometrie dei testicoli, ecogenicità del testicolo, delle ghiandole accessorie, bulbo uretrali e vescichette seminali. Per poter effettuare correttamente la valutazione è necessario conoscere l'immagine ecografica delle strutture in esame fisiologicamente nella norma. Per quanto riguarda il diametro maggiore del testicolo il valore è variabile da 3 a 6,5 cm. Dopo la visita è stato dato un punteggio ecografico variabile da 0 a 10 ai genitali esterni e alle ghiandole sessuali accessorie in relazione al fatto che nelle immagini ecografiche ottenute siano state riscontrate o meno delle lesioni, nonché in base alle dimensioni. La combinazione di questi valori ha permesso di fare la stima del potenziale di riproduzione, espressa in percentuale.

Durante la visita per ciascun ariete è stata fatta una valutazione del Body Condition Score (BCS) fondamentale per la valutazione finale dell'ariete riproduttore, vista la marcata correlazione tra BCS e qualità/quantità di spermatozoi prodotti. Infatti oltrechè riscontrare una scarsa qualità seminale in arieti magri o emaciati è stato visto che anche animali troppo grassi hanno un evidente riduzione della qualità del proprio seme. L'ariete dovrebbe seguire il principio "*fit No fat!*". Per questo motivo il BCS di un ariete riproduttore è da considerarsi sufficiente da valori uguali o superiori a 2,75 ad inizio flushing per arrivare sino ad un BCS di 3,5, ma non oltre.

Tab. 1 - Medie riassuntive in seguito a visita andrologica su 103 arieti di razza sarda effettuata prima della stagione riproduttiva tra febbraio ed aprile in aziende ovine in cui il controllo dei maschi riproduttori viene effettuato da diversi anni.

Azienda	ID ariete	Età anni	Testis		Punteggio Testis Totale	Ghiandole Accessorie Punteggio Totale	BCS	Potenziale riproduttivo %
			Diametro					
			Dx (cm)	Sx (cm)				
MEDIE		3,03883	5,3408	5,21845	8,6504854	9,097087379	2,75437	85,14563107

Risultati e conclusioni - Negli arieti che hanno il valore di stima del potenziale di riproduzione del 100%, il punteggio dei parametri risulta essere 10 e le immagini ecografiche dei parametri di ecogenicità del parenchima testicolare e ghiandole accessorie risponde all'immagine del modello ecografico preso come riferimento fisiologicamente nella norma. Inoltre, le biometrie testicolari hanno dm di 3 cm fino ad arrivare in alcuni soggetti ad oltre 6 cm. Questi arieti risultano avere un'ottima efficienza riproduttiva.

Negli arieti che hanno il valore di stima del potenziale di riproduzione al di sotto del 100% anche il punteggio dei parametri di ecogenicità parenchima testicolare e ghiandole accessorie e biometrie testicolare risulta inferiore a 10. Le immagini ecografiche dei parametri si discostano da quelle di riferimento suggerendoci la probabile presenza di processi patologici, i più frequentemente riscontrati a carico dei testicoli sono: atrofia, degenerazioni, infiammazioni e calcificazioni a carico dei tubuli; a carico dell'epididimo: spermatocele, infiammazioni, ascessi, mentre a carico delle ghiandole bulbo uretrali si riscontrano: cisti congenite o acquisite, aplasia segmentale, ascessi; infine nelle vescichette seminali può riscontrarsi la presenza di cisti, ascessi e spermatocele (Gouletsou et al., 2003). Tutte le patologie citate possono compromettere la fertilità del soggetto.

Questi arieti risultano avere una discreta efficienza riproduttiva fino a una stima del potenziale di riproduzione del 70%. Nella valutazione delle biometrie testicolari, vista la relazione esistente con la produzione spermatica, gli arieti che presentano un diametro superiore a 4,5 centimetri hanno ottenuto un punteggio più elevato. Negli arieti con BCS inferiore a 2,75 si ha una riduzione della valutazione del 10% o più in quanto strettamente correlato con le biometrie testicolari e, conseguentemente con la spermatogenesi.

La visita andrologica attraverso ultrasonografia ci fornisce indicazioni molto precise sullo stato fisiologico o patologico delle strutture esaminate permettendoci quindi di valutare l'efficienza del riproduttore e di fare una stima del suo potenziale di riproduzione.

Inoltre anche all'inizio della stagione riproduttiva al momento della preparazione del gregge per affrontare il cosiddetto *effetto maschio* è fondamentale rispettare la corretta ratio maschio:femmina. Tuttavia in questo rapporto bisogna considerare come 1 maschio, quando esso è in forma, funzionante e con una stima riproduttiva del 100%.

Evaluation of breeding rams: standard of andrological examination and evaluation of reproductive potential

Key words - ultrasonography, reproductive efficiency, corporate management, ram.

Bibliografia

- Andrade A.K.G., Soares A.T., Freitas F.F., Silva S.V., Pennaalfaro C.E., Batista A.M. and Guerra M.M.P. Testicular and epididymal ultrasonography in Santa Ines lambs raised in Brasil. An. Reproduction 2014; 11:110-118.
- Cartee R.E., Powe T.A., Gray B., Hudson Rs, Khulers D.L. Ultrasonographic evaluation of normal boar testicles, AMJ Vet.Res.1980; 47(12);2543-2548.
- Cartee R.E., Rumph P.F., Abuzaides S., Carson R. Ultrasonographic examination and measurement of ram testicles. Theriogenology.1990; Apr;33(4):867-75.
- Spezzigu A., Berlinguer F., Muntoni S., Bizzarri D., 2002. Impianto di melatonina nell'ariete: aumento del diametro testicolare e accrescimento delle ghiandole sessuali accessorie. Rivista di Veterinaria e Zootecnia, Vol.46, n1, pp. 27-33.

Studio di associazione genome-wide per i caratteri legati alla produzione di latte nella razza ovina Valle del Belice utilizzando le osservazioni ripetute

SUTERA AM¹, RIGGIO V², PONG-WONG R², MASTRANGELO S¹, DI GERLANDO R¹, SARDINA MT¹, TOLONE M¹, PORTOLANO B¹

¹Dipartimento Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali, Università degli Studi di Palermo; ²The Roslin Institute and R(D)SVS, Easter Bush, EH25 9RG, United Kingdom

Parole chiave - GWAS, caratteri legati alla produzione di latte, records ripetuti, Valle del Belice.

Introduzione - Gli studi di associazione genome-wide (GWAS) sono diventati un potente strumento per identificare le regioni genomiche associate a caratteri economicamente importanti nel settore delle produzioni animali. Diverse metodologie sono state proposte per eseguire GWAS sui caratteri quantitativi, assumendo che gli individui abbiano un unico record. Questo rappresenta un problema per i dati longitudinali. In particolare, i caratteri legati alla produzione di latte negli ovini vengono misurati in momenti temporali diversi durante il corso delle lattazioni. Lo scopo di questo studio è stato quello di realizzare un GWAS utilizzando records ripetuti per i caratteri legati alla produzione di latte nella razza ovina Valle del Belice.

Materiali e metodi - Lo studio è stato condotto su 481 pecore, genotipizzate con l'OvineSNP50K BeadChip. I dati fenotipici comprendevano 5.586 records giornalieri per la produzione di latte (MY), il contenuto e la percentuale in grasso (FY, F%), il contenuto e la percentuale in proteina (PY, P%). Dopo il controllo di qualità eseguito utilizzando il pacchetto GenABEL (Aulchenko et al., 2007), 469 pecore e 37.228 polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) sono stati usati per l'analisi. Per gestire

più records rilevati in momenti temporali diversi sullo stesso individuo, lo studio GWA è stato eseguito utilizzando il pacchetto RepeatABEL (Rönnegård et al., 2016). La procedura prevede due steps, il primo in cui viene utilizzato un modello misto che include effetti fissi (parto, numeri di agnelli nati, stagione di parto, intervalli di 15 giorni di lattazione) ed effetti casuali (effetto genetico additivo dell'animale, effetto ambientale permanente a cui è soggetto l'animale tra ed entro lattazione, interazione allevamento-test-day), per calcolare le stime delle componenti della varianza, senza considerare l'effetto degli SNPs, ma includendo una matrice di parentela genomica. La matrice di (co)varianza stimata nel primo step viene utilizzata in un modello dei minimi quadrati generalizzati (GLM) per valutare l'effetto di ogni singolo SNP sul carattere considerato. Dopo la correzione di Bonferroni, le soglie genome-wide e suggestive (minore evidenza statistica) erano di $1,34 \times 10^{-6}$ e di $2,68 \times 10^{-5}$, rispettivamente.

Risultati e considerazioni - L'analisi di associazione genome-wide ha portato all'identificazione di sei diversi SNPs associati ai caratteri considerati (Tab. 1). Tra questi, lo SNP rs398340969 situato a 28,85 Mb sul cromosoma 21, risulta associato a MY e PY; questo SNP

Tab. 1 - SNPs associati ai caratteri della produzione di latte nella razza ovina Valle del Belice.

Carattere	SNPs	Cromosoma	Posizione (Mb)	P-value	Genotipo	Gene	Distanza (Mb)
MY	rs398340969	21	28,85	1,73E-05	A/G	DCPS	
MY	rs417920940	26	9,91	1,47E-05	C/T	TENM3	
F%	rs425417915	7	98,97	2,00E-09	C/T	TTC7B	
P%	rs417079368	1	233,59	4,34E-07	C/T	SUCNR1	0.37
P%	rs425417915	7	98,97	2,97E-06	C/T	TTC7B	
P%	rs419987770	10	28,27	4,68E-06	A/G	KL	0.01
PY	rs400055578	7	72,67	1,59E-05	A/G	WDR89	0.03
PY	rs398340969	21	28,85	2,10E-05	A/G	DCPS	

si trova all'interno del gene *DCPS* che risulta essere coinvolto nella produzione di latte e legato al contenuto in proteina nei bovini (Suchocki et al., 2016); lo SNP rs425417915 situato a 98,97 Mb sul cromosoma 7 associato a F% e P% si trova all'interno del gene *TTC7B* che svolge un ruolo cruciale nel metabolismo lipidico nei bovini (MacLeod et al., 2016). Inoltre, un altro marcatore, rs417079368, è associato a P% e mappato a 0,37 Mb dal gene *SUCNR1* sul cromosoma 1; questo gene sembra essere legato alle proprietà tecnologiche del latte ovino (Suárez-Vega et al., 2016).

Pertanto, l'uso delle misure ripetute è stato utile per identificare diverse regioni genomiche potenzialmente coinvolte nell'espressione/manifestazione dei caratteri legati alla produzione di latte nella razza ovina Valle del Belice.

Genome-wide association studies for milk production traits in Valle del Belice sheep using repeated measures

Key words - GWAS, milk production traits, repeated measures, Valle del Belice

Bibliografia

- Aulchenko YS, Ripke S, Isaacs A, van Duijn CM. (2007) GenABEL: An R library for genome-wide association analysis. *Bioinformatics* 23:1294-1296.
- MacLeod IM, Bowman PJ, Vander Jagt CJ, Haile-Mariam M, Kemper KE. (2016) Exploiting biological priors and sequence variants enhances QTL discovery and genomic prediction of complex traits. *BMC Genomics* 17:144.
- Rönnegård L, McFarlane SE, Husby A, Kawakami T, Ellegren H, et al. (2016) Increasing the power of genome wide association studies in natural populations using repeated measures—evaluation and implementation. *Methods Ecol Evol.* 7:792-799.
- Suárez-Vega A., Gutiérrez-Gil B, Arranz J J. (2016). Transcriptome expression analysis of candidate milk genes affecting cheese-related traits in 2 sheep breeds. *Journal of dairy science*, 99(8), 6381-6390.
- Suchocki T, Wojdak-Maksymiec K, Szyda J. (2016) Using gene networks to identify genes and pathways involved in milk production traits in Polish Holstein dairy cattle. *Czech Journal of Animal Science* 61:526-538.

Sviluppo e validazione di un elisa basato sulla catelicidina per la rilevazione delle mastiti in pecore e capre

TEDDE V¹, PUGGIONI G¹, PISANU S¹, UZZAU S¹, LOLLAI S², DORE S², CANNAS AE², POLLERA C³, MORONI P³, BRONZO V³, ADDIS MF³

¹Porto Conte Ricerche, Tramariglio, Alghero; ²IZS Sardegna, Centro di Referenza Nazionale per le Mastiti degli Ovini e dei Caprini (CReNMOC), Sassari; ³Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano.

Parole chiave - mastite, catelicidina, pecore, capre

Introduzione - La mastite è una delle problematiche sanitarie più importanti del settore lattiero-caseario in considerazione dei suoi effetti negativi sulla qualità e sulla quantità delle produzioni. La mastite subclinica in particolare crea considerevoli problemi di rilevazione e controllo, ed è quindi cruciale sviluppare e implementare strumenti che ne rendano possibile la rilevazione in modo tempestivo, sensibile e specifico. La conta delle cellule somatiche nel latte (CCS) è il parametro standard per il monitoraggio della mastite, mentre l'esame colturale del latte (EC) è il test di elezione per l'identificazione dell'agente causale. Poiché questi test presentano rispettivamente problematiche di specificità e sensibilità, in particolare nelle capre ma anche nelle pecore, è importante sviluppare e valutare strumenti diagnostici alternativi. Il nostro gruppo ha dimostrato che le catelicidine, piccole proteine coinvolte nella difesa immunitaria innata, sono specificamente rilasciate nel latte degli animali mastitici sia dalle cellule epiteliali che dai neutrofili. In questo lavoro descriviamo le performances diagnostiche di un ELISA per la catelicidina e ne riportiamo la comparazione con CCS ed EC nella pecora e nella capra.

Materiali e metodi - Sono stati analizzati 705 campioni di latte di emimammella da pecore di razza sarda in piena lattazione allevate in Sardegna, e 360 campioni di latte di emimammella prelevati con cadenza bimestrale nell'arco dell'intera lattazione da capre di razza camosciata allevate in Lombardia. Il saggio ELISA è stato condotto nel formato sandwich secondo procedure standard riportate in precedenza. La conta delle cellule somatiche è stata effettuata con metodi standard (ISO 2006) e l'esame colturale è stato condotto secondo le linee guida del National Mastitis Council. L'analisi statistica descrittiva è stata condotta con il software GraphPad Prism e MedCalc. La significatività delle differenze fra catelicidina, CCS e EC è stata valutata applicando il test di Kruskal-Wallis con correzione di Bonferroni. La significatività si aveva con un *p-value* <0.005. Il coefficiente di correlazione (*r*) è stato calcolato con Mi-

crosoft Excel. I risultati di sensibilità (Se) e specificità (Sp) sono stati valutati mediante analisi Bayesiana per classi latenti.

Risultati e considerazioni - Pecore: Lo studio è stato condotto solo su animali in piena lattazione. Il 35,3% dei campioni di latte (249/705) era positivo all'ELISA. Il gruppo negativo (*n* = 456) e il gruppo positivo (*n* = 249) all'ELISA hanno mostrato una netta separazione in relazione alla CCS, con valori della mediana rispettivamente di 149.500 e 3,3 milioni di cellule/mL. Il 20,6% (145/705) dei campioni di latte ha mostrato una crescita microbica, con un'elevata prevalenza di stafilococchi coagulasi-negativi (SCN). Gran parte dei campioni positivi in EC lo erano anche in ELISA (110/145, 75,9%). Ad una soglia di CCS di 500.000 cellule/mL, Se e Sp erano rispettivamente di 92,4 e 92,3% per l'ELISA, 89,0 e 94,9% per la CCS, e 39,4 e 93,6% per l'EC. In considerazione dei risultati ottenuti, la misurazione della catelicidina nel latte mediante ELISA è in grado di migliorare considerevolmente la sensibilità di rilevazione delle mastiti mantenendo un'elevata specificità, e rappresenta quindi un utile strumento diagnostico. **Capre:** Lo studio è stato condotto nell'arco di un'intera lattazione. ELISA e CCS hanno mostrato un'elevata correlazione (*r* = 0,72). La correlazione era più alta nelle capre primipare (0,80, *n* = 130) rispetto alle multipare (0,71, *n* = 230). Inoltre, era più elevata in piena lattazione (*r* = 0,83) rispetto a fine lattazione (*r* = 0,61). Entrambi i marcatori sono aumentati nel corso della lattazione, ma la catelicidina è aumentata meno della CCS. L'innalzamento dei valori a fine lattazione era infatti più contenuto per la catelicidina (5,05 volte) rispetto alla CCS (7,64 volte). Solo il 4,4% dei campioni (16) erano positivi in EC, tutti per SCN. Di questi, 13 erano positivi in ELISA (81,25%). In conclusione, l'elevata correlazione della catelicidina con la CCS nell'arco dell'intera lattazione, in congiunzione con il suo minore innalzamento a fine lattazione e con la buona sensibilità nella rilevazione dei campioni positivi per SCN, ne incoraggiano l'utilizzo anche nel monitoraggio delle mastiti subcliniche della capra.

Development and validation of a cathelicidin elisa for detecting mastitis in ewes and goats

Key words - mastitis, cathelicidin, ewe, goat

Bibliografia

Addis MF, Pisanu S, Ghisaura S, Pagnozzi D, Marogna G, Tanca A, Biossa G, Cacciotto C, Alberti A, Pittau M, Roggio T, Uzzau S. 2011. Proteomics and pathway analyses of the milk fat globule in sheep naturally infected by *Mycoplasma agalactiae* provide indications of the in vivo response of the mammary epithelium to bacterial infection.

Infection and Immunity 79:3833–3845.

Addis MF, Pisanu S, Marogna G, Cubeddu T, Pagnozzi D, Cacciotto C, Campesi F, Schianchi G, Rocca S, Uzzau S. 2013. Production and release of antimicrobial and immune defense proteins by mammary epithelial cells following *Streptococcus uberis* infection of sheep. *Infection and Immunity* 81:3182–3197.

Addis MF, Tedde V, Dore S, Pisau G, Puggioni GMG, Roggio AM, Pagnozzi D, Lollai S, Cannas EA, Uzzau S. 2016. Evaluation of milk cathelicidin for detection of dairy sheep mastitis. *Journal of Dairy Science* 99:6446–6456

Contreras A, Sierra D, Sánchez A, Corrales JC, Marco, Paape MJ, Gonzalo C. 2007. Mastitis in small ruminants.

Small Ruminant Research 68:145–153.

Cubeddu T, Cacciotto C, Pisanu S, Tedde V, Alberti A, Pittau M, Dore S, Cannas EA, Uzzau S, Rocca S, Addis MF. 2017. Cathelicidin production and release by mammary epithelial cells during infectious mastitis.

Veterinary Immunology and Immunopathology 189:66–70.

National Mastitis Council. 2017. *Laboratory Handbook on Bovine Mastitis*, New Prague, MN.

Souza FN, Blagitz MG, Penna CFAM, Della Libera AMMP, Heinemann MB, Cerqueira MMOP. 2012. Somatic cell count in small ruminants: Friend or foe? *Small Ruminant Research* 107:65–75.

Ricerca di anticorpi anti-*Toxoplasma gondii* ed anti-*Neospora caninum* in allevamenti ovis e caprini nella regione di Sertão do Moxotó, Pernambuco, Brasile

TEMBUE A¹, RAMOS R², CARVALHO G², MAURELLI MP³, IANNIELLO D³, BOSCO A³, CRINGOLI G³, RINALDI L³, ALVES L⁴

¹Center for Research and Development in Ethnobotany, Mozambique, Africa; ²Unità Accademica di Garanhuns, Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università Federal Rural di Pernambuco, Brasile; ³Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Italia; ⁴Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università Federal Rural di Pernambuco, Brasile; Parole chiave: *Toxoplasma*, *Neospora*, Caprini, Ovis, Brasile

Parole chiave - *Toxoplasma*, *Neospora*, caprini, ovis, Brasile

Introduzione - Il nordest brasiliano si estende su un'area di 1.560.000 km² che rappresenta il 18% della superficie totale del Brasile. Di questi, il 75% si trova nella regione semi-arida con una grande concentrazione di capre e pecore che svolgono un importante ruolo socio-economico. Tuttavia la principale limitazione per l'allevamento di capi ovis e caprini è rappresentato dalla massiva presenza di parassiti. *Toxoplasma gondii* è un protozoo diffuso in tutto il mondo che infetta numerose specie, in particolare il gatto che, eliminando le oocisti con le feci, contamina il terreno ed altre specie animali quali capre e pecore. Invece, *Neospora caninum* è un protozoo intracellulare obbligato, causa primaria di aborto negli ruminanti. Il cane domestico ed i canidi selvatici sono gli ospiti definitivi. Scopo del presente studio è stato quello di utilizzare la tecnica di immunofluorescenza per la ricerca di anticorpi anti-*Toxoplasma gondii* ed anti-*Neospora caninum* in allevamenti ovis e caprini nella regione di Sertão do Moxotó, Pernambuco, Brasile.

Materiali e metodi - Per lo studio, sono stati campionati 319 caprini ed 81 ovis. Tutti gli animali sono stati sottoposti ad una visita per valutare la presenza di segni clinici indicativi della infezione per *T. gondii* e *N. caninum*. In laboratorio è stata valutata la presenza di anticorpi anti- *T. gondii* (Camargo, 1964 e Camargo, 1974) e *N. caninum* (Conrad et al., 1993; Barr et al., 1995) mediante il test di immunofluorescenza indiretta utilizzando anticorpi secondari diluiti marcati con fluoresceina anti-IgG-caprine (Sigma Chemical, USA), anti-IgG-ovine (Sigma Chemical), con *cut off*, rispettivamente di 1:64 (Opel et al., 1991; Garcia et al., 1999) e 1:50 (Dubey e Lindsay, 1996).

Analisi statistica - Sui dati riguardanti la siero prevalenza è stato eseguito un test statistico (chi-quadro) per valutare la eventuale presenza di fattori di rischio.

Risultati e considerazioni - L'esame clinico non ha evidenziato nessun segno clinico indicativo della infezione

per *T. gondii* e *N. caninum*. La prevalenza della infezione per *T.gondi* è risultata pari a 57% (228/400), 34,3%(137/400) per *N. caninum* (Tabella 1, 2). Analizzando la prevalenza dell'infezione in relazione al gruppo di età è stata osservata una differenza statisticamente significativa per le capre (p<0,01) e pecore (p>0,05), con la più alta frequenza di siero-positività in animali di età superiore ai quattro anni.

Per quanto riguarda il sesso sebbene il tasso di positività per *T. gondii* fosse più alto nei maschi in entrambe le specie non è stata osservata alcuna differenza statisticamente significativa. Anche per *N. caninum* non è stata osservata alcuna differenza statisticamente significativa in relazione al sesso. I risultati osservati nel presente stu-

Tab. 1 - *Toxoplasma gondii*: risultati sierologici in caprini ed ovis nella regione di Sertão do Moxotó, Pernambuco, Brasile.

Età/ animale	Caprini	Ovis
< 1 anno	38,4%	33,3%
>1-4 anni	52,3%	46,9%
>4 anni	85,2%	65,0%

Tab. 2 - *Neospora caninum*: risultati sierologici in caprini ed ovis nella regione di Sertão do Moxotó, Pernambuco, Brasile.

Età/ animale	Caprini	Ovis
< 1 anno	19,8%	41,7%
>1-4 anni	21,2%	63,3%
>4 anni	39,6%	80,0%

dio dimostrano che *T. gondii* e *N. caninum* sono ampiamente diffusi negli allevamenti ovini e caprini, rendendo necessario l'adozione di misure igienico-sanitarie nella catena di produzione al fine di minimizzare i problemi derivanti dalle infezioni. L'elevato tasso di infezione da *T. gondii* negli allevamenti di capre e pecore è anche un problema di salute pubblica dovuto al consumo di latte non pastorizzato in questa regione.

Serological survey of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in goats and sheep from Sertão do Moxotó, Pernambuco State, Brazil

Key words - *Toxoplasma*, *Neospora*, goat, sheep, Brazil

Bibliografia

- Dubey, J. (2010). *Toxoplasmosis of Animals and Humans*. Boca Raton: CRC Press.
- Dubey JP. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *The Korean Journal of Parasitology*. 2003;41(1):1-16.
-

Studio di mastiti causate da *Mycoplasma agalactiae* in ovini di razza Valle del Belice: analisi di sopravvivenza

TOLONE M^{1,2}, PULEIO R², PARCO A², TUMINO S^{2,3}, OLIVERI S², TAMBURELLO A², PORTOLANO B¹, LORIA GR²

¹Dip. Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali, Università degli Studi di Palermo, Viale delle Scienze, 90128, Palermo; ²OIE Reference Laboratory for Contagious Agalactia, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo; ³Dip. Agricoltura, Alimentazione e Ambiente, Sezione Produzioni animali, Università degli Studi di Catania, via Val di Savoia, Catania

Parole chiave: *M. Agalactiae*, cellule somatiche, analisi di sopravvivenza.

Introduzione - L'agalassia contagiosa (AC) è una patologia prevalentemente causata da un micoplasma patogeno, *Mycoplasma agalactiae* (MA) che colpisce ovini e caprini. La malattia è endemica nell'area del Mediterraneo (Italia, Francia meridionale, Paesi balcanici e Africa del Nord) e determina gravi perdite economiche dovute alla minore produzione di latte causata dall'insorgenza di infezioni intramammarie, le mastiti. Il patogeno colpisce principalmente il tessuto mammario, causando una mastite interstiziale, ma si isola anche dalla mucosa oculare e dal liquido sinoviale delle articolazioni. La mammella può atrofizzarsi parzialmente o interamente compromettendo la vita produttiva dell'animale. L'individuo può sviluppare anche artriti e congiuntivi in funzione della localizzazione del patogeno. L'identificazione dell'agente patogeno è eseguita prevalentemente tramite esame batteriologico colturale del latte, del liquido sinoviale e dei tamponi prelevati dalle mucose (tamponi oculari, auricolari, rettali ecc.), l'identificazione di specie viene ottenuta tramite esami biochimici e più recentemente, con esami diagnostici molecolari (RT-PCR, PCR dgge ecc). Le infezioni intramammarie possono essere diagnosticate indirettamente tramite la conta delle cellule somatiche (SCC) che si sono rivelate maggiormente correlate all'evento mastite, sia clinica che subclinica, e rientrano nelle analisi per la qualità del latte di routine. L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di studiare la comparsa dell'infezione da MA in un gregge infettato sperimentalmente utilizzando le SCC come predittore.

Materiali e metodi - Lo studio è stato eseguito su sette pecore di razza Valle del Belice allevate in provincia di Agrigento. Prima di eseguire l'inoculazione del patogeno, l'intero allevamento è stato sottoposto ad esame sierologico, colturale e molecolare per verificare l'assenza del microorganismo dall'allevamento, presso i laboratori di Diagnostica Specialistica dell'IZS della Sicilia accreditati dall'OIE. Durante la prova sperimentale, gli animali sono stati isolati dal resto del gregge e confinati in un'area di circa 250 m² dove venivano alimentati con fieno e concentrati. Una delle sette pecore (n° 3) è stata infettata sperimentalmente con un ceppo

di MA tramite contatto diretto. Dopo l'inoculazione le pecore sono state controllate per un periodo di circa due mesi da febbraio ad aprile 2018, con una cadenza di due volte a settimanale per i primi 21 giorni e di una volta a settimana fino alla fine della prova. Durante questo periodo, le pecore venivano munte manualmente due volte al giorno dall'allevatore. In fase di controllo, un campione di latte è stato prelevato direttamente da ogni emimammella per essere sottoposto a coltura batteriologica e a RT-PCR per l'identificazione di MA, mentre un'aliquota è stata utilizzata per la determinazione delle SCC tramite analisi citologica con apparecchiatura automatica a citometria di flusso (Fossomatic 6000). Le SCC sono state trasformate su base logaritmica prima delle analisi secondo la formula: $\log_{10}(SCC/1000)$. Il periodo di follow-up dello studio va dal giorno dell'inoculazione del patogeno del singolo animale alla fine del periodo di prova, 76 giorni. Il tempo di sopravvivenza T è definito come il tempo di insorgenza della mastite dall'inizio dello studio. Il seguente modello semi-parametrico di Cox (Cox 1972) è stato utilizzato:

$$h_{tsc} = \lambda_0 t \exp(\beta \times SCC)$$

dove $\lambda_0 t$ è la funzione di rischio dell'animale con la covariata uguale a zero, definita pertanto rischio di base (baseline). $\exp(\beta \times SCC)$ rappresenta il coefficiente di regressione delle SCC sull'evento. La stima dei coefficienti β permette di valutare il rischio relativo di presentare l'evento per un individuo con covariata x rispetto ad uno con la covariata a valore nullo, assunto che tale rischio si mantenga costante nel tempo. L'analisi di sopravvivenza è stata condotta utilizzando la funzione *coxph* del pacchetto "survival" in ambiente R (Fox 2002).

Risultati e considerazioni - Dei sette animali considerati nella prova, due sono risultati negativi al contagio da parte di MA durante il periodo di follow-up (right censored) mentre cinque sono risultati positivi sia all'esame batteriologico che alla diagnosi tramite RT-PCR. Il tempo medio affinché si verifichi l'evento è

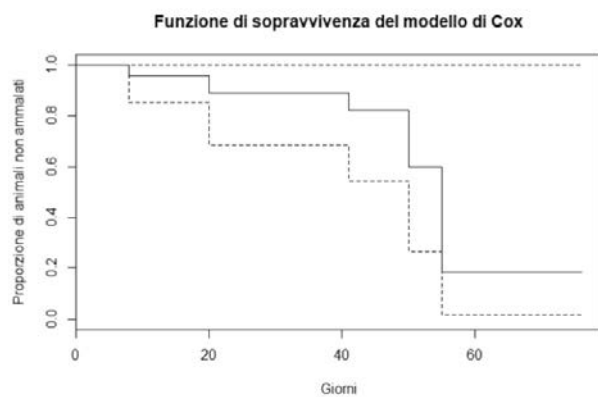


Fig. 1 - Funzione di sopravvivenza del modello di Cox

risultato essere di 55 giorni. Come si evince dalla in Fig. 1, al 55° giorno la proporzione di animali non ammalati passa dal 60 al 20%.

La covariata SCC è risultata essere statisticamente significativa. (Tab.1). I risultati hanno evidenziato un maggiore rischio di contrarre l'infezione per gli animali con un contenuto di SCC più elevato. A titolo di esempio un animale con un contenuto in SCC di 10 milioni ha un rischio 6,13 volte di contrarre l'infezione maggiore, rispetto ad un individuo con un milione di cellule.

In uno studio precedente, che non considerava il MA come agente mastidogeno, il rischio di contrarre una mastite causata da patogeni minori è di 2.23 volte negli animali con contenuto in SCC alto e di 3.96 nel caso di mastiti causate da patogeni maggiori (Sutera *et al.*, 2014). I risultati suggeriscono che la selezione di animali con un contenuto in SCC basso riduce l'incidenza di infezioni dovute a MA e che l'obiettivo di selezione dovrebbe favorire quelle pecore con un numero osservato di SCC basso.

Tab. 1 - Risultati per la covariata SCC

	coef	exp(coef)	se(coef)	z	Pr(> z)
scc	1.8142	6.1363	0.9226	1.966	0.0492*
Test	Value	d.f	P		
LRT	6.99	1	0.008		
Wald	3.87	1	0.05		
Score LogRank	5.96	1	0.01		

Study of mastitis caused by *Mycoplasma agalactiae* in Valle del Belice sheep: survival analysis

Key words - *M. Agalactiae*, somatic cells, survival analysis.

BIBLIOGRAFIA

- Cox, D.R. (1972). Regression models and life tables (with discussion). *Journal of the Royal Statistical Society, Series B*, 34:187-220.
- Fox, J. (2002). Cox proportional-hazards regression for survival data. In J. Fox (Ed.), *An R and S-PLUS companion to applied regression* (pp. 1-18). Thousand Oaks, CA: Sage
- Sutera, A.M., Tolone, M., Maizon, D.O., Scatassa, M.L., Portolano, B. (2014). Study of mastitis in Valle del Belice dairy sheep using survival analysis approach. Conference: EAAP - 65th Annual Meeting, Copenhagen 2014.

Analisi comparativa della distribuzione di zecche vettori Ixodidae in allevamenti ovicaprini nel territorio siciliano

TORINA A, CURRÒ V, AUTERI M, LA RUSSA F, BLANDA V, SCIMECA S, CARACAPPA G, D'AGOSTINO R, VILLARI S, PERSICHETTI MF, DE MARIA C, CARACAPPA S

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo,

Parole chiave - zecche, ovicaprini, Sicilia, altitudine

Introduzione - Le infestazioni da zecche rappresentano un rilevante problema sanitario per l'uomo e per gli animali domestici e selvatici. Il ruolo patogeno delle zecche è legato principalmente alla loro capacità di trasmettere organismi patogeni. Le malattie trasmesse da zecche, quali Babesiosi, Theileriosi e Anaplasmosi, sono frutto di una complessa interazione tra agenti patogeni, ospiti, artropodi vettori e ambiente. Attualmente le zecche sono considerate come vettori seconde solo alle zanzare (Fivaz et al., 1992). L'infezione è causa di danno economico per il settore zootecnico, per la riduzione della produzione e la mortalità degli animali. Negli ultimi anni nel territorio siciliano, pochi studi sono stati condotti sulla distribuzione delle infestazioni da zecche in ovicaprini, portando all'esigenza di un'analisi sistematica della diffusione di tali importanti vettori.

Materiali e metodi - All'interno del territorio siciliano, 33 allevamenti sono stati selezionati in base alle caratteristiche geo-climatiche e dati storici sulle malattie da zecche. Per ogni allevamento sono state registrate le coordinate di georeferenziazione insieme all'altitudine e l'eventuale presenza di altre specie allevate. Le zecche sono state raccolte da siti di predilezione (zona auricolare, zona perianale) nel 10% degli ovicaprini presenti, ed identificate a livello di specie mediante chiavi morfologiche (Manilla, 1998). In presenza di esemplari danneggiati o difficilmente identificabili, l'identificazione della specie di zecca è stata confermata anche attraverso indagini biomolecolari (Beati et al., 2001). Gli allevamenti sono stati suddivisi in base alla provincia, all'altitudine, alla presenza nell'allevamento di soli ovicaprini o di altre specie allevate. Il test di Mann-Whitney o di Kruskal-Wallis seguito dal post-hoc test di Dunn sono stati utilizzati per l'analisi di differenze tra le specie di zecche Ixodidae negli allevamenti campionati; un valore di $p < 0.05$ è stato considerato statisticamente significativo.

Risultati e considerazioni - Complessivamente sono stati esaminati 1600 esemplari di zecche raccolte dagli ovicaprini, appartenenti a quattro generi: *Rhipicephalus*, *Haemaphysalis*, *Hyalomma* e *Ixodes*. Sono state identificate in totale 6 specie di Ixodidae. Le

specie più abbondanti sono risultate *R. sanguineus* (40.12%), *R. bursa* (34.18%) e *R. turanicus* (21.62%), seguite da *Hae. sulcata* (2.31%), *H. lusitanicum* (1.68%), *I. ricinus* (0.06%) (Fig.1).

L'analisi dei risultati ha mostrato una diffusione ubiquitaria di *R. sanguineus* nel territorio siciliano, nelle province di Messina, Trapani, Enna, Palermo, Caltanissetta, Agrigento. La specie è presente particolarmente ad altitudini 200-400 m sul livello del mare (s.l.m.) e 600-800 m s.l.m. *R. bursa* è stata rinvenuta principalmente nelle province di Messina, Enna e alcuni siti di Agrigento, spesso ad elevate altitudini (600-1200 m s.l.m.). La presenza di *R. turanicus* è stata registrata particolarmente nella provincia di Agrigento, e da 49-600 m s.l.m. La presenza peculiare di *H. lusitanicum* è stata osservata nella provincia di Ragusa, tra 49-400 m s.l.m, mentre esemplari di *Hae. sulcata* e 1 esemplare di *Ixodes ricinus* sono stati ritrovati nella provincia di Messina a moderata altitudine (784 m s.l.m.). L'analisi statistica delle 3 specie di zecche Ixodidae più rappresentate ha mostrato una differenza significativa tra il numero di esemplari di *R. bursa* rinvenuti negli allevamenti del range 0-200 m s.l.m. o 200-400 m s.l.m. in comparazione agli esemplari rinvenuti a più elevata altitudine (1000-1200 m s.l.m.) (Tab. 1).

Una differenza significativa si osserva anche comparando gli esemplari di *R. turanicus* rinvenuti negli allevamenti a 0-600 m s.l.m. rispetto a 600-1200 m

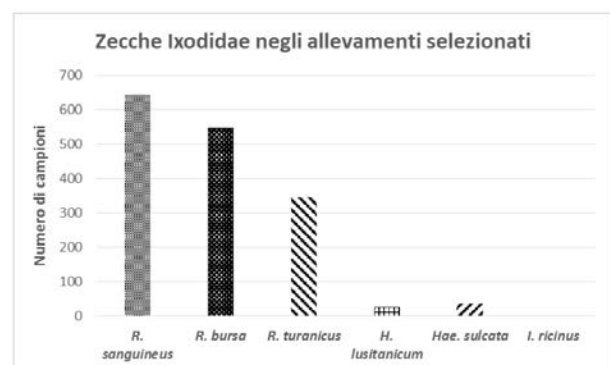


Fig. 1 - Zecche Ixodidae negli allevamenti

Tab. 1 - Distribuzione di *R.bursa* a differenti altitudini

<i>R. bursa</i>	Zecche in allevamenti 0-200 m s.l.m.	Zecche in allevamenti 200-400 m s.l.m.	Zecche in allevamenti 1000-1200 m s.l.m.
Minimo	0	0	186
25% percentile	0	0	186
Mediana	0	0	213.5*
75% percentile	0	0	241
Massimo	19	5	241*

$p < 0.05$ vs gruppi 0-200 m s.l.m e 200-400 m s.l.m. (sul livello del mare)

s.l.m.; tale specie non è mai stata ritrovata ad altitudine superiore a 457 m s.l.m. Considerando le differenze tra gli allevamenti di soli ovicaprini rispetto agli allevamenti misti (presenza di altre specie), si osservava negli allevamenti di soli ovicaprini una predominanza di *R. sanguineus* e *R. turanicus*, rispetto a *R. bursa* mentre negli allevamenti misti si osservava la presenza comparabile delle tre specie di *Rhipicephalus*, insieme a *H. lusitanicum* (2 allevamenti), *Hae. sulcata* e *I. ricinus* (1 allevamento). I dati raccolti nel presente studio mostrano la presenza di diverse specie di zecche Ixodidae infestanti gli ovicaprini nel territorio siciliano, riconosciute come vettori di patogeni. La presenza delle diverse specie risulta correlata alle province, altitudini e tipi di allevamenti selezionati, in particolare per le specie *R. sanguineus*, *R. bursa* e *R. turanicus* maggiormente rappresentate. Ulteriori analisi potranno permettere di valutare la distribuzione delle zecche vettori in relazione a fattori geo-climatici locali negli allevamenti siciliani. Ringraziamenti: Gli autori ringraziano il Sig. Pippo

Bono, il Sig. Nicola Galati e la Sig.ra Francesca Marino per la collaborazione tecnica.

Comparative analysis of the distribution of Ixodidae tick vectors in ovicaprine farms in the Sicilian territories

Key words - ticks, ovicaprine, Sicily, altitude

Bibliografia

- Beati L, Keirans JE (2001). Analysis of the systematic relationships among ticks of the genera *Rhipicephalus* and *Boophilus* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 12S ribosomal DNA gene sequences and morphological characters. *J Parasitol*; 87:32-48.
- Fivaz BH et al. (1992). Tick Vector Biology: Medical and Veterinary Aspects. *Trop Anim Health Prod*; 24:81-9.
- Manilla G. (1998), Fauna d'Italia, Acari, Ixodida; Edizione Calderini, Bologna.

Ricerca finanziata dal Ministero della Salute
Ricerca corrente IZSSi 15/15.

Semi di lino estruso nella dieta di capre al pascolo: effetti sull'attività dell'enzima Stearoyl-CoA desaturasi mammario

TUDISCO R¹, CHIOFALO B², LO PRESTI V², LEONE F², MORITTU VM³, LOMBARDI P¹, MONIELLO G⁴, GROSSI M¹, MUSCO N¹, GRAZIOLI R¹, MASTELLONE V¹, INFASCELLI F¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali – Università di Napoli Federico II; ²Dipartimento di Scienze Veterinarie - Università di Messina; ³Dipartimento di Scienze della Salute - Università Magna Græcia di Catanzaro; ⁴Dipartimento di Biologia Animale - Università di Sassari

Parole chiave - Stearoyl-CoA-Desaturasi, capra, latte, semi di lino

Introduzione - La Stearoyl-CoA desaturasi (SCD) è un complesso multienzimatico responsabile della sintesi della maggior parte degli isomeri di CLA (Loor et al., 2005) e della conversione di alcuni SFA in MUFA. Fattori ambientali, in particolare i PUFA della dieta, ne regolerebbero l'attività, anche se nei ruminanti la ghiandola mammaria sarebbe meno sensibile a tali stimoli rispetto a quanto avviene nei roditori (Bernard et al., 2005). Scopo del presente lavoro è stato quello di verificare l'influenza della presenza dei semi di lino estruso (ricchi in PUFA, in particolare omega-3) dell'integrazione alimentare di capre allevate al pascolo, sull'attività della SCD mammaria.

Materiali e metodi - Dodici capre pluripare (tipo genetico Cilentana) sono state equamente suddivise, subito dopo il parto (febbraio), in 2 gruppi omogenei (C: controllo vs T: trattato) per numero di parti e produzione di latte nella precedente lattazione. Tutti i soggetti avevano libero accesso al pascolo (60% leguminose e 40% graminacee; PG/s.s. 16%) e ricevevano inoltre 400 g/capo/die di un mangime del commercio (UFL/kg s.s. 1.03; PG/s.s. 18.0%) che per il gruppo T, conteneva semi di lino estruso (30% t.q.). Dopo 60 d dal parto è stata registrata la produzione individuale e, mensilmente, prelevati campioni individuali di latte, per un totale di 5. Sui campioni sono stati determinati grasso, proteine e lattosio, con metodo all'infrarosso e il profilo acidico del grasso come riportato da Tudisco et al. (2014). L'attività della SCD è stata valutata mediante i seguenti rapporti prodotto/precursore: C14:1/C14:0, C16:1/C16:0, C18:1/C18:0 e C18:2 *c9 t11*/C18:1 *t11*. I dati sono stati elaborati mediante ANOVA per misure ripetute e le medie confrontate con il Tukey-test (SAS, 2000).

Risultati e considerazioni - La produzione di latte non è risultata differente, ma il gruppo T ha fatto registrare una % di grasso superiore (4.58 vs 4.38; $P < 0.01$). Il latte del gruppo C ha mostrato % superiore di SFA (73.3 vs 69.1; $P < 0.01$) mentre il gruppo T % superiori di MUFA (26.6 vs 23.4; $P < 0.01$) e PUFA omega 6 (2.22 vs 1.79 $P < 0,01$), come riportato anche da Caroprese et

al. (2016), e, in accordo con Tudisco et al. (2013), di C18:2 *c9 t11* (0.63 vs 0.34; $P < 0.05$). Gli indici di aterogenicità (2.1 vs 2.8) e trombogenicità (2.4 vs 3.1) sono risultati significativamente ($P < 0.01$) inferiori nel gruppo T. Ad eccezione del C16:1/C16:0, gli altri rapporti sono risultati significativamente diversi ($P < 0.05$). In particolare il C14:1/C14:0 - il più affidabile poiché il C14:0 deriva quasi tutto dalla sintesi mammaria e quindi quasi tutto l'acido miristoleico dall'azione della SCD (Bernard et al., 2006) - è risultato minore nel gruppo T (0.028 vs 0.033), a conferma dell'azione down-regolatrice dei PUFA sull'attività della SCD. A conferma di ciò, analizzando i dati in funzione del mese di prelievo, mentre nel gruppo C il rapporto è aumentato significativamente nel mese di luglio, quando nell'areale della prova le condizioni climatiche portano alla stasi vegetativa e quindi alla minore presenza di PUFA nel pascolo, nel gruppo T non vi è stata differenza con i mesi precedenti grazie ai semi di lino nell'integrazione che hanno assicurato elevati livelli di PUFA. Nei due mesi successivi, in entrambi i gruppi, l'attività della SCD è diminuita probabilmente a causa del procedere della lattazione (Figura 1).

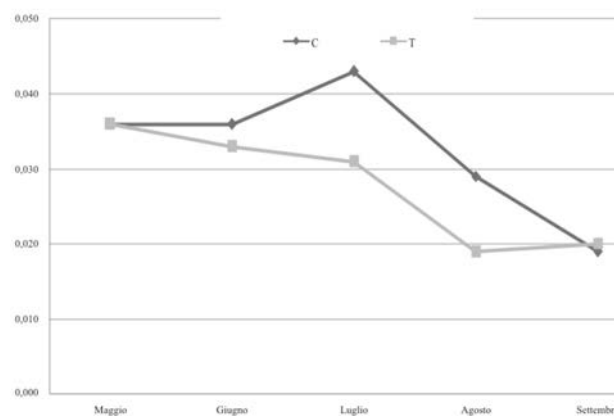


Fig. 1. Trend del rapporto C14:1/C14:0 (% acidi grassi totali) nel latte dei due gruppi (SEM = 0.0008).

Influence of feeding linseed on mammary scd activity in grazing goat

Key words - SCD, goat, milk, linseed

Bibliografia

Bernard L, Leroux C, Bonnet M, Rouel J, Martin P, Chilliard Y (2005) Expression and nutritional regulation of lipogenic genes in mammary gland and adipose of lactating goats. *J. Dairy Res.* 72, 250–255.

Bernard A, Carbonnelle S, de Burbure C, Michel O, Nickmilder M. (2006) Chlorinated pool attendance, atopy and the risk of asthma during childhood. *Env. Health Perspect.* 114, 1567–1573.

Caroprese M, Ciliberti M G, Santillo A, Marino R, Sevi A, Albenzio M (2016) Immune response, productivity and quality of milk from grazing goats as affected by dietary polyunsaturated fatty acid supplementation.

Res. Vet. Sci. 4, 229-235.

Loor JJ, Ferlay A, Ollier A, Ueda K, Doreau M, Chilliard Y (2005) High concentrate diets and polyunsaturated oils alter trans and conjugated Isomers in bovine rumen, blood, and milk. *J. Dairy Sci.* 88, 3986–3999.

SAS (2000) SAS/STAT_Software: SAS Inst. Inc, Cary, NC
Tudisco R, Calabrò S, Cutrignelli MI, Grossi M., Musco N., Piccolo V, Infascelli F. (2013) Extruded linseed in the diet of grazing goats: Effects on milk conjugated linoleic acid. *Trends in Veterinary Sciences: current aspects in veterinary morphophysiology, biochemistry, animal production, food hygiene and clinical sciences.* 181-185.

Tudisco R, Grossi M, Calabrò S, Cutrignelli MI, Musco N, Addi L, Infascelli F (2014) Influence of pasture on goat milk fatty acids and Stearoyl-CoA desaturase expression in milk somatic cells. *Small Rum. Res.*, 122, 38-43.

Indagini molecolari su zecche come potenziali vettori di *Mycoplasma agalactiae*

TUMINO S^{1,2}, BLANDA V¹, RUSSO F, PULEIO R¹, PARCO A¹, OLIVERI S¹, TOLONE M^{1,3}, TAMBURELLO A¹, LORIA GR¹

¹OIE Reference Laboratory for Contagious Agalactia - Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia; ²Dip. Agricoltura, Alimentazione e Ambiente, Sezione Produzioni animali, Università degli Studi di Catania, via Val di Savoia, Catania; ³Dip. Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali, Università degli Studi di Palermo, Viale delle Scienze, 90128, Palermo

Parole chiave - *Mycoplasma agalactiae*, vettori, zecche, Real-Time PCR

Introduzione - L'Agalassia contagiosa (AC) è una malattia infettiva e diffusiva delle pecore e delle capre conosciuta in Sicilia da decenni, è stata inserita nella lista OIE per le sue ripercussioni economiche e rappresenta ancora oggi un irrisolto problema per il settore caseario ovi-caprino. Nell'area mediterranea, *Mycoplasma agalactiae* è l'agente eziologico prevalente. In Sicilia, la malattia è endemica da decenni, le prime osservazioni cliniche della malattia risalgono agli anni '50, veniva conosciuta come "Mal del sito" per il rischio, riconosciuto dagli allevatori e veterinari, di aree "infette" dove le greggi che passavano, contraevano l'infezione. Tale legame con aspetti ecologici/ambientali non è stato mai confermato da evidenze scientifiche, anche in relazione alla nota incapacità dei patogeni appartenenti al genere *Mycoplasma* di resistere al di fuori dell'ospite. Ad oggi non si è ancora indagato sul potenziale ruolo di artropodi ematofagi nel mantenere e diffondere la malattia tra le greggi e di contribuire al mantenimento dell'endemismo nel territorio. In letteratura il ruolo degli artropodi nella trasmissione dei mycoplasmi è stato confermato in specie di pulci e acari (Nayak and Bhowmik 1990). Più recentemente Hornok et al., (2012) hanno dimostrato la presenza di DNA di Mycoplasmi ematropici in pidocchi prelevati da capre e in zecche appartenenti al genere *Ixodes* (Taroura et al., 2005). Gli autori descrivono i risultati preliminari di uno studio condotto su esemplari di zecche prelevati in corso di infezione da *Mycoplasma agalactiae* in un focolaio confermato della malattia al fine di indagare il potenziale ruolo delle zecche quali potenziali vettori della malattia, con lo scopo di approfondire alcuni aspetti determinanti nella epidemiologia dell'endemismo nelle nostre regioni.

Materiali e metodi - da 7 pecore clinicamente infette ed appartenenti ad un focolaio confermato, sono state raccolte 52 zecche. La specie, lo stadio di sviluppo e il sesso dei parassiti sono stati determinati mediante l'utilizzo delle chiavi morfologiche (Manilla, 1998) con l'ausilio di uno stereomicroscopio. Successivamente, omogenizzazione dei tessuti, è stato estratto il DNA da 9 pool di zecche della stessa specie e dello stesso sesso prelevate

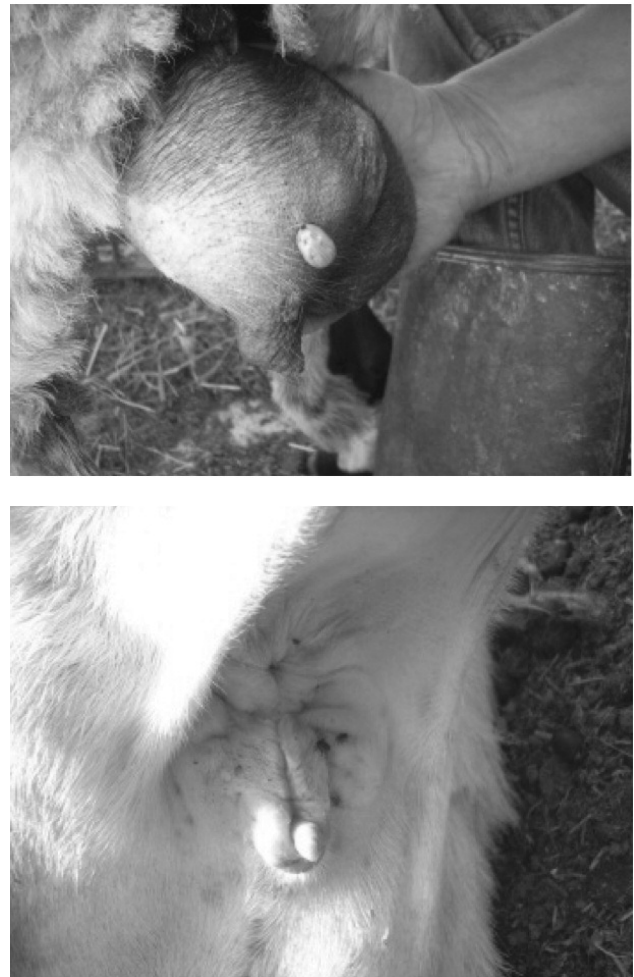


Fig. 1 - Mammella ovina ed area perineale con maschi e femmine ingorgate (*Rhipicephalus bursa*).

dal medesimo animale. Per l'estrazione del DNA è stato impiegato un kit commerciale, InstaGene™ Matrix (Biorad). La ricerca di *Mycoplasma agalactiae* è stata eseguita tramite Real-time PCR, in accordo con Oravcova et al., (2009), utilizzando una regione target specie-specifica del gene P40. Le reazioni sono state condotte utilizzando il termociclatore CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Biorad).

Risultati e considerazioni - Le zecche identificate appartenevano alla famiglia degli Ixodidae, in particolare sono state identificate: n° 42 *Rhipicephalus bursa*, n° 4 *Rhipicephalus sanguineus* e n° 6 *Haemaphysalis punctata*. La Real-time PCR ha confermato la positività di 2 pool di zecche su 9: entrambi gruppi di femmine adulte di *Rhipicephalus bursa*, catturate da due pecore risultate positive al *Mycoplasma agalactiae*, sia per presenza anticorpi che escrezione dell'antigene. I dati ottenuti, seppur legati a due singoli soggetti, indicano il potenziale ruolo di parassiti ematofagi nel mantenimento territoriale e nella diffusione della malattia.

La positività riscontrata nelle zecche, legata a parassiti prelevati da due soggetti clinici da oltre 4 settimane, escluderebbe l'ipotesi di una contaminazione avvenuta in fase "setticemica" da parte del parassita, da un lato rafforza la possibilità di un ruolo attivo che tali artropodi potrebbero costituire nel mantenimento dell'endemismo nel territorio, dall'altro stimola successivi approfondimenti per valutare sia la presenza dell'antigene durante tutta la vita biologica del parassita, sia la sua eventuale trasmissibilità alle generazioni successive (larve e ninfe) come avviene per diverse specie di rickettsie in cui il patogeno può essere trasmesso alla progenie tramite trasmissione trans-ovarica. Il possibile coinvolgimento di questi artropodi quali vettori o ancora, serbatoi della malattia potrebbe spiegare alcuni aspetti epidemiologici legati al particolare endemismo della malattia in alcuni territori.

Molecular investigation of ticks as potential vector of *Mycoplasma agalactiae*

Key words: *Mycoplasma agalactiae*, vector, ticks, Real-Time PCR

Bibliografia

- Hornok, S., Hajtos, I., Meli, M.L., Farkas, I., Gonczi, E., Meili, T., Hofmann-Lehmann, R. (2012), First molecular identification of *Mycoplasma ovis* and 'Candidatus *M. haemoovis*' from goat: with lack of haemoplasma PCR positivity in lice. *Acta Vet. Hung.* (60): 355-360.
- Manilla G. (1998), *Fauna d'Italia, Acari, Ixodida*; Ed. Calderini, Bologna.
- Nayak N. C. and Bhowmik M. K. (1990), Goat flea (order Siphonaptera) as a possible vector for the transmission of caprine mycoplasmal polyarthrits with septicaemia. *Preventive Veterinary Medicine* (9): 259-266.
- Oravcova K., López-Enríquez L., Rodríguez-La'zaro D., Hernández M. (2009), *Mycoplasma agalactiae* p40 Gene, a Novel Marker for Diagnosis of Contagious Agalactia in Sheep by Real-Time PCR: Assessment of Analytical Performance and In-House Validation Using Naturally Contaminated Milk Samples. *J. CLIN. MICROBIOL.* (47): 445-450.
- Taroura, S., Shimada, Y., Sakata, Y., Miyama, T., Hiraoka, H., Watanabe, M., Itamoto, K., Okuda, M., Inokuma, H. (2005), Detection of DNA of 'Candidatus *Mycoplasma haemominutum*' and *Spiroplasma* sp. in unfed ticks collected from vegetation in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* (67): 1277-1279.

Ricerca finanziata dal Ministero della Salute:
RC IZS Si 06/15

Analisi spaziale e fattori di rischio climatici delle infezioni da *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* in allevamenti ovini e caprini del Nord Italia

ZANZANI SA, GAZZONIS AL, VILLA L, MANFREDI MT

Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano

Parole chiave - *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, capre, GIS

Introduzione - L'analisi spaziale applicata a dati epidemiologici è uno strumento che fornisce importanti informazioni per lo studio e l'interpretazione della distribuzione geografica e della diffusione delle infezioni, in quanto permette la comprensione dell'associazione tra queste e le variabili ambientali (Thomson e Connor 2000). Tra le tecniche di analisi spaziale, la *spatial scan statistic*, basata sul calcolo di clusters entro i quali la prevalenza di un'infezione è più frequente, trova particolare impiego nella sorveglianza epidemiologica (Robinson 2000). In particolare, considerando le malattie di origine parassitaria, le tecniche di analisi geospaziale hanno trovato applicazione soprattutto per lo studio di zoonosi o di malattie trasmesse da vettori, mentre sono scarsi i dati relativi alle infezioni di origine protozoaria nei ruminanti domestici in Italia (Fusco et al., 2007). Quindi, con lo scopo di indagare possibili fattori geografici e ambientali in grado di influenzare la distribuzione dei casi di infezione, dati di sieroprevalenza di *T. gondii* e *N. caninum* in ovicaprini allevati in Nord Italia sono stati analizzati con tecniche geospaziali.

Materiali e metodi - Sono stati considerati i dati sierologici di 428 pecore e 414 capre di 39 aziende (Gazzonis et al 2015). La localizzazione delle aziende è stata tracciata tramite Google Earth e le coordinate sono state calcolate mediante KmL2x. Successivamente sono state associate ai dati sierologici e importate in SaTScanTM 9.3 per essere analizzate con il test di Kulldorff che permette di localizzare aggregazioni di aziende (cluster) che presentano un numero elevato di sieropositività statisticamente significative. Un p-value<0,05 associato alla statistica Scan indica un risultato statisticamente significativo, ovvero che nell'area costituita dalle sezioni del cluster il fenomeno della sieropositività, rappresentato dal rischio relativo del cluster, è superiore/inferiore a quello medio aziendale non per effetto del caso. Le variabili età, sistema di allevamento e le dimensioni dell'azienda sono state messe in relazione alla sieropositività applicando il modello di Bernoulli (Kulldorff et al.; Stat Med 2007 26:1824-1833). Infine, è stata effettuata l'analisi statistica sui dati climatici (temperatura e piovosità) ottenuti da WorldClim 1.41. Un database GIS, con informazioni sulla localizzazione

delle aziende, i risultati sierologici e i dati climatici è stato generato tramite QGIS 2.4.0.

Risultati e considerazioni - L'analisi spaziale ha evidenziato una distribuzione eterogenea dei casi di infezione nelle capre e le pecore per entrambi i patogeni. Sulla base dell'analisi dei fattori di rischio le infezioni rilevate di *N. caninum* non sono risultate legate alle variabili climatiche, che sono rimaste escluse dal modello finale. Relativamente a *T. gondii*, l'analisi dei fattori di rischio ha invece successivamente messo in evidenza come l'infezione nei piccoli ruminanti dipendesse dalla temperatura (il range di temperatura intermedio è risultato essere un predittore positivo) e alla piovosità (rischi di infezione cresce all'aumentare dei mm di pioggia). Grazie all'analisi condotta, sono stati identificati fattori anche ambientali in grado di aumentare il rischio di infezione da *T. gondii* nei piccoli ruminanti. Al contrario, l'infezione da *N. caninum* appare legata principalmente alle variabili manageriali. L'analisi geospaziale è uno strumento essenziale per identificare o escludere la presenza di aree ad alto/basso rischio di infezione, valutando poi se una eventuale distribuzione non omogenea dei casi (dovuta a caratteristiche territoriali, zootecniche ed economiche) possa essere ricondotta realmente a caratteristiche geografiche/ambientali o piuttosto ad altri fattori (zootecnici, economici strutturali) che si distribuiscono in maniera non casuale.

Spatial analysis of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in ovine and caprine herds in northern Italy

Key words - *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* goat, GIS

Bibliografia

- Fusco G, Rinaldi L., Guarino A., Proroga Y T R, Pesce A, Giuseppina DM, Cringoli G. 2007. *Toxoplasma gondii* in sheep from the Campania region (Italy). *Veterinary Parasitology* 149: 271-274
- Gazzonis AL, Veronesi F, Di Cerbo AR, Zanzani SA, Molineri G, Moretta I, Moretti A, Fioretti DP, Invernizzi A, Manfredi MT. (2015), *Toxoplasma gondii* in

- small ruminants in Northern Italy - prevalence and risk factors. *Ann Agric Environ Med* 22:62-68.
- Robinson T P 2000. Spatial statistics and geographical information systems in epidemiology and public health. *Adv Parasitol* 47: 81-128.
- Thomson MC, Connor S J. 2000. Environmental information systems for the control of arthropod vectors of disease. *Med Vet Entomol* 14: 227-244.
-

Monitoraggio delle endoparassitosi in allevamenti caprini del nord Italia

ZANZANI SA¹, GAZZONIS AL¹, VILLA L¹, VILLA M², MANFREDI MT¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano; ²Veterinario libero professionista

Parole chiave: Nematodi gastrointestinali, nematodi broncopolmonari, tecnica FLOTAC[®], capra

Introduzione - Le infestazioni endoparassitarie sono per gli allevamenti caprini da latte un importante fattore che interferisce con le condizioni sanitarie, il benessere e le produzioni in termini sia di qualità sia di quantità. Tra i parassiti che più frequentemente colpiscono i caprini, la categoria che incide maggiormente sulle fitness dei piccoli ruminanti è quella dei nematodi gastrointestinali che determinano infestazioni strettamente correlate alla riduzione della quantità di latte prodotto, di grasso e delle proteine. Inoltre, sia i nematodi gastrointestinali sia quelli broncopolmonari interferiscono con il benessere degli animali. Con lo scopo collezionare dati epidemiologici sugli endoparassiti che potessero essere poi utilizzati per migliorare l'approccio gestionale a tali parassitosi sono stati monitorati gli allevamenti caprini lombardi.

Materiali e metodi - In un periodo compreso tra la fine del 2011 e l'inizio del 2013 sono stati campionati 53 allevamenti costituiti principalmente da capre di razza camosciata, Saanen e Nera di Verzasca localizzati tra le provincie di Varese, Bergamo, Brescia e Pavia. Per ogni allevamento sono stati effettuati prelievi di feci su circa 15 capre, appartenenti alle seguenti categorie: 1) caprette, animali di età compresa tra i 2 e gli 8 mesi 8 (n°5), 2) animali al primo ordine di parto (primipare) (n°5); 3) gli animali con più di un ordine di parto (pluripare)(n°5). Complessivamente sono stati raccolti 335 pool di feci costituiti da campioni di materiale fecale prelevato direttamente dall'ampolla rettale di 5 soggetti per ciascuna categoria. Le

feci sono state analizzate con il metodo FLOTAC[®] *dual technique* utilizzando: una soluzione satura di sodio cloruro (p. s.=1200), per visualizzare le uova di Strongylida, *Nematodirus* sp e *Strongyloides* sp, nonché le oocisti di *Eimeria* sp. e le uova di cestodi ed ossiuridi; una soluzione di zinco solfato (p. s.=1350) per rilevare i trematodi, le larve di nematodi broncopolmonari e le uova di *Trichuris* sp. Di ogni taxon parassitario rilevato sono state calcolate la prevalenza e l'abbondanza (espressa in uova/larve per grammo di feci, UPG/LPG), con l'eccezione di cestodi, ossiuridi e coccidi, di cui è stata determinata la sola prevalenza. Oltre alla fascia d'età degli animali campionati, sono anche stati registrati la presenza/assenza di pascolo e la stagione di campionamento.

Risultati e considerazioni - Gli animali allevati in assenza di pascolo sono parassitati principalmente da nematodi del genere *Strongyloides*, *Trichuris* e *Skrjabinema* con valori di prevalenza comparabili o più elevati rispetto a quelli degli animali al pascolo. In questi ultimi ovviamente la parassitofauna appare molto più ricca di taxa. I protozoi del genere *Eimeria* appaiono diffusi in tutti i soggetti indipendentemente dall'età, dal periodo di campionamento e dalla tipologia di allevamento. Dai risultati ottenuti emerge che gli Strongylida, che comprendono le specie abomasali e intestinali importanti sul piano sanitario ed economico, sono i parassiti più abbondanti negli allevamenti esaminati (UPG_{media} =627,03) e si riscontrano picchi di emissione individuale fino a 9626 UPG. Elevate emis-

Taxa parassitari	Prevalenza (%)	Abbondanza (UPG/LPG)	
		Media (DS)	Min-Max
Strongylida	63,58	627,03 (1222,47)	0-9626
<i>Strongyloides</i> sp	34,92	60,38 (327,32)	0-4528
<i>Nematodirus</i> sp	14,32	1,71 (8,13)	0-100
<i>Trichuris</i> sp	37,31	20,19 (95,65)	0-1208
<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	1,49	0,08 (0,76)	0-12
L1 <i>Protostrongylidae</i>	21,49	7,73 (52,64)	0-912
<i>Eimeria</i> sp	100	-	-
<i>Skrjabinema</i> sp	52,23	-	-
<i>Moniezia</i> sp	14,32	-	-

sioni individuali sono state, inoltre, osservate per *Strongyloides* (4528 UPG), *Trichuris* (1208 UPG) e larve di nematodi broncopulmonari (912 LPG). Considerando l'età dei soggetti, l'escrezione di uova di Strongylida è crescente dalle caprette alle pluripare che presentano valori medi di 982,6 UPG e il più elevato valore di emissione individuale; tuttavia anche negli animali giovani sono stati riscontrati soggetti con elevati valori di emissione individuale.

Riguardo al periodo di campionamento, i prelievi effettuati nel periodo primaverile sono risultati con i valori di upg più elevati per gli Strongylida ($UPG_{media} = 1083,83$). Infine, anche le cariche sono risultate significativamente più elevate negli animali al pascolo.

Nel complesso, i risultati ottenuti rilevano l'importanza del monitoraggio parassitologico sugli allevamenti caprini lombardi. In particolare, sarebbe auspicabile studiare protocolli di trattamento che tutelino le capre

adulte durante i periodi di maggior pressione parassitaria (stagione primaverile-estiva) e nel contempo interferiscano il meno possibile con i normali cicli produttivi della capra (va ricordata la stagionalità riproduttiva della capra, con il picco di lattazione, e quindi di guadagno per l'allevatore, proprio nei mesi critici).

Monitoring of endoparasites in goat farms from northern Italy

Key words: gastrointestinal nematodes, bronchopulmonary nematodes, FLOTAC® technique, goats

Bibliografia

Cringoli G. (2006), FLOTAC, a novel apparatus for a multivalent faecal egg count technique. *Parassitologia*. 48(3): 381-4.

XXIII
CONGRESSO
NAZIONALE
SIPAOC

POSTER

Assistenza tecnica negli allevamenti di capre da latte: le priorità degli allevatori

BAILO G¹, BATTINI M¹, COLOMBINI S², PIROVANO L², RAPETTI L², TAMBURINI A², ZUCALI M², BRUNI G³, CACCIATORI V³, STRADIOTTO K³, ZANATTA G³, MATTIELLO S¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Milano; ²Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali - Produzione, Territorio, Agroenergia, Università degli Studi di Milano; ³Associazione Regionale Allevatori Lombardia

Parole chiave - allevamento caprino, opinione degli allevatori, nutrizione, caseificazione

Introduzione - Il settore dell'allevamento caprino da latte in Lombardia è una realtà in espansione (Pieri e Pretolani, 2015), che spesso coinvolge giovani operatori, a volte provenienti da settori diversi da quello agricolo-zootecnico, che intraprendono *ex novo* questa attività con grande entusiasmo, ma scarse competenze tecnico-gestionali. Al fine di divulgare e fornire agli allevatori elementi di conoscenza e strumenti innovativi per valorizzare e rendere più efficiente la gestione dell'allevamento caprino, nell'ambito del Programma di Sviluppo Rurale 2014-2020 della Regione Lombardia è stato avviato il Progetto "DEMOCAPRA", nel quale gli allevatori giocano un fondamentale ruolo attivo.

Materiali e metodi - Durante il seminario di lancio del Progetto, è stata proposta ai 31 allevatori presenti (principalmente uomini al di sotto dei 40 anni, trasformatori di latte) una lista di 34 tematiche di potenziale interesse da approfondire durante il Progetto, al fine di individuare quelle ritenute più importanti. È stato chiesto di attribuire ad ogni tematica un grado di importanza a cui successivamente è stato associato un punteggio da 1 a 4: 4 = moltissima; 3 = molta; 2 = abbastanza; 1 = scarsa. In caso di mancata risposta è stato attribuito il punteggio 0. Per ogni tematica è stato quindi calcolato un Indice di Importanza Relativa (IIR), espresso dal rapporto percentuale tra la somma del punteggio totalizzato dalla tematica diviso per il punteggio massimo ottenibile (31 questionari x 4 = 124 punteggio max). Sono state, inoltre, raccolte segnalazioni su possibili ulteriori tematiche da approfondire.

Risultati e considerazioni - Le tematiche relative all'alimentazione del gregge e alla valutazione della qualità dei foraggi sono risultate di grande interesse per gli allevatori (Tab. 1). Coerentemente con l'elevata presenza di allevatori che producono formaggio direttamente in azienda, un punteggio elevato è stato dato al tema della produzione in sicurezza dei formaggi a latte crudo, con particolare attenzione alla prevenzione dei difetti in fase di stagionatura. Allo stesso tempo va evidenziata l'esigenza degli allevatori di implementare il controllo degli aspetti economici legati alla gestione aziendale e alla

promozione delle produzioni. La richiesta di approfondimenti su queste aree tematiche (alimentazione, trasformazione, marketing ed economia) può essere collegata alla relativa inesperienza degli allevatori presenti. Un buon punteggio è stato attribuito alla valutazione della condizione corporea della capra (BCS), elemento fondamentale sia per la gestione dell'alimentazione, sia per il monitoraggio del livello di benessere animale. Le altre tematiche inerenti il benessere animale (miglioramento del rapporto uomo-animale e uso di arricchimenti ambientali) si sono collocate in posizioni medio-basse della graduatoria, nonostante il crescente coinvolgimento della società verso questa tematica. L'altra grande tematica emergente, verso la quale l'opinione pubblica mostra un forte interesse, è quella della sostenibilità ambientale (es. riduzione dei consumi energetici, allevamento in regime biologico), che però non sembra particolarmente importante per gli allevatori. Ulteriori tematiche emerse in seguito alla discussione hanno riguardato la mono-mungitura e la lattazione prolungata.

Le informazioni raccolte con la presente indagine verranno debitamente tenute in considerazione durante il corso del Progetto per la scelta degli argomenti da approfondire. Verranno, inoltre, promosse le tematiche relative a benessere e sostenibilità ambientale, per aumentare la consapevolezza degli allevatori sulla loro importanza anche ai fini del marketing dei prodotti.

Technical advice in dairy goat farms: farmers' priorities

Key words: goat farming, farmers' opinion, nutrition, cheese production

Bibliografia

Pieri R., Pretolani R. (2015) Il sistema agro-alimentare della Lombardia. Rapporto 2015.

Tab. 1 - Indice di Importanza Relativa (IIR) e posizione in classifica per ogni tematica proposta

	IIR	Class.
Alimentazione della capra e della capretta nelle diverse fasi del ciclo produttivo	84%	1°
Produrre formaggi a latte crudo in sicurezza	81%	2°
Marketing: azioni per la valorizzazione dei prodotti	76%	3°
Valutazione della qualità dei foraggi	75%	4°
Valutazione economica dell'azienda (bilancio aziendale)	75%	5°
Prevenire i difetti dei formaggi	74%	6°
Valutazione della condizione corporea(BCS)	74%	7°
Alimentazione e inversione grasso/proteine del latte	73%	8°
Impiego degli innesti naturali per la produzione di formaggi	73%	9°
Integrazione minerale e vitaminica della dieta	73%	9°
Diminuire la quantità di alimenti acquistati	72%	10°
Scegliere i soggetti per la rimonta	72%	12°
Ottimizzazione dell'impiego dell'Inseminazione Artificiale	70%	13°
Gestione dei parti	69%	14°
Routine di mungitura	68%	15°
Operazioni di sanificazione in stalla (box, abbeveratoi, silos, ecc.)	67%	16°
Progettazione fienile ventilato per la conservazione di foraggi e alimenti	67%	17°
Gestione degli animali al pascolo	65%	18°
Procedure di sanificazione dell'impianto di mungitura	65%	19°
Progettazione della capretteria	63%	20°
Miglioramento del rapporto uomo-animale	61%	21°
Allevamento biologico della capra da latte	60%	22°
Diminuire i consumi energetici (gasolio, elettricità...)	60%	23°
Uso di arricchimenti ambientali (nicchie di riposo, zone sopraelevate...)	59%	24°
Contenimento degli endoparassiti mediante uso di tannini	57%	25°
Dimensionamento delle strutture	57%	26°
Gestione della destagionalizzazione e pianificazione dei parti	57%	27°
Presenza/utilizzo del paddock	56%	28°
Pareggiamento degli unghioni e zoppie	55%	29°
Stoccaggio e trattamento delle deiezioni e degli effluenti	55%	30°
Progettazione dei ricoveri per i becchi	53%	31°
Conoscere e gestire la stagionalità della capra	53%	32°
Operazioni di decornazione	53%	33°
Posizionamento delle mangiatoie	53%	34°

Endoparassiti in ovini e caprini allevati in promiscuità in provincia di Catanzaro

CASTAGNA F¹, BRITTI D¹, CRINGOLI G², BOSCO A², RINALDI L², VONO M¹, BILOTTA M¹, POERIO A¹, MUSELLA V¹

¹Dipartimento di Scienze della Salute - CIS-VetSua, Università di Catanzaro Magna Graecia, Italia; ²Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università di Napoli Federico II, CREMOPAR Regione Campania, Italia.

Parole chiave - endoparassiti, ovini, caprini, FLOTAC.

Introduzione - Nell'allevamento di ovini e caprini dell'Italia meridionale i parassiti rappresentano uno dei principali limiti alle produzioni e determinano un peggioramento delle caratteristiche nutrizionali del latte, con una diminuzione di contenuto di grassi, proteine e lattosio.

Poiché le conoscenze sulla diffusione dei parassiti in ovini e caprini allevati congiuntamente al pascolo sono carenti nella Regione Calabria, lo scopo di questo studio è stato quello di acquisire dati recenti sulla prevalenza degli endoparassiti degli ovini e dei caprini allevati in promiscuità sui pascoli collinari nella provincia di Catanzaro.

Materiali e metodi - La ricerca è stata condotta, nel periodo febbraio/aprile 2017, in 30 allevamenti di tipo semiestensivo, con ovini e caprini allevati in promiscuità sui pascoli collinari della fascia ionica della provincia di Catanzaro (altitudine media 398 mt *s.l.m.*). Dall'analisi dei dati presenti in BDN abbiamo individuato le aziende nell'area di studio con almeno 20 ovini e 20 ca-

prini (62 in totale). Sulla base della disponibilità degli allevatori e in relazione agli ultimi trattamenti antiparassitari effettuati, abbiamo selezionato 30 allevamenti con ovi-caprini allevati allo stato semibrado con pascoli e ricoveri condivisi e con capi non sottoposti a trattamenti antiparassitari da almeno 6 mesi. Nelle aziende selezionate sono stati effettuati esami copromicroscopici su 40 capi, 30 su animali adulti (15 ovini e 15 caprini) e 10 da animali da rimonta (5 ovini e 5 caprini). In totale sono stati prelevati ed analizzati 1200 campioni individuali di *copros* (600 per specie).

Per gli esami copromicroscopici è stata utilizzata la *FLOTAC dual techniques*, con due soluzioni di flottazione: la S2 (Soluzione satura di Cloruro di Sodio - peso specifico 1.200) e la S7 (Zinco Solfato - peso specifico 1.350).

Risultati e considerazioni - I risultati sono sintetizzati nelle tabelle seguenti, dove si riportano, per ovini e caprini: la specie e/o il gruppo di parassiti, il numero delle aziende positive, le prevalenze parassitarie (I.C. 95%), l'intensità parassitaria media espressa in uova/larve/oo-

Elementi Parassitari	OVINI (N° AZIENDE 30/N° CAPI=600)		
	Aziende Positive	Prevalenza (I.C. 95 %)	Intensità media
Strongili gastrointestinali	30	100 (85.87-99.70)	378 UPG
<i>Nematodirus</i> spp.	15	50 (31.68-68.32)	4 UPG
<i>Strongyloides</i> spp.	17	56.67 (37.66-74.02)	6 UPG
Strongili broncopolmonari	16	63.33 (43.91-79.46)	16 LPG
<i>Skrjabinema ovis</i>	1	3.33 (0.17-19.05)	1 UPG
<i>Trichuris ovis</i>	7	23.33 (10.63-42.70)	2 UPG
<i>Calichophoron daubneyi</i>	4	13.33 (4.36-31.64)	1 UPG
<i>Fasciola hepatica</i>	1	3.33 (0.17-19.05)	11 UPG
<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	9	30 (15.41-49.56)	2 UPG
<i>Eimeria</i> spp.	28	93.33 (76.49-98.84)	214 OPG
<i>Moniezia</i> spp.	21	70 (50.44-84.59)	/

Elementi Parassitari	CAPRINI (N° AZIENDE 30/N° CAPI=600)		
	Aziende Positive	Prevalenza (I.C. 95 %)	Intensità media
Strongili gastrointestinali	30	100 (85.87-99.70)	648 UPG
<i>Nematodirus</i> spp.	19	63.33 (43.91-79.46)	7 UPG
<i>Strongyloides</i> spp.	19	63.33 (43.91-79.46)	11 UPG
Strongili broncopolmonari	21	70 (50.44-84.59)	19 LPG
<i>Skryabinema ovis</i>	5	16.77 (6.30-35.45)	1 UPG
<i>Trichuris ovis</i>	20	66.67 (47.14-82.06)	11 UPG
<i>Calichophoron daubneyi</i>	4	13.33 (4.36-31.64)	2 UPG
<i>Fasciola hepatica</i>	1	3.33 (0.17-19.05)	14 UPG
<i>Dicrocoelium dendriticum</i>	9	30 (15.41-49.56)	3 UPG
<i>Eimeria</i> spp.	28	93.33 (76.49-98.84)	432 OPG
<i>Moniezia</i> spp.	13	43.33 (25.98-62.34)	/

cisti per grammi di feci (UPG, LPG, OPG) e la positività ai Cestodi.

Questi risultati evidenziano come i caprini siano più sensibili degli ovini alle infezioni parassitarie e confermano come le parassitosi dei piccoli ruminanti continuino a costituire una problematica sanitaria diffusa sul territorio. Le prevalenze osservate confermano inoltre che gli animali che vivono in condizioni naturali hanno maggiori probabilità di contrarre parassiti rispetto a quelli allevati in stabulazione fissa e sottolineano la necessità di adottare strategie di controllo più efficaci negli allevamenti della Provincia di Catanzaro. Dallo studio emerge infatti che i trattamenti antielmintici vengono effettuati mediamente una sola volta all'anno, senza alcuna diagnosi parassitologica e a dosaggi frequentemente sottostimati, soprattutto nelle capre che spesso sono considerate simili alle pecore e trattate con gli stessi dosaggi di farmaco antielmintico. Questo *modus operandi*, a nostro avviso, renderebbe inefficace il trattamento antiparassitario e potrebbe favorire nel tempo la diffusione nei pascoli di uova di nematodi resistenti a una più classi di farmaci. Quanto emerso da questa ricerca, dovrebbe pertanto rappresentare un punto di partenza per la pianificazione di programmi di controllo e monitoraggio delle parassitosi dei piccoli ruminanti nella Provincia di Catanzaro, in quanto solo con il controllo costante delle parassitosi, previa dia-

gnosi e trattamenti antielmintici adeguati, potrà essere garantito un buon livello di benessere animale con incremento delle produzioni e conseguentemente del reddito aziendale.

Endoparasites of sheep and goats bred in promiscuity in the Catanzaro province

Key Words - endoparasites, sheep, goats, FLOTAC technique

Bibliografia

- Musella, V., Catelan, D., Rinaldi, L., Lagazio, C., Cringoli, G., Biggeri, A., 2011. Covariate selection in multivariate spatial analysis of ovine parasitic infection. *Prev. Vet. Med.* 99, 69–77.
- Rinaldi, L., Veneziano, V., Cringoli, G., 2007. Dairy goat production and the importance of gastrointestinal strongyle parasitism. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 101, 745–746.
- 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.* 2010 Mar; 5(3):503-15. doi: 10.1038/nprot.2009.235.

Studio della termografia nel vicino infrarosso (IRT) per l'applicazione in campo nella diagnosi rapida di mastite subclinica in ovini da latte

DI BENEDETTO R¹, MERLA A², SAGRAFOLI D³, GIACINTI G³, AMATISTE S³, VIGNOLA G¹

¹Facoltà di Medicina Veterinaria-Università di Teramo; ²Dip. di Neuroscienze, Imaging e Scienze Cliniche - Università degli Studi G. D'Annunzio di Chieti-Pescara; ³Istituto Zooprofilattico del Lazio e della Toscana M. Aleandri - Centro di Referenza Nazionale per la Qualità del Latte e dei Prodotti derivati degli ovini e dei caprini

Parole chiave - mastite subclinica, termografia, ovino da latte

Introduzione - Le infezioni intramammarie rappresentano uno dei più importanti problemi sanitari e gestionali nelle greggi di ovini da latte (Contreras et al. 2007). Il 95% di questa patologia è in forma subclinica la cui diagnosi può essere effettuata utilizzando diversi metodi sebbene il contenuto in cellule somatiche rappresenti lo strumento migliore nei programmi di controllo dello stato sanitario delle mammelle negli ovini.

Nella mammella, il processo infiammatorio induce una variazione della temperatura superficiale che può essere evidenziato mediante IRT (Martins et al. 2013), direttamente in campo per la diagnosi rapida delle mastiti subcliniche.

L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare l'utilizzo della termografia nella diagnosi precoce di mastite subclinica nell'allevamento ovino da latte.

Materiali e metodi - Nel periodo feb-mar 2016, sono state selezionate 48 pecore di razza Sarda, senza segni clinici di mastite e/o altre patologie, che si trovavano al 2° mese di lattazione e dopo la separazione dagli agnelli. Eseguita una valutazione clinica e morfologica della mammella (secondo una scala lineare prevista per la razza Sarda: TP, impianto capezzolo; UD: altezza cisterna rispetto al garretto; DS: profondità del solco; SU: attacco della mammella) sono stati effettuati campioni sterili di latte di emimammella per la determinazione del SCC (Fossomatic FC) e la ricerca di agenti mastidogeni (FIL-IDF 1981). Sono state considerate sane le emimammelle con SCC <500.000/ml e negative al batteriologico mentre affette da mastite subclinica le emimammelle con SCC >500.000/ml e positive ad agenti mastidogeni. Sulla base dei risultati ottenuti, i soggetti sono stati suddivisi in 3 gruppi: gruppo T0, pecore con entrambe le emimammelle sane; gruppo T1 soggetti con entrambe le emimammelle infette; gruppo T2 soggetti che presentavano una emimammella sana e la controlaterale affetta da mastite. Alla mungitura della mattina per 7 giorni consecutivi, le emimammelle asciutte e pulite, di ciascuna pecora, sono state sottoposte a rilievo termografico (Termocamera IR- vet 420sc) prima e dopo la mungitura e a prelievo di latte. Per ogni emimammella è stata registrata la Temperatura (T) di quattro aree (due

superiori e due inferiori) e quindi elaborata una Temperatura media (T_m), una minima (T_{min}) e una massima (T_{max}). Sono state valutate le differenze di temperatura tra i gruppi e le emimammelle considerate. Per l'analisi statistica è stato utilizzato il pacchetto SPSS (GmbH, Munich, Germany) e i dati sottoposti preliminarmente al test della normalità di Kolomogory-Smirnov.

Risultati e considerazioni - Dal rilievo termometrico delle 519 emimammelle (257 dx e 262 sx), è stata evidenziata una T media più bassa (P<0.05) nei quadranti inferiori delle emimammelle con mastite subclinica rispetto alla stessa area di quelle sane, mentre tra i quadranti superiori non sono emerse differenze (P>0.05) pur segnalando una T inferiore nelle emimammelle infette (Tab.1). Similarmente, Castro-Costa et al. (2014) hanno osservato temperature minori, anche se non significative, in emimammelle infette rispetto a quelle sane. Allo stesso modo Alejandro et al. (2014) in capre da latte, al fine di valutare gli effetti della mungitura meccanica sulla mammella, osservarono temperature cutanee più basse in emimammelle con mastite rispetto a quelle sane. Diversamente, in uno studio in pecore da carne, Martins et al. (2013) hanno evidenziato temperatura significativamente più alte ove era presente uno stato di mastite subclinica.

Di particolare interesse è risultata la valutazione morfologica della mammella dove la profondità del solco mammario (DS) è risultato significativamente minore (P<0,01) nei soggetti con mastite subclinica bilaterale rispetto alle altre due categorie considerate, mentre non sono state apprezzate differenze per gli altri caratteri valutati (TP, UD SU).

Da questo studio preliminare è stata evidenziata una potenzialità dell'IRT nella diagnostica rapida della mastite subclinica anche se i risultati ottenuti necessitano di ulteriori approfondimenti per una concreta applicazione di questo strumento nella pratica di allevamento. In aggiunta si conferma la relazione tra morfologia della mammella e la suscettibilità all'insorgenza della mastite, sottolineando la necessità d'impostare corrette strategie di prevenzione anche attraverso un miglioramento genetico per i caratteri d'interesse.

Tab. 1 - T (°C) medie, min e max, dei 2 quadranti in relazione allo stato sanitario

	Stato sanitario a livello di emimammella		P
	Sane	Mastite subclinica	
N°	313	206	
SCC x1000/ml (media)	135	4081,8	*
T°media Quadrante Inferiore	32,4	32	*
T°max Quadrante Inferiore	33	32,7	*
T°min Quadrante Inferiore	31,6	31,2	*
T°center Quadrante Inferiore	32,4	32	*
T°media Quadrante Superiore	33,1	32,9	ns
T°max Quadrante Superiore	33,9	33,7	ns
T°min Quadrante Superiore	31,9	31,8	ns
T°center Quadrante Superiore	32,3	31,2	*

* = P < 0.05

Study of infrared thermography for field application in the early detection of subclinical mastitis in dairy sheep

Key words - subclinical mastitis, infrared thermography, dairy sheep

Bibliografia

Contreras A. et al. 2007. Mastitis in small ruminants. *Small Ruminant Research* 68 (2007) 145-153.

Castro-Costa A. et al. 2014. Thermographic variation of the udder of dairy ewes in early lactation and following an *E. coli* endotoxin intramammary challenge in late lactation. *J D. S.* V 97(3):1377-87

Martins RFS et al. 2013. Mastitis detection in sheep by infrared thermography. *Research in Vet Science.* V. 94:722-724

Alejandro M. et al. 2014. Study of ultrasound scanning as method to estimate changes in teat thickness due to machine milking in Manchega ewes. *Small Rum Res.* V.119 (1-3): 138-145.

Identificazione genome-wide delle copy number variations nella razza caprina Girgentana

DI GERLANDO R, MASTRANGELO S, SUTERA AM, TOLONE M, PORTOLANO B, SARDINA MT

Dipartimento Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali, Università degli Studi di Palermo

Parole chiave - CNVs, geni candidati, SNPs, Girgentana

Introduzione - Numerosi studi hanno dimostrato che le copy number variations (CNVs) sono ampiamente distribuite nel genoma umano ed in quello di numerose specie di interesse zootecnico (Redon et al., 2006, Clop et al., 2012). Le CNVs vengono definite come segmenti di DNA, di lunghezza compresa fra 50 pb e numerose megabasi (Mb), con un numero variabile di copie rispetto ad un genoma di riferimento (Mills et al., 2011). Esse rappresentano una fonte di variabilità genetica, giocano un ruolo importante nella diversità fenotipica e sono state associate nelle specie zootecniche a caratteri complessi come il colore del mantello (Clop et al., 2012) ed alcuni caratteri produttivi e riproduttivi (Kadri et al., 2014).

L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di identificare le CNVs nella razza caprina Girgentana utilizzando i dati provenienti da polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs).

Materiali e metodi - Lo studio è stato condotto su 36 individui di razza Girgentana genotipizzati con il GoatSNP50 BeadChip Illumina che contiene 53.347 SNPs distribuiti sul genoma caprino. Con il software GenomeStudio 2.0 (Illumina) sono stati eliminati gli SNPs non mappati e mappati sui cromosomi sessuali. Il dataset finale conteneva i valori di Log R Ratio (LRR) e B Allele Frequency (BAF) relativi a 50.619 SNPs autosomici per ognuno dei 36 individui. Il software PennCNV (Wang et al., 2007) è stato utilizzato per chiamare le CNVs attraverso un Hidden Markov Model. I filtri applicati dopo la chiamata delle CNVs hanno eliminato tutti i campioni che presentavano una deviazione standard di LRR >0,30, un valore di BAF drift >0,10 e un valore del Waviness Factor (WF) - 0,05 > WF > 0,05. Le regioni contenenti CNVs (CNVRs) sono state determinate aggregando le CNVs che si sovrapponevano e che erano presenti in almeno due individui come riportato da Redon et al. (2006). Infine, è stato utilizzato il browser Genome Data Viewer, relativo all'assemblaggio ARS1 del genoma caprino (GCA_001704415.1), per identificare i geni localizzati all'interno delle CNVRs o parzialmente sovrapposti alle stesse.

Risultati e considerazioni - Sono state identificate 230 CNVs in 35 individui, di cui 175 duplicazioni e 55 de-

lezioni, con una lunghezza media di 218,71 kb. Aggregando le CNVs, sono state identificate 73 CNVRs di cui 31 duplicazioni, 40 delezioni e 2 miste (duplicazioni e delezioni contemporaneamente). La lunghezza totale delle 73 CNVRs era 15,81 Mb che corrisponde circa allo 0,54% del genoma caprino. Sul totale delle 73 CNVRs, 48 sono state identificate in un solo animale con una frequenza ~2,8%, le altre con una frequenza compresa fra 5,7% (in 2 individui) e 80% (in 28 individui). All'interno di alcune CNVRs sono stati identificati geni noti in letteratura perchè presentano CNVs. Tra questi sono stati identificati geni responsabili della colorazione del mantello, come *agouti signaling protein (ASIP)* sul cromosoma 13 (Fontanesi et al., 2009) ed *endothelin receptor type A (EDNRA)* sul cromosoma 17 (Menzi et al., 2016); geni appartenenti alla famiglia dei recettori olfattivi, sui cromosomi 15 e 23, che permettono di identificare odori e stimoli esterni necessari per l'alimentazione, per il riconoscimento della prole, per evitare i pericoli e che è noto nei bovini presentare CNVs (Qanbari et al., 2014). Infine, sono stati identificati geni presenti all'interno del complesso maggiore di istocompatibilità (*major histocompatibility complex, MHC*), sul cromosoma 23, come *DRB3* e *DQA1*, noti anche questi per presentare CNVs nella specie bovina (Prinsen et al., 2017) e coinvolti nei meccanismi di resistenza e risposta immunitaria dell'animale. Questa analisi preliminare ha portato all'identificazione di alcune CNVRs nella razza caprina Girgentana tramite l'utilizzo dei genotipi degli SNPs presenti sul GoatSNP50 BeadChip Illumina. Ulteriori analisi saranno condotte per validare le CNVs, con altri software e con altre tecnologie molecolari, e su altre razze caprine autoctone, per comprendere, tra le altre cose, quale potrebbe essere il loro ruolo nell'adattamento ambientale.

Genome-wide identification of copy number variations in Girgentana goat breed

Key words - CNVs, candidate genes, SNPs, Girgentana

Bibliografia

Clop A, Vidal O, Amills M (2012) Copy number variation in the genomes of domestic animals. *Animal*

-
- Genetics 43:503-517.
- Fontanesi L, Beretti F, Riggio V, et al (2009) Copy number variation and missense mutations of the agouti signaling protein (ASIP) gene in goat breeds with different coat colors. *Cytogenet Genome Research* 126:333-347.
- Kadri, N.K., Sahana, G., Charlier, C., et al. (2014) A 660-Kb deletion with antagonistic effects on fertility and milk production segregates at high frequency in nordic red cattle: additional evidence for the common occurrence of balancing selection in livestock. *PLoS Genet.* 10: e1004049.
- Menzi, F., Keller, I., Reber, I., et al. (2016) Genomic amplification of the caprine EDNRA locus might lead to a dose dependent loss of pigmentation. *Scientific Reports* 6:28438.
- Mills RE, Walter K, Stewart C, et al. (2011) Mapping copy number variation by population-scale genome sequencing. *Nature* 470:59-65.
- Prinsen RTMM, Rossoni A, Gredler B, et al. (2017) A genome wide association study between CNVs and quantitative traits in Brown Swiss cattle. *Livestock Science* 202:7-12.
- Qanbari S, Pausch H, Jansen S, et al. (2014). Classic selective sweeps revealed by massive sequencing in cattle. *PLoS Genetics* 10:e1004148.
- Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, et al. (2006) Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 444:444-454.
- Wang K, Li M, Hadley D, et al. (2007) PennCNV: an integrated hidden Markov model designed for high-resolution copy number variation detection in whole-genome SNP genotyping data. *Genome Research* 17:1665-1674.
-

Sensi artificiali e *data fusion* per la valutazione delle modificazioni di colore e odore del formaggio *Pecorino* a seguito dell'inclusione di derivati agrumari nella dieta ovina

DI ROSA AR¹, LEONE F¹, CHIOFALO V²

¹Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Messina; ²Dipartimento di Scienze Chimiche, Biologiche, Farmaceutiche ed Ambientali, Università degli Studi di Messina

Parole chiave - formaggio pecorino, naso elettronico, occhio elettronico, *sensor fusion*

Introduzione - La valorizzazione dei prodotti tipici, passa, oggi, dalla riduzione dell'impatto ambientale e dall'applicazione di un'economia circolare anche attraverso il recupero di sottoprodotti agroindustriali e l'utilizzazione della loro componente nutraceutica (Di Rosa et al, 2015). In quest'ottica, obiettivo del lavoro è stato quello di definire un panel artificiale utilizzando una piattaforma strumentale composta da naso e occhio elettronici (Cevoli et al., 2011) per la valutazione del trend delle modificazioni di ordine sensoriale, quali colore e odore, del pecorino prodotto a partire da latte di animali alimentati con diete integrate con derivati agrumari.

Materiali e metodi - Per la prova sono state utilizzate 48 pecore di razza Comisana, suddivise in due gruppi omogenei, rispettivamente gruppo Controllo (C) e gruppo Orange (O). Quest'ultimo gruppo riceveva, rispetto al C, un'integrazione, nella dieta, del 4% di melasso di limone e 10% di polpe di arancia essiccata. Ogni mese caseificazioni separate venivano effettuate per ciascun gruppo. Forme intere di formaggio pecorino (60 giorni di stagionatura), venivano prelevate e, in laboratorio, conservate a +4°C, per la valutazione delle modifiche del colore e dell'odore. I campioni sono stati analizzati nei giorni: 1, 7 e 14. **Occhio elettronico** - Per la valutazione del colore dei campioni, è stato utilizzato un sistema di acquisizione d'immagini computerizzato (Iris Visual Analyser 400, Alpha M.O.S., Toulouse, France) equipaggiato con camera CCD. I colori estratti sono stati espressi in codici di colore, nello spazio di R, G, e B, secondo la frequenza distributiva relativa all'intera superficie dell'immagine (Wu, Sun, 2013). **Naso elettronico** - Per la valutazione della componente volatile è stato utilizzato un naso elettronico (FOX 4000, Alpha M.O.S., Toulouse, France) equipaggiato con 18 sensori MOS. Per l'analisi, 2g di campione sono stati inseriti in vials per spazio di testa da 10mL. Ciascun campione è stato incubato per 30 min a T 50°C con acquisizione del segnale di 120 s. **Analisi statistiche** - **Data fusion** - Allo scopo di ottenere un risultato unico, comprendente tutti i parametri indagati, le informazioni provenienti dalle strumentazioni complementari sono state "fuse" statisticamente. Una volta acquisiti tutti gli

input strumentali, sottoposti preventivamente ad ANOVA (XLStat, 2007), si è proceduto ad Analisi delle Componenti Principali (PCA) per la riduzione delle variabili, per mezzo del software in dotazione strumentale AlphaSoft (v14.1).

Risultati e considerazioni - **Occhio elettronico** - Il colore è risultata la componente più influente sulla discriminazione dei due tipi di formaggio durante la conservazione. Questo, infatti, all'analisi delle componenti principali, non ha manifestato alcuna differenza significativa al giorno 1 (DI=-4), separando, invece i due gruppi sia al giorno 7 (DI=87) che al giorno 14 (DI=99). **Naso elettronico** - In merito all'odore, il momento critico che fa differire i due gruppi di campioni si evidenzia al giorno 7 (DI=81), mentre al giorno 1 e al giorno 14 non si evidenziano differenze (DI=-2 e DI=-30 rispettivamente). **Data fusion** - Una volta fusi i risultati provenienti dai singoli strumenti, questi si potenziano e i due gruppi vengono differenziati fin dall'inizio. L'interpretazione dinamica del plot della PCA (grafico 1), evidenzia che, nel corso del tempo durante la conservazione,

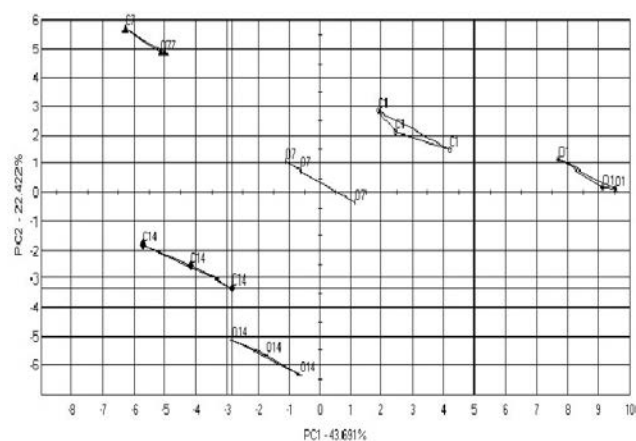


Grafico 1 - PCA plot dinamico della data fusion tra sensori MOS e codici RGB nei differenti giorni di conservazione. O1: gruppo Orange giorno 1; O7: gruppo Orange giorno 7; O14: gruppo Orange giorno 14; C1: gruppo Controllo giorno 1; C7: gruppo Controllo giorno 7; C14: gruppo Controllo giorno 14.

i due gruppi di formaggi hanno seguito lo stesso andamento delle modificazioni di colore e odore.

In un percorso di valorizzazione dei prodotti, in cui la caratterizzazione sensoriale gioca un ruolo fondamentale, tali risultati possono contribuire alla definizione di nuove *fingerprint* che vedono l'utilizzo dei sottoprodotti agroindustriali quali marker identificativi di filiere sostenibili.

Colour and odour changes during storage of Pecorino cheese as affected by inclusion of citrus byproducts in sheep's diet: evaluation through artificial senses and data fusion analysis

Key words - pecorino cheese, e-nose, computer vision, sensorial assessment.

Bibliografia

- Cevoli C., Cerretani L., Gori A., Caboni M.F., Gallina Toschi T., Fabbri A. (2011) Classification of Pecorino cheeses using electronic nose combined with artificial neural network and comparison with GC-MS analysis of volatile compounds. *Food Chemistry*, 129: 1315-1319
- Di Rosa A.R., Liotta L., Margiotta A., Vasi S., D'Alessandro A., Chiofalo V., Zumbo A. (2015) Utilization of lemon molasses and dry orange pulp in dairy ewes feeding during the first stage of lactation: effect on milk quality. *Italian Journal of Animal Science*, 14 (1): 92.
- Wu Di and Sun Da-Wen (2013) Colour measurements by computer vision for food quality control. A review. *Trends in Food Science & Technology*, 29: 5-20.
- XLSTAT 2017: Data Analysis and Statistical Solution for Microsoft Excel. Addinsoft, Paris, France (2017)

PON02_00451_3362376 (Bio4Bio). CUP
B61C12000910005.

Nuovi approcci per la diagnosi degli strongili broncopolmonari negli ovini

IANNIELLO D, MAURELLI MP, BOSCO A, PEPE P, AMADESI A, ME MORGOGNONE, M SANTANIELLO, CRINGOLI G, RINALDI L

Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università di Napoli Federico II

Parole chiave - ovini, Mini-FLOTAC, FLOTAC, Baermann, strongili broncopolmonari

Introduzione - Gli strongili broncopolmonari sono un gruppo di nematodi appartenenti a generi e specie differenti che si localizzano a livello delle vie aeree, causando lesioni anche molto gravi, con casi di mortalità soprattutto tra i giovani animali. Tali parassiti hanno ricevuto maggiore interesse nella pratica clinica quotidiana a causa della loro diffusione in molti paesi europei, tra cui l'Italia, legati a nuovi fattori predisponenti come cambiamenti nelle dinamiche stagionali delle popolazioni degli ospiti intermedi, l'intenso movimento di animali da zone endemiche a zone non endemiche. La loro presenza, tuttavia, è spesso sottostimata a causa dei limiti delle comuni tecniche diagnostiche coprologiche. Lo scopo di questo studio è stato quello di confrontare tre tecniche copromicroscopiche, Baermann, FLOTAC e Mini-FLOTAC, per la diagnosi dei nematodi broncopolmonari nei piccoli ruminati.

Materiali e metodi - Sono stati prelevati campioni di feci da 30 ovini naturalmente infetti da nematodi broncopolmonari, presenti in 5 allevamenti della Regione Campania. I campioni refrigerati sono stati inviati presso i laboratori del Centro Regionale di Monitoraggio Parasitosi (CREMOPAR), dove sono stati analizzati con la tecnica Baermann (sensibilità= 1 larva per grammo feci, LPG), FLOTAC (sensibilità= 6 LPG) e Mini-FLOTAC (sensibilità= 10 LPG). Per le tecniche FLOTAC e Mini-FLOTAC è stata utilizzata una soluzione flottante a base di solfato di zinco con peso specifico= 1.200.

Risultati e considerazioni - Gli strongili broncopolmonari rilevati ed i valori espressi in termini di LPG (valore minimo, massimo e medio) per ciascuna tecnica diagnostica sono riportati in Tabella 1.

I risultati migliori, in termini di LPG e CV sono stati ottenuti con le tecniche FLOTAC e Mini-FLOTAC. Tali metodiche, inoltre, permettono di ottenere risultati in tempi più rapidi rispetto alla tecnica Baermann (12-24h).

New approaches for the diagnosis of lungworms in sheep

Key words - sheep, Mini-Flotac, FLOTAC, Baermann, lungworms

Bibliografia

Da Costa Neto SF, De Oliveira Simões R, Mota ÉM, Do Val Vilela R, Lopes Torres EJ, Santos Barbosa H, Gentile R, Maldonado Junior A. 2016. Lungworm *Heterostrongylus heterostrongylus* Travassos, 1925 from the black-eared opossum in South America: Morphologic, histopathological and phylogenetic aspects. *Vet. Parasitol.*, 228: 144-152;

Rinaldi L, Poglayen G, Marchesi B, Carbone S, MorgogNONE ME, Maurelli MP, Cringoli G, 2008. Risk analysis of pig parasites: the validity of different co-

Tab. 1 - Valori di larve per grammo feci (LPG), minimo (min), massimo (max), media e deviazione standard (media±DS) e coefficiente di variazione (CV) di larve di strongili broncopolmonari negli ovini mediante tre tecniche: Baermann, FLOTAC e Mini-FLOTAC.

Parassiti	BAERMANN				FLOTAC				Mini-FLOTAC			
	Min	Max	Media±DS	CV	Min	Max	Media±DS	CV	Min	Max	Media±DS	CV
<i>Dictyocaulus filaria</i>	1	22	11c±4	0,36	6	60	33a±5	0,15	10	40	25b±5	0,20
<i>Cystocaulus ocreatus</i>	1	43	22c±6	0,27	6	180	93a±11	0,12	10	60	35b±4	0,11
<i>Muellerius capillaris</i>	5	320	162c±21	0,13	12	460	236a±31	0,13	10	380	195b±22	0,11
<i>Neostongylus linearis</i>	4	221	112c±19	0,17	12	360	186a±24	0,13	10	240	125b±18	0,14
<i>Protostrongylus rufescens</i>	3	143	73b±16	0,22	12	260	136a±11	0,08	10	180	95a±13	0,13

- prological tools. *Parassitologia* 50 (1), 183;
Ministry of Agriculture, Fisheries and Food 1986, 12-13;
Cringoli G, Rinaldi L, Maurelli MP, Utzinger J.
2010.FLOTAC: new multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. *Nat Protoc.* 5(3):503-15;
Cringoli G, Maurelli MP, Levecke B, Bosco A, Ver-
cuyse J, Utzinger J, Rinaldi L 2017. The Mini-
FLOTAC technique for the diagnosis of helminth and
protozoan infections in humans and animals. *Nat Protoc.* 12(9):1723-1732.
-

Effetti dell'integrazione della dieta per pecore da latte con residui agrumari sulle caratteristiche fisico-chimiche e sul profilo acido del grasso del formaggio

LIOTTA L¹, ZUMBO A¹, DI ROSA AR¹, D'ANGELO G², MAGAZZÙ G², CHIOFALO V³

¹Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Messina; ²Consorzio di Ricerca Filiera Carni, Messina; ³Dipartimento di Scienze Chimiche, Biologiche, Farmaceutiche ed Ambientali, Università degli Studi di Messina

Parole chiave - sottoprodotti agrumari, ovini, qualità formaggio

Introduzione - Dal punto di vista normativo i derivati agrumari sono chiaramente definiti in termini di alimento zootecnico dal Reg. (UE) 2017/1017 che identifica nel catalogo delle materie prime per mangimi anche il "pastazzo di agrumi essiccato". Numerosi sono gli studi che confermano la possibilità di utilizzo dei derivati agrumari in alimentazione animale, ma riguardano principalmente l'integrazione della dieta di agnelli (Lanza et al., 2001; Lashkari et al., 2017) e suini (Watanabe et al., 2010). Risultano limitati invece i riscontri bibliografici sull'utilizzo di queste biomasse nella dieta di animali in lattazione (Di Rosa et al., 2015; Salvador et al., 2014). Obiettivo del presente studio è stato quello di valutare gli effetti dell'integrazione di un mix di derivati agrumari nella dieta per pecore in lattazione sulla qualità dei formaggi.

Materiali e metodi - Lo studio è stato condotto su 48 pecore Comisane, suddivise in due gruppi omogenei per numero, ordine di parto e produzione relativa alla lattazione precedente. I due gruppi sono stati denominati Controllo e Citrus ed alimentati con 500g/capo/d di mangime pellettato per pecore in lattazione e fieno polifita *ad libitum*. Il mangime del gruppo Citrus era integrato con il 10% di polpe di arancia essiccate e il 4% di melasso di limone. I due mangimi erano isoproteici (PG 18,90%/ss) ed isoenergetici (UFL 0,99kg⁻¹/ss). Gli animali sono stati alimentati con il mangime sperimentale dalla 6 settimana dal parto e per 6 mesi di lattazione. Mensilmente il latte era destinato alla caseificazione sperimentale separata per gruppo e dopo

60 giorni di stagionatura 6 formaggi per gruppo venivano sottoposti alla determinazione del pH (H19017, Microprocessor, Hanna Instruments), della composizione chimica (FoodScanTM Dairy Analyser; FOSS, Italy) e della composizione in acidi grassi (GC-FID, Agilent Technologies 6890 N, Palo Alto, CA, USA). I dati ottenuti sono stati sottoposti ad ANOVA utilizzando la procedura GLM del software SAS (2016).

Risultati e considerazioni - Le caratteristiche fisico-chimiche medie dei formaggi, riportate in Tabella 1, hanno evidenziato differenze significative tra i due gruppi soltanto per il pH ed il tenore in Proteine e Lipidi. Il pH più elevato, come anche il contenuto più basso in proteine e lipidi nei formaggi del gruppo Controllo potrebbero essere riconducibili a processi proteolitici più accentuati con il rilascio di aminoacidi basici, NH₃ e alla decomposizione del lattato come osservato da Brito et al. (2003) e Salvador et al. (2014).

Tali processi potrebbero essersi ridotti nei formaggi del gruppo Citrus per la presenza di molecole antiossidanti contenute nei derivati agrumari integrati nella dieta, come già osservato da Todaro et al. (2017). Nessuna differenza significativa è stata osservata per il profilo acido (Tab.2), come osservato da Todaro et al. (2017) sul latte di pecore alimentate con diete integrate con polpe fresche di limone.

Questo studio accresce le conoscenze sugli effetti dell'utilizzo dei derivati agrumari nella dieta per pecore in lattazione, ma è ancora evidente la necessità d'indagare in merito al contenuto di antiossidanti di derivazione

Tab. 1 - Effetto della dieta sulle caratteristiche fisico-chimiche del formaggio (Valori medi espressi in g/100g di parte edibile).

Gruppo	pH	Umidità	Proteine	Lipidi	Sale	Ceneri
Controllo	5,71	30,79	30,17	29,95	1,95	6,22
Citrus	5,58	30,17	31,15	30,53	2,06	6,30
MSE	0,09	0,021	0,061	0,053	0,01	0,07
P-values	0,05	0,19	0,05	0,01	0,19	0,41

Tab. 2 - Effetto della dieta sul profilo acidico (classi acidiche % sul totale degli acidi grassi) del formaggio

Gruppo	SFA	MUFA	PUFA	PUFA n3	PUFA n6
Controllo	66,71	26,15	5,60	1,76	3,84
Citrus	66,05	26,74	5,68	1,70	3,97
MSE	0,08	0,12	0,15	0,01	0,06
P-values	0,72	0,64	0,90	0,67	0,79

agrumaria presenti nei formaggi e ai loro eventuali effetti sui processi proteolitici e/o lipolitici nel corso della maturazione e stagionatura. L'inclusione di derivati agrumari nella dieta di ovini in lattazione, oltre al possibile beneficio per la salute degli animali, potrebbe anche rendere più salutarì i prodotti lattiero-caseari correlati.

Effect of the inclusion of citrus by-products in the diet of dairy sheep on cheeses characteristics

Key words - citrus by-products, sheep, cheese quality

Bibliografia

- Brito, C., Manríquez, X., Molina, L., Pinto, M. (2003), Estudio de maduración de queso Chanco bajo en grasa elaborado con leche homogeneizada. Arch. Latinoam. Nutr. 53, 299–305.
- Di Rosa A. R., Liotta L., Margiotta A., Vasi S., D'Alessandro E., Chiofalo V., Zumbo A. (2015), Utilization of lemon molasses and dry orange pulp in dairy ewes feeding during the first stage of lactation: effect on milk quality. Ital. J. Anim. Sci. (vol. 14, suppl. 1): 92.
- Lanza M., Priolo A., Biondi L., Bella M., Ben Salem H. (2001), Replacement of cereal grains by orange pulp and carob pulp in faba bean-based diets fed to lambs: effects on growth performance and meat quality. Anim. Res. (50): 21-30.
- Lashkari S., Taghizadeh A., Paya H., Jensen S. K. (2017), Growth performance, nutrient digestibility and blood parameters of fattening lambs fed diet replacing corn with orange pulp. Span. J. Agric. Res. (Vol. 15, i. 1): 7.
- Salvador A., Igual M., Contreras C., Martínez-Navarrete N., Camacho M. (2014), Effect of the inclusion of citrus pulp in the diet of goats on cheeses characteristics. Small. Rum. Res. (121): 361-367.
- SAS, 2016. User's Guide: Statistics, ver. 9.3. SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA.
- Todaro M., Alabiso M., Scatassa M.L, Di Grigoli A., Mazza F. Maniaci G. Bonanno A. (2017), Effect of the inclusion of fresh lemon pulp in the diet of lactating ewes on the properties of milk and cheese. Anim. Feed Sci. Technol. 225: 213–223.
- Watanabe P. H., Thomaz M. C., Ruiz U., Maia dos Santos V., Fraga A. L., Fonseca Pascoal L. A., Zaneti da Silva S., Gonzáles de Faria H. (2010), Effect of inclusion of citrus pulp in the diet of finishing swines. Braz. Arch. Biol. Technol. (vol. 53): 709-718.

PON02_00451_3362376 (Bio4Bio). CUP
B61C12000910005.

Agalassia contagiosa: un nuovo test rapido per la diagnosi in campo

LORIA GR¹, PULEIO R¹, PARCO A¹, ARCOLEO G², BONGIOVANNI A², DRAGO C³, DRAGO S²

¹OIE Reference Laboratory for Contagious Agalactia, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo;

²ENBIOTECH Palermo; ³Università degli Studi di Palermo

Parole chiave - agalassia contagiosa, tecnologia Lamp, test di campo

Introduzione - L'agalassia contagiosa (AC) è causata da quattro diversi micoplasmi patogeni: *Mycoplasma agalactiae* (Ma) è il patogeno a più alta prevalenza nelle aree mediterranee; seguono per importanza *M. mycoides sub. capri*; *M. capricolum subsp. capricolum* e *M. putrefaciens* (OIE 2012). La CA è oggi una delle priorità del settore zootecnico ovino e caprino a causa delle ingenti perdite di produzione di latte in azienda, nascita di agnelli deboli, scarsa fertilità e costi indiretti di trattamento, tempo e manodopera necessarie per la gestione del focolaio e la cura degli animali malati.

I differenti test diagnostici disponibili non riescono a fornire una risposta in tempi rapidi: studi sperimentali condotti da Buonavoglia (1998), rilevano la presenza di anticorpi, specifici (ELISA) non prima dei 25-30gg. L'escrezione dell'antigene è evidenziabile nel latte infetto a partire dal 9° giorno dall'infezione a cui vanno aggiunti i giorni necessari (a volte anche settimane) per l'isolamento su terreni colturali (Loria *et al.*, 2012; Nicholas and Baker, 1998). Più recentemente la polymerase chain reaction (PCR) è entrata nell'uso comune per la sua capacità di aumentare la rapidità di risposta, la sensibilità e la specificità della diagnosi (Tola *et al.*, 1997; Mc Auliffe *et al.*, 2003). Tuttavia, rimane un fatto assodato che l'estrazione del DNA del patogeno dal "latte", non è sempre agevole a causa degli inibenti naturali presenti nel campione che ne ostacolano l'estrazione. Nella pratica, si osserva che, campioni di latte con quantità ridotte di antigene (come si verifica per i latti di massa), possono risultare negativi all'analisi. La PCR, inoltre presenta fattori critici che ne escludono il suo impiego in campo: la necessità di disporre di un laboratorio ben attrezzato e reagenti costosi. Scopo del lavoro è la descrizione di un sistema diagnostico nuovo, robusto, portatile (ICGene®) basato sull'ultima evoluzione della tecnologia Lamp (loop-mediated isothermal amplification), che riduce tutte le fasi classiche della biologia molecolare, superando l'utilizzo di costose apparecchiature di laboratorio necessarie per la PCR tradizionale o per la Real Time-PCR. Il nuovo metodo fornisce risultati direttamente in campo, in circa 1 ora con interpretazione automatica dei risultati.

Materiali e metodi - Per la prova è stato impiegato latte ovino appena munto, proveniente da una azienda indenne da agalassia contagiosa, distribuito in n° 8 provette da 10 ml, alla prima delle quali è stato

aggiunto il 10% (1ml in 9ml di latte) di coltura di *Mycoplasma agalactiae* (ceppo di riferimento NCTC cod. 10123) al massimo della crescita (1×10^8 UFC/ml) in brodo di coltura per micoplasmi (*Mycoplasma* broth, Hayflick, Oxoid®). Veniva poi prelevato un ml di latte dalla prima provetta e diluito nelle successive sempre in ragione di 1/10 sino ad ottenere la diluizione massima di 1×10^1 . L'esatta quantità di antigene veniva verificata parallelamente tramite conta vitale delle colonie su agar micoplasma (Postgate, 1969). Contemporaneamente venivano preparate altre 4 provette di latte ovino contenenti antigene di micoplasmi patogeni geneticamente correlati (*M. putrefaciens*, *M. bovis*, *M. mycoides*, *M. capricolum*), utili a valutare la specificità analitica del metodo. Il sistema diagnostico integrato è composto da uno strumento portatile e un kit, specifico per il patogeno. Il kit è pronto all'uso e prevede sia i reagenti per una estrazione rapida dell'acido nucleico partendo da 1 ml di latte, sia i reagenti per l'amplificazione sfruttando la tecnologia LAMP. Sono stati usati sei primer per il gene p40 (Rekha V. *et al.*, 2015): F3 (Forward primer esterno) GGTTT ATTAAGTGCATCA; B3 (primer esterno complementare) CAACAGTTGCATTCGTCTT; FIP (Forward inner primer) ACCTTATCACCATTATCT TGTGGATCAGTGCCTTTATTAG; BIP (Backward Inner Primer) AGCATTAGGTGAAAGTTGTCAAAA ATATTGAGCTTGCTTCAGGAATTCTGCTA; LF (Forward Loop Primer) GTGAATTTTCGTTCTTATC ATCAC; LB (Backward Loop Primer) ACAA ATCTAGGTGAAATAGTATTACC.

Risultati e considerazioni - Il sistema ha mostrato una elevata sensibilità interpretando come campione positivo esclusivamente il DNA di *M. agalactiae* (7/8 campioni testati e 4/4 negativi rispetto ai controlli). Il test ha mostrato un limite di rilevabilità inferiore a 100 CFU / ml nei campioni di latte, superando per tempi e maneggevolezza la diagnostica di laboratorio tradizionale, inoltre ha dimostrato di essere più tollerante all'effetto inibitorio delle componenti del latte che influenzano l'amplificazione della PCR. Da questi risultati preliminari si evince che il sistema icgene può rappresentare uno strumento diagnostico pratico ed efficace per la diagnosi in campo di agalassia contagiosa alternativo e innovativo rispetto ai tradizionali esami di laboratorio.



Contagius agalactia: a new rapid test for field diagnosis

Key words - contagius agalactia, Lamp technology, field test

Bibliografia

Buonavoglia et al. (1998b) Infezione sperimentale di pecore con *Mycoplasma agalactiae* rilievi clinici, batteriologici e sierologici. In: Proceedings XIII

Congresso Nazionale SIPAOC, Palermo 16-19 Aprile 1996, Italy, pp. 109-111

Loria et al., (2012) Agalassia contagiosa e micoplasmosi nei piccoli ruminanti in Italia: scenario attuale. 20th Proceedings S.I.P.A.O.C. Siracusa 26/29-09-2012. Pp 100-103

McAuliffe et al., (2003) Differentiation of *Mycoplasma* species by 16S ribosomal DNA PCR and denaturing gradient gel electrophoresis fingerprint. *Journal of Clinical Microbiology*. 41, 4844-4847.

Nicholas, R.A.J., Baker, S. (1998) Recovery of *Mycoplasma* from animals. In: Miles R.J. and Nicholas R.A.J. (Editors) *Mycoplasma protocols, Methods in molecular biology*, vol. 104, Humana Books Press, Totowa, New Jersey, USA, pp. 37-43.

OIE Manual of Diagnostic tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees) Contagious agalactia. Chapter 2.7.5. Seventh Ed., 2012 (2) 987-994.

Postgate, J.R. (1969) Viable count and viability. *Methods in Microbiology* 1, 611-628

Tola et al., (1997) Detection of *Mycoplasma agalactiae* in sheep milk samples by polymerase chain reaction. *Veterinary Microbiology* 54, 17-22.

Benessere e qualità della carne di agnelli merinizzati: effetto della supplementazione con quinoa e/o semi di lino

MARINO R¹, CAROPRESE M¹, ANNICCHIARICO G², SANTILLO A¹, SEVI A¹, ALBENZIO M¹

¹Dipartimento SAFE, Università degli Studi di Foggia; ²Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria - centro di ricerca in zootecnia e acquacoltura (CREA-ZA), Bella Muro (PZ), Italy

Parole chiave - agnelli, benessere, qualità carne.

Introduzione - Negli ultimi anni diversi studi hanno evidenziato una forte relazione tra nutrizione e risposta immunitaria (Carroll et al. 2007). In particolare l'integrazione con i semi di lino esercita una modulazione della risposta immunitaria, migliorando le risposte umorali e ripristinando l'omeostasi termica nelle pecore da latte esposte allo stress termico da caldo (Caroprese et al. 2012). Recentemente, è stato evidenziato che i semi di quinoa hanno un ruolo importante nella nutrizione, per le sue proprietà fisiologiche e il contenuto in polifenoli (Palombini et al. 2013). Sebbene l'effetto dell'uso di lino alimentare sulla risposta immunitaria e sulla qualità della carne dei ruminanti sia stato ampiamente trattato, l'effetto dell'inclusione della quinoa nella dieta dei ruminanti sul benessere e sulla qualità della carne non è stato studiato. Lo scopo del lavoro è di valutare gli effetti della supplementazione a base di semi di lino e di quinoa e della loro combinazione sulla risposta immunitaria, sulla produttività e la qualità della carne da agnelli.

Materiali e metodi - Lo studio è stato condotto per 7 settimane, su 32 agnelli Merinos italiani svezzati (42 ± 2 giorni di età), ed assegnati in modo omogeneo a quattro gruppi sperimentali, sottoposti a differente trattamento alimentare. Gruppo di controllo (C): fieno di veccia/avena e concentrato commerciale; gruppo di quinoa (Q): fieno di veccia/avena e concentrato integrato con semi di quinoa; gruppo lino (LS): fieno di veccia/avena e concentrato integrato con semi di lino; gruppo quinoa e lino (LS+Q): fieno di veccia/avena e concentrato integrato con semi di quinoa e semi di lino. Durante la prova è stata valutata la risposta immunitaria degli animali e la secrezione di glucocorticoidi a seguito di trattamento stressogeno (test carico/scarico) a fine prova. Inoltre, sono stati studiati gli effetti sulla qualità nutrizionale ed organolettica della carne di agnello. 24 h dopo la macellazione da ciascuna mezzena è stato prelevato il muscolo *Longissimus dorsi* per la determinazione dei parametri colorimetrici, (colorimetro Minolta CR 200) e lo sforzo al taglio (WBSF). I dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza con procedura GLM (SAS, 2012).

Risultati e considerazioni - Il trattamento alimentare e il tempo di campionamento hanno influenzato significativamente il titolo anticorpale di anti-KLH (Fig.1). Il gruppo LS+Q ha registrato l'aumento maggiore di IgG anti-KLH a 25 e 35 giorni rispetto a tutti gli altri gruppi, mentre a 49 giorni, il gruppo LS+Q ha mostrato un aumento della produzione di IgG anti-KLH rispetto al gruppo Q (P<0,01) e al gruppo LS (P<0,05).

La secrezione di cortisolo nel sangue di agnelli dopo il test di carico/scarico (della durata 10 minuti) (dati non mostrati) è aumentata in tutti i gruppi (P<0,001); all'inizio del test il gruppo LS ha mostrato la concentrazione più bassa rispetto ai gruppi C e Q (P<0,001 e P<0,01, rispettivamente), mentre, a 60 minuti dal test gli agnelli LS hanno mostrato una minore secrezione di cortisolo rispetto solo al gruppo Q (P<0,01).

Come si può osservare nella tabella 1, la dieta ha avuto un effetto significativo sul contenuto di grasso intramuscolare (P <0,05) con valori più elevati nella carne di tutti i gruppi supplementati. Per quanto riguarda le proprietà organolettiche la carne degli agnelli supplementati con i semi di lino e/o quinoa ha mostrato una maggiore tenerezza con valori più bassi di WBSF (P<0,01) e valori più elevati di *L*, *a** e *b** (P<0,01) rispetto alla carne del gruppo di controllo.

I risultati mostrano che la supplementazione combinata della dieta con i semi di lino e quinoa, può aiutare l'ani-

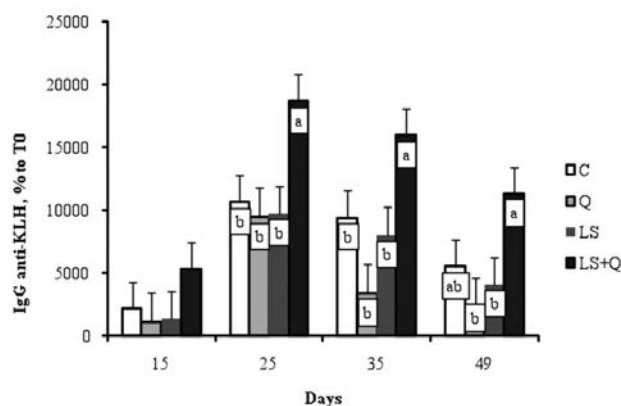


Fig. 1 - Variazione (%) dei livelli ematici di anticorpi anti-KLH (media ± SEM) rispetto ai valori pre-iniezione di antigene (T0) e rilevata a 15, 25, 35 e 49 giorni dell'esperimento.

Tab. 1 - Contenuto in grasso intramuscolare, Warner Bratzler shear force (WBSF) e parametri colorimetrici (lightness: L*, redness: a*, yellowness: b*) del muscolo *quadriceps femoris* di agnelli sottoposti a differenti diete (C= controllo; LS= semi di lino; Q= semi di quinoa ; LS+Q= semmi di lino +quinoa) (media \pm ESM).

	Dieta				SEM	Effect, P
	C	Q	LS	LS+Q		
Grasso intramuscolare (%)	1.04 b	1.32 a	1.41 a	1.45 a	0.08	*
WBSF (kg/cm ²)	6.54 a	5.75 b	5.39 b	5.44 b	0.18	**
L*	38.72 b	45.61 a	44.09 a	44.38 a	0.51	**
a*	8.75 b	9.67 a	9.52 a	9.57 a	0.25	**
b*	9.26 b	11.77 a	11.42 a	11.83 a	0.28	**

* = $P < 0.05$; ** = $P < 0.01$; a,b = valori con differenti lettere differiscono significativamente tra i diversi trattamenti alimentari.

male a far fronte a diversi eventi stressanti fornendo un importante contributo al miglioramento della risposta immunitaria. Inoltre, una supplementazione può migliorare la qualità organolettica della carne. Pertanto, i risultati ottenuti possono essere essere utili per lo sviluppo di strategie specifiche volte a migliorare il benessere animale e la qualità della carne ovina.

Effect of quinoa and/or linseed on immune response, productivity and quality of meat from merinos derived lambs

Key words - lamb, welfare, meat quality.

Bibliografia

- Caroprese M, Albenzio M, Bruno A, Annicchiarico G, Marino R, Sevi A - (2012) Effects of shade and flaxseed supplementation on the welfare of lactating ewes under high ambient temperatures, *Small Rumin. Res.* (102) 177-185.
- Carroll Ja, Forsberg, Ne. (2007) Influence of stress and nutrition on cattle immunity. *Vet. Clin. N. Am.— Food Anim. Pract.* (23) 105–149.
- Palombini, S. V., Claus, T., Maruyama, S. A., Gohara, A. K., Souza, A. H. P., Souza, N. E. D., ... & Matsushita, M. (2013). Evaluation of nutritional compounds in new amaranth and quinoa cultivars. *Food Science and Technology (Campinas)*, 33(2), 339-344.
- SAS (2012). SAS/STAT User's Guide (Version 9.2). Statistical Analysis System Inst, Cary, NC.

Espressione di APLN e APLNR nelle tube uterine e nell'utero della pecora al pascolo

MERCATI F¹, MARANESI M¹, ACUTI G¹, SCOCCO P², PETRUCCI L¹, PIRINO C¹, RENZI A¹, DALL'AGLIO C¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia; ²Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Camerino.

Parole chiave - Ovini, immunoistochimica, PCR, ciclo estrale.

Introduzione - Le adipochine, molecole prodotte prevalentemente dal tessuto adiposo, sono coinvolte nel metabolismo energetico e rappresentano dei link importanti tra lo stato nutrizionale e l'asse neuro-endocrino. Livelli fisiologici di adipochine sono necessari per una corretta funzione dell'attività ovarica, per l'impianto dell'embrione e per il protrarsi della gravidanza. L'apelin (APLN) è un peptide che appartiene alla famiglia delle adipochine e che agisce attivando un recettore specifico (APLNR) accoppiato alla proteina G (Pitkin et al., 2010). APLN, inizialmente isolata dallo stomaco del bovino, è prodotta da molte aree del sistema nervoso centrale e numerosi tessuti periferici. Il tessuto adiposo produce APLN e la sua secrezione è regolata dalla condizione di digiuno e sazietà e dai livelli ematici di insulina (Boucher et al., 2005). APLN, a sua volta, interviene nella regolazione della capacità ingestiva e del peso corporeo. APLNR presenta un'ampia distribuzione dimostrando le numerose attività biologiche in cui il sistema APLN-APLNR è coinvolto: regolazione dell'appetito, del sistema digerente e cardiovascolare, della funzione immunitaria, ecc. APLN promuove la proliferazione e la migrazione di vari tipi cellulari tra cui le cellule endoteliali agendo tramite meccanismi autocrini e paracrini oltre che endocrini (Masri et al., 2005). Il sistema apelinergico è attivo a livello dell'apparato riproduttore femminile: è stato identificato nella placenta, nell'ovaio e nell'utero anche se sono evidenti differenze tra specie animali (Pope et al. 2012). APLN causa obesità nel topo, determinando un aumento del peso corporeo, nonché infertilità dovuta all'effetto sugli ormoni sessuali (Tekin et al., 2017).

In questo lavoro, abbiamo indagato la presenza di APLN e APLNR a livello dell'utero e delle tube uterine della pecora durante periodi differenti di pascolo al fine di evidenziare eventuali differenze indotte da differenti apporti nutrizionali.

Materiali e metodi - L'indagine è stata eseguita su un gruppo di 15 pecore Comisana x Appenninica adulte in asciutta, che sono state tenute al pascolo da giugno fino al periodo di massima fioritura (gruppo MxF). Da questo periodo fino a quello di massima secchezza, 10 pecore sono state divise in due gruppi omogenei: il gruppo controllo (Ctr, 5 pecore) è stato alimentato solo

con foraggio fresco mentre il gruppo sperimentale (Exp, 5 pecore) ha ricevuto, in aggiunta al foraggio, 600 gr/die/capo di orzo e mais (1:1). Da ciascun gruppo sono stati prelevati campioni di utero e di tube uterine a livello della regione dell'ampolla e dell'istmo. I campioni sono stati processati per eseguire PCR e immunoistochimica.

Multiplex RT-PCR: 50 mg di tessuto sono stati omogeneizzati in trizol. L'RNA totale (5 µg) è stato sottoposto a retrotrascrizione utilizzando la metodica dei random esameri. La sequenza dei primers utilizzati per la pecora è stata la seguente:

APLN S: CTTCTGACGGGAAGGAGATG,
AS: CGGAAGCTTCCTCCGACCT;
APLNR: S TTGTGGGTCTGGAGGGTAAG,
AS: GCTGGGAGCATTTTCAGAGAC.

I prodotti di PCR sono stati analizzati tramite elettroforesi in un gel di agarosio al 2% utilizzando come colorante l'etidio bromuro. I prodotti amplificati sono stati purificati ed è stata confermata la loro identità tramite sequenziamento con il metodo di Sanger.

Per la procedura immunoistochimica i campioni sono stati fissati in formalina ed inclusi in paraffina. Le sezioni sono state sottoposte a smascheramento antigenico con forno a microonde ed inibizione delle perossidasi endogene. Per la reazione immunologica è stato usato un anticorpo policlonale di coniglio anti-APLN. L'indagine sul recettore è attualmente in fase di realizzazione. La reazione è stata visualizzata tramite complesso avidina-biotina e rivelata con diaminobenzidina.

Risultati e considerazioni - Le pecore utilizzate per l'indagine sono risultate in fase di anestro nel gruppo MxF (5 pecore) e in fase di diestro nei gruppi Exp e Ctr (5 pecore per ciascun gruppo).

In tutte le pecore la tecnica di PCR ha evidenziato la presenza dei trascritti per APLN (ampiezza del prodotto di PCR: 106 bp) e APLNR (ampiezza del prodotto di PCR: 100 bp) a livello dell'utero e delle tube uterine, in entrambi i tratti analizzati.

A livello uterino, la proteina APLN è stata evidenziata, tramite tecnica immunoistochimica, nell'epitelio di rivestimento e nelle ghiandole uterine. Nelle tube uterine,

APLN è stata osservata sia a livello dell'ampolla che dell'istmo, presentando immunopositività localizzata sulla membrana apicale dell'epitelio di rivestimento.

La positività per il ligando appariva maggiore nei campioni Exp e Ctr rispetto a quelli del gruppo MxF. Questa differenza fa supporre che APLN presenti una maggiore attività a livello delle vie genitali durante il periodo di diestro rispetto a quello di anestro.

Questa indagine preliminare consente comunque di ipotizzare un coinvolgimento di APLN nella biologia dell'apparato genitale femminile e nell'attività riproduttiva.

Expression of APN e APNR in the fallopian tubes and uterus of the sheep during different times of grazing

Key words - Ovine, immunohistochemistry, PCR, estrous cycle.

Bibliografia

- Boucher J, Masri B, Daviaud D, Gesta S, Guigné C, Mazzucotelli A, Castan-Laurell I, Tack I, Knibiehler B, Carpéné C, Audigier Y, Saulnier-Blache JS, Valet P. (2005), Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology* 146(4):1764-1771.
- Masri B, Knibiehler B, Audigier Y. (2005), Apelin signalling: a promising pathway from cloning to pharmacology. *Cellular signalling* 17(4):415-426.
- Pitkin SL, Maguire JJ, Bonner TI, Davenport AP. (2010), International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIV. Apelin receptor nomenclature, distribution, pharmacology, and function. *Pharmacological Review* 62(3):331-342.
- Pope GR, Roberts EM, Lolait SJ, O'Carroll AM. (2012), Central and peripheral apelin receptor distribution in the mouse: species differences with rat. *Peptides* 33(1):139-148.
- Tekin S, Erden Y, Sandal S, Etem Onalan E, Ozyalin F, Ozen H, Yilmaz B (2017), Effects of apelin on reproductive functions: relationship with feeding behavior and energy metabolism. *Arch Physiol Biochem* 123(1):9-15.

Valutazione dei rischi microbiologici e tecnologici di un prodotto dell'alta Irpinia: il pecorino carmasciano. Dati preliminari

MONTONE AMI¹, CAPUANO F¹, CITRO A², BIONDI L¹, GAGLIARDI R¹, NAVA D

¹Istituto Zooprofilattico del Mezzogiorno Portici (NA). Dipartimento Ispezione degli alimenti; ²ASL Salerno

Parole chiave - formaggio pecorino, flora batterica, batteri lattici

Introduzione - Il pecorino carmasciano è un formaggio prodotto in una piccola zona della provincia di Avellino, che presenta aree ad attività vulcanico-mefitica, caratterizzato da una tecnologia di produzione mantenuta invariata da generazioni, che prevede l'impiego di latte crudo e l'assenza di utilizzo di colture starter. Tali caratteristiche, in virtù della presenza di una microflora lattica eterogenea, con capacità probiotiche, conferiscono al prodotto peculiarità organolettiche uniche. Nello stesso tempo però, l'utilizzo di latte crudo può rappresentare un rischio per la salute del consumatore, allorché si ha la crescita di batteri potenzialmente patogeni. La mancanza di una standardizzazione del processo produttivo, rende tale prodotto soggetto ad incidenti tecnologici, con conseguenti perdite economiche ingenti, vista la realtà rurale nella quale il prodotto si contestualizza. Scopo del presente lavoro è stato quello di realizzare una "carta d'identità microbiologica" del pecorino carmasciano, valutando le varie tecnologie di produzione ed i loro effetti nel prodotto finito nelle varie fasi di maturazione.

Materiali e metodi - Sono stati selezionati due caseifici in base alle tecnologie di produzione legate alla storia e alle tradizioni del territorio e codificati in rapporto all'entità della produzione ed alla tipologia di formaggio prodotto. Presso questi caseifici sono state compilate delle schede di produzione per conoscere la loro tecnologia e tecnica casearia. Sono stati campionati, per ogni lotto di produzione, il latte, il siero, la cagliata ed il prodotto finito, controllato con cadenza mensile per quattro mesi. Tutte le matrici sono state analizzate per la ricerca dei seguenti parametri, con metodiche accreditate: *Salmonella spp.* (AFNOR BRD 07/6-07/04), *L. monocytogenes* (AFNOR BRD 07/10-04/05) Batteri lattici (LAB) (ISO 15214:1998), Stafilococchi (ISO 6888-2:2004) Carica mesofila totale (ISO 4833-1:2013), Enterobatteriacee (ISO 21528-2:2017), *E. coli* (ISO 16649-2:2001), Coliformi (ISO 4832:2006). Al fine di valutare le caratteristiche della materia prima utilizzata, oltre che le analisi microbiologiche, su criteri di sicurezza alimentare e non, sul latte sono state effettuate anche le seguenti analisi chimico-fisiche: determinazione del Grasso Proteine Lattosio mediante MilkoScanFT120; Acidità titolabile; punto di congelamento; cellule somatiche mediante NuclCounter®

SSC-100™. Quale ulteriore supporto per valutare gli effetti delle tecnologie produttive e della qualità iniziale del latte, tutti i campioni di formaggio sono stati analizzati con la tecnica SDS PAGE, un'elettroforesi su gel di poliacrilammide in presenza di sodio dodecil solfato (SDS). I ceppi dei batteri lattici e degli enterococchi isolati sono stati identificati mediante tecnica di microsequenziamento, con MicroSEQ™ 500 16S rDNA Sequencing Kit.

Risultati e considerazioni - I parametri chimico-fisici del latte non hanno mostrato differenze tra i due caseifici: in media i valori sono risultati 7.76 g/100ml per il grasso, 6.1 g/100ml per le proteine, 4.6 g/100ml per il lattosio, 6.20 °SH/50ml di acidità, -0.558 la media del punto di congelamento e 1500000 le cellule somatiche. In tutte le matrici analizzate, dal latte al prodotto finito, sono risultati assenti i batteri patogeni - *Salmonella spp* e *Listeria monocytogenes*. I risultati relativi alla Carica batterica totale hanno evidenziato valori iniziali elevati (circa 9 log ufg/g), particolarmente in uno dei due caseifici campionati, che si mantengono tali per tutto il periodo di osservazione, pressoché sovrapponibili ai dati relativi ai lattobacilli. Gli altri criteri indicatori di igiene di processo hanno presentato valori iniziali più bassi (3-5 log ufg/g), che sono diminuiti naturalmente nel corso della stagionatura. **Tab.1-2:** Andamento della

I caseificio	1 MESE	2 MESE	3 MESE	4 MESE
— CBT	8,43	9,04	7,52	7,26
— lattici	8,15	7,74	7,45	7,28
— coliformi	5,08	4,32	2,51	1,90
— E coli	4,58	3,65	2,04	1,60
— Staf	3,49	1,00	1,00	1,60

Il caseificio	1 MESE	2 MESE	3 MESE	4 MESE
— CBT	9,00	8,97	7,72	6,70
— lattici	8,88	8,79	7,75	7,00
— coliformi	5,46	7,23	4,56	4,00
— Staf	5,45	5,48	5,52	5,00
— E coli	2,65	5,49	1,00	0,00

flora batterica nel corso della stagionatura del formaggio. I dati sono espressi in ufc/g.

I batteri lattici identificati nelle varie fasi di maturazione sono risultati per la gran parte appartenenti alle specie *Lactobacillus paracasei* ed *Enterococcus hirae*. I profili elettroforetici evidenziati con l'SDS Page hanno mostrato un andamento sostanzialmente analogo in entrambi i caseifici. L'andamento della flora microbica evidenziata nel corso della sperimentazione rende il prodotto sicuro dal punto di vista microbiologico, in quanto consumato ad almeno 90 giorni di stagionatura. La tipizzazione delle specie lattiche attualmente in corso, consentirà di ampliare le conoscenze e circa il ruolo che esse hanno nel conferire le caratteristiche proprie di un formaggio tipico molto apprezzato sul territorio.

Evaluation of the microbiological and technological risks of a product of the high Irpinia: the pecorino carmasciano. Preliminary data

Key words - pecorino cheese, bacterial flora, lactic bacteria

Bibliografia

- Coppola R., Succi M., Pacifico, S., Tremonte, P., Reale, A., Sorrentino, E. Caratterizzazione microbiologica di un formaggio della tradizione Irpina: il Pecorino di Carmasciano (2006). *Sci. Tec. Latt. Casearia*; 57 (3), 147;
- Corbo, M.R., Albenzio, M., De Angelis, M., Sevi, A., Gobbetti, M. Microbiological and; biochemical properties of Canestrato Pugliese hard cheese supplemented with bifidobacteria. (2001) *J. Dairy Sci.*; 84 (3), 551-561.
- Di Cagno R., Banks J., Sheehanc L., Fox P.F., Brechany E.Y., Corsetti A., Gobbetti M., Comparison of the microbiological, compositional, biochemical, volatile profile and sensory characteristics of three Italian PDO ewes' milk cheeses. (2003); *Int Dairy J.* 13:961-72.
-

Stagionalità delle endoparassitosi negli ovini di Maiorca (Isole Baleari, Spagna)

OLIVER A², MELE S¹, DÍAZ P³, ARIAS M⁴, PINTORE E⁵, GARIPPA G⁵

¹Ospedale Veterinario Es Menescal, Inmo Oliver Castañer SL, Sóller, Isole Baleari, Spagna; ²Veterinario libero professionista, Palma, Isole Baleari, Spagna; ³Departamento de Patología Animal, Santiago of Compostela University, Lugo, Spagna; ⁴COPAR, Animal Pathology Department, Veterinary Faculty, Santiago of Compostela University, Lugo, Spagna; ⁵Parassitologia e Malattie Parassitarie, Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università di Sassari, Italia

Parole chiave - endoparassiti, Maiorca, cambi stagionali, prevalenza

Introduzione - Le parassitosi broncopolmonari e gastrointestinali degli ovini rappresentano uno dei fattori sanitari maggiormente limitanti per le produzioni a causa della loro diffusione e patogenicità, nonché per la difficoltà nel loro controllo. La loro presenza ed intensità d'infezione sono condizionate da numerosi fattori quali: indirizzo produttivo, tecniche di allevamento, caratteristiche climatiche e geopedologiche dell'area in cui vengono allevati gli animali oltre che ai fattori legati agli ospiti (stato fisiologico, ecc.).

Nella presente nota vengono riferiti i risultati di un'indagine epidemiologica finalizzata a valutare la diffusione e le variazioni stagionali delle parassitosi broncopolmonari e gastrointestinali negli ovini allevati nell'isola di Maiorca (Isole Baleari, Spagna).

Materiali e Metodi - Durante il periodo autunno-invernale (ottobre 2017 - gennaio 2018) e primaverile (aprile - giugno 2018), sono stati esaminati n. 451 campioni fecali individuali provenienti da 18 allevamenti ovini di Maiorca.

I campioni sono stati processati usando le tecniche di McMaster e di sedimentazione per i parassiti gastrointestinali e la metodica di Baermann per gli strongili broncopolmonari; le specie repertate sono state identificate utilizzando le chiavi morfometriche riportate da Euzéby (1982). Le prevalenze sono state calcolate in accordo con Bush *et al* (1997). Le eventuali differenze stagionali delle prevalenze sono state valutate usando il test esatto non condizionato *Unconditional exact test* (Reiczigel *et al.*, 2013).

Risultati e considerazioni - Gli ovini sono risultati positivi per Strongylidae (59,6%), *Nematodirus* sp. (2,4%) e *Trichuris* sp. (0,9%); *Eimeria* sp. è stata riscontrata nel 40,2% degli animali mentre *Moniezia* spp. nel 6,7% degli animali esaminati; uova di Paramphistomidae nello 0,2% dei soggetti. La presenza di Strongili broncopolmonari è stata evidenziata in 14 (78%) degli allevamenti campionati. Complessivamente sono state riscontrate le specie riportate in tabella (Tab. 1) con una netta predominanza di *Protostrongylus rufescens* rispetto alle altre specie di protostrongilidi.

L'esame dell'andamento stagionale delle nematodosi e

Tab. 1 - Strongili broncopolmonari degli ovini di Maiorca

Specie	Allevamenti positivi n.	Prev. %
<i>Dictyocaulus filaria</i>	4	22
<i>Protostrongylus rufescens</i>	10	56
<i>Neoststrongylus linearis</i>	5	28
<i>Muellerius capillaris</i>	4	22
<i>Cystocaulus ocreatus</i>	3	17

delle coccidiosi ha evidenziato che la prevalenza di *Nematodirus* sp. è risultata maggiore nel periodo autunno-invernale rispetto a quello primaverile (4,4% *vs* 0,4%; $p=0,0062$); relativamente al genere *Eimeria*, la prevalenza più elevata è stata riscontrata in primavera rispetto all'autunno-inverno (60,4% *vs* 29,7%, $p=0,0006$). *Moniezia* spp. e i trematodi Paramphistomidae sono stati riscontrati sporadicamente e solo durante il periodo autunno-invernale.

Le prevalenze relative alle nematodosi gastrointestinali, dictyocaulosi ed eimeriosi riscontrate nella presente indagine nel periodo primaverile risultano inferiori rispetto a quelle rilevate nella primavera del 1997 da Martín-Gómez *et al.* (1998) e come di seguito riportato: Strongylidae (57% *vs* 72%), protostrongilidi (56% *vs* 70%), *D. filaria* (22% *vs* 32%) ed *Eimeria* spp. (60% *vs* 75%).

Questi risultati suggeriscono che la prevalenza delle nematodosi gastrointestinali ed in particolare, sulla base di quanto rilevato nella presente indagine, di *Nematodirus* spp., *Moniezia* spp. e *Eimeria* spp. è fortemente associata alle notevoli variazioni climatiche stagionali che caratterizzano questa isola del Mediterraneo. In particolare, le variazioni stagionali quali umidità relativa, piovosità, temperatura e le conseguenti variazioni della copertura vegetale influenzano la presenza degli endoparassiti anche nell'isola di Maiorca come nelle altre regioni del Mediterraneo (Kantzoura *et al.*, 2012).

L'identificazione dei periodi nei quali le prevalenze degli endoparassiti assumono i valori più elevati risulta pertanto di fondamentale importanza nella predisposizione di efficaci misure di controllo. Ciò in considerazione del fatto che le parassitosi, oltre che alterare lo stato sanitario degli ovini, si rendono responsabili dei cosiddetti quadri da iporendimento o sindromi da sottoproduzione che si riflettono negativamente sulla efficienza economica delle aziende.

Seasonal changes of endoparasitosis in sheep of Majorca (Balearic Islands, Spain)

Key words - endoparasites, sheep, Majorca

Bibliografia

- Bush, AO; Lafferty, KD; Lotz, JM; Shostak, AW (1997). *Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited*. Journal of Parasitology 83, 575-583.
- Euzeby J 1982, Diagnostic Expérimental des Helminthoses animales. Edition Informations Techniques des Services Vétérinaires Min. Agriculture, Paris
- Kantzoura, V; Kouam, M; Theodoropoulou, H; Feidas, H; Theodoropoulos, G (2012) *Prevalence and risk factors of gastrointestinal parasitic infections in small ruminants in the Greek temperate Mediterranean environment*. Open Journal of Veterinary Medicine 2: 25-33.
- Martín Gomez, S; Quintanilla Gozalo, A; Calvo López-Guerrero, E; Rojo-Vázquez, FA. (1998) *Estudio parasitológico del ganado ovino de la isla de Mallorca*. Medicina Veterinaria 15: 483-489.
- Reiczigel, J; Rózsa, L; Reiczigel, A (2013). Quantitative Parasitology (QPweb). <http://www2.univet.hu/qpweb>, seasonal changes, prevalence.

Studio finanziato con fondi del progetto
PARAOVEMA del Govern de les Illes Balears.

Primo caso di isolamento in Italia di *Mycoplasma canis* da una capra con patologia respiratoria

OLIVERI S¹, VICARI D¹, PULEIO R¹, PARCO A¹, TUMINO S^{1,2}, TOLONE M^{1,3}, DI GERLANDO R³, TAMBURELLO A¹, LORIA GR¹

¹OIE Reference Laboratory for Contagious Agalactia-Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo; ²Dip. Agricoltura, Alimentazione e Ambiente, Sezione Produzioni animali, Università degli Studi di Catania, Catania; ³Dip. Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali, Università degli Studi di Palermo, Palermo

Parole chiave - *Mycoplasma canis*, capra, PCR spp., sequenziamento

Introduzione - I micoplasmi sono spesso isolati dalla specie canina, sia quali normali commensali delle mucose respiratorie, congiuntivali ed urogenitali, sia in corso di patologie di vario tipo. Il *Mycoplasma canis* viene spesso, associato nel cane a polmoniti batteriche, patologie del tratto urinario (cistiti batteriche) e soprattutto problemi legati all'apparato riproduttore (endometriti e infertilità). *M. canis* è stato segnalato quale causa di malattia anche in allevamenti di animali da reddito: nel 1992, Ter Laak, in Olanda; nel 1993 ulteriori evidenze in Canada in bovini con sintomatologia respiratoria; Nicholas et al. nel 1995, lo isolarono per la prima volta in Gran Bretagna in bovini con polmonite; Thomas et al. (2002), ha isolato ceppi di *M. canis* in allevamenti del Belgio, sia in popolazioni di bovini clinici che da soggetti sani. Gli autori riportano un caso di isolamento di *M. canis* in una capra deceduta in seguito e sindrome respiratoria.

Materiali e metodi - Analisi microbiologica. In una capra deceduta in seguito a sintomatologia respiratoria, nelle aree di confine tra parenchima polmonare epatizzato e parenchima sano sono stati effettuati durante l'autopsia, n°4 tamponi per indagini microbiologiche. La capra proveniva da un allevamento caprino brado del Comune di San Mauro Castelverde (PA). Una volta in laboratorio i tamponi sono stati inoculati per la ricerca di patogeni respiratori sia batterici (*Pasteurella* spp, *Mannheimia* spp, *Haemophilus* spp) che virali, tramite metodi standard. In parallelo i tamponi sono stati inoculati per la ricerca di micoplasmi patogeni: ognuno posto in provette contenenti 3 ml di *Mycoplasma* broth (Oxoid®) arricchito con siero porcino al 10% e diluito in base 10 per successive 4 provette per eliminare eventuali contaminazioni. Tutti i brodi sono stati incubati ad una temperatura di 37°C con il 10% di CO₂ per oltre 4 giorni sino all'evidenza dell'intorbidimento del brodo. Trascorso tale periodo, i campioni sono stati inoculati in Agar Mycoplasma (Oxoid®) ed incubati per oltre 48-72 h per l'evidenza di eventuali colonie tipiche ad "uovo fritto".

Estrazione del DNA - Il DNA di micoplasma è stato estratto da un'aliquota di 1 ml di colture in fase stazionaria utilizzando il kit commerciale di estrazione InstaGene™ Matrix (Biorad) secondo le istruzioni d'uso. Il DNA estratto è stato quindi sottoposto a dosaggio spettrofotometrico (NanoDrop2000c ThermoScientific) per valutarne la concentrazione e la purezza tramite il rapporto OD260/OD280.

Analisi molecolare - La ricerca del *Mycoplasma* come agente eziologico è stata eseguita tramite PCR spp. amplificando la regione universale U1-U5 del 16S rRNA secondo Johansson et al., (1998). Sono stati impiegati i seguenti oligonucleotidi: U1 (5'-TTGATCCTGGCTCAGG-3') U5 (5'-CTTGTGCGGGYYCCCGTCAATTC-3'). Le reazioni sono state condotte utilizzando il termociclatore Bibby Scientific™ Techne™ TC-512 con le seguenti condizioni termiche: attivazione Taq a 95 °C per 10 min, seguita da: 45 cicli di denaturazione a 95 °C per 30 sec, annealing a 63 °C per 30 sec e polimerizzazione a 72 °C per 1 min con un ulteriore ciclo di polimerizzazione a 72 °C per 7 min. Il prodotto di PCR è stato visualizzato su gel di agarosio al 1,5%, mediante colorazione con GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain. L'amplificato di 900bp è stato purificato mediante reazione enzimatica utilizzando il kit di purificazione ExoSAP-IT™ (Thermo-Fisher) e quindi sottoposto a sequenziamento capillare con ABI 3500 Genetic Analyzer. Le sequenze ottenute sono state analizzate mediante il Software BioEdit e confrontate con quelle depositate in banca dati tramite il programma BLAST-N (National Centre for Biotechnology Information; www.ncbi.nlm.nih.gov).

Risultati e considerazioni - Tutti e 4 i tamponi sono risultati positivi per presenza colonie di micoplasma. Le indagini di laboratorio (PCR, RT-PCR) per la conferma dei ceppi noti, endemici (*M. ovipneumoniae*, *M. agalactiae*, *M. mycoides capri*) hanno dato esito negativo. Soltanto tramite comparazione della sequenza nucleotidica del 16S rRNA ottenuta dal sequenziamento con quelle presenti in banca dati, l'analisi BLAST-N è

risultata sufficientemente informativa a livello di specie con un'identità dell'88% con *Mycoplasma canis*.

In letteratura si evince che il numero dei casi di isolamento di *M. canis* nei ruminanti è notevolmente aumentato dal 1990 al 2000 (Ayling et al. 2004). Il management dell'allevamento ovi-caprino siciliano prevede l'uso del cane pastore per la sorveglianza delle mandrie. Diversi autori sostengono che uno stretto contatto tra le due specie possa spiegarne il contagio (Ter Laak et al. 1993), ma non è ancora chiaro il suo ruolo patogenetico negli allevamenti di animali di interesse zootecnico (prevalentemente bovini).

Trattandosi del primo caso di isolamento di *M. canis* in Italia nella specie caprina e poiché pochi studi sono stati condotti ad oggi, merita sicuramente ulteriori approfondimenti.

First isolation in Italy of *M. canis* in goat with respiratory disease

Key words - *M. canis*, goat, PCR spp., sequencing

Bibliografia

- Ayling R. D., Bashiruddin S. E., Nichola R. A. J. (2004), *Mycoplasma* species and related organisms isolated from ruminants in Britain between 1990 and 2000. *Veterinary Record* (155): 413-416.
- Johansson KE, Heldtander MU, Pettersson B. (1998) ,Characterization of *Mycoplasmas* by PCR and Sequence Analysis with Universal 16S rDNA Primers. *Mycoplasma Protocols*: 145-165.
- Bovine Respiratory Diseases, in *Mycoplasma Diseases of Ruminants*, Edited by Nicholas R., Ayling R., McAuliffe (2008) CABI 169-190, .
- Ter Laak E. A., Noordergraaf, J.H. and Dieltjes, R. P. J. W. (1992), Prevalence of *Mycoplasmas* in the respiratory tracts of pneumonic calves. *J. Vet. Med. B* (39): 553-562.
- Ter Laak E. A., Tully J. G., Noordergraaf J. H., Rose D. L., Carle P., Bové J. M. and Smits M. A. (1993), Recognition of *Mycoplasma canis* as part of the mycoplasmal flora of the bovine respiratory tract. *Veterinary Microbiology* (34): 175-189.
- Thomas A., Ball H., Dizier I., Trolin A., Bell C., Mainil J., Linden A. (2002), Isolation of *Mycoplasma* species from the lower respiratory tract of healthy cattle and cattle with respiratory disease in Belgium. *Veterinary Record* (151): 472-476.

Indagine sulle endoparassitosi degli ovini allevati in Italia centrale

PAOLETTI B¹, TRAVERSA D¹, CASSINI R², FRANGIPANE DI REGALBONO A², MORETTA I³, DI CESARE A¹, MAUTI A¹, LA TORRE F⁴, DE ANGELIS E¹, VERONESI F³

¹Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Teramo; ²Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute, Università di Padova; ³Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia; ⁴Zoetis Italia, Roma

Parole chiave - pecore, endoparassiti, Italia centrale.

Introduzione - Le endoparassitosi degli ovini rappresentano un importante problema zootecnico e sanitario, in quanto sono spesso responsabili di ripercussioni negative sulla salute degli animali e sull'economia aziendale. La conoscenza delle diverse realtà epidemiologiche è un requisito fondamentale per pianificare e attuare protocolli di intervento mirati e vantaggiosi. Poiché le informazioni attuali sull'epidemiologia di tali parassitosi negli ovini dell'Italia centrale sono limitate (Venditti et al., 2010; Secchioni et al., 2016), lo scopo del presente studio è stato quello di aggiornare le conoscenze sulla loro presenza in alcuni allevamenti delle province di Perugia e di Teramo.

Materiali e metodi - Nel 2017 sono stati prelevati un totale di 600 campioni fecali provenienti da 12 allevamenti ovini semi-estensivi delle province di Perugia (n. 5) e Teramo (n. 7), in particolare 350 campioni fecali dalla provincia di Teramo e 250 campioni fecali dalla provincia di Perugia. Le aziende oggetto di campionamento erano 9 da latte (n. 4 a Teramo e n. 5 a Perugia) e 3 miste da latte- carne

provenienti tutte da Teramo. I campioni fecali sono stati esaminati mediante flottazione con una soluzione di NaNO₃ (peso specifico di 1.350), tecnica di McMaster e test di Baermann. La presenza di differenze significative è stata valutata in termini di prevalenza e di abbondanza con il test Chi-quadrato e con i tests U di Mann-Whitney e Kruskal-Wallis, rispettivamente. Le variabili considerate sono state la provincia di provenienza e la classe d'età (<1 anno, >1 anno). Il livello di significatività prescelto è stato $p < 0,05$ e le analisi sono state condotte con IBM SPSS Statistics 24.

Risultati e considerazioni - I risultati sono riportati nelle Tabelle 1 e 2. Valori di prevalenza più elevati sono stati osservati per coccidi e strongili gastrointestinali; è stata riscontrata una frequente condizione di poliparassitismo con strongili bronco-polmonari, cestodi, tricuridi e strongiloidi. In linea generale, le percentuali di positività ed i valori di abbondanza riscontrate nella provincia di Teramo, si discostano moderatamente dai dati bibliografici precedente riferiti in allevamenti italiani (Venditti et al., 2010; Secchioni et al., 2016). Dall'analisi

Tab. 1 - Risultati copromicroscopici qualitativi

Parassita	Pg (%)	Te (%)	Sig.
Coccidi	64	81.4	**
Strongili gastrointestinali	49.6	78.9	**
<i>Strongyloides</i> spp.	6.0	4.0	
Cestodi	11.6	9.7	
<i>Trichuris</i> spp.	0.4	8.3	**
<i>Dictyocaulus viviparus</i>	0	1.4	
<i>Muellerius capillaris</i>	4.4	14.3	**
<i>Protostrongylus rufescens</i>	17.6	4.3	**
<i>Cystocaulus ocreatus</i>	0	0.9	
<i>Neostongylus linearis</i>	0	6.0	**

Tab. 2 - Risultati copromicroscopici quantitativi

Parassita	Pg (OPG/UPG)	Te(OPG/UPG)	Sig.
Coccidi	140	474	**
Strongili gastrointestinali	68	162	**
<i>Strongyloides</i>	8	1	
Cestodi	-	-	
<i>Trichuris</i> spp.	0	5	**
<i>Dictyocaulus viviparus</i>	-	-	
<i>Muellerius capillaris</i>	-	-	
<i>Protostrongylus rufescens</i>	-	-	
<i>Cystocaulus ocreatus</i>	-	-	
<i>Neostongylus linearis</i>	-	-	

Legenda. OPG: oocisti per grammo di feci; UPG: uova per grammo di feci; le differenze tra gli allevamenti di Perugia e Teramo sono evidenziate nella colonna "Sig": *= $p<0.05$; **= $p<0.01$

statistica è emersa una differenza statisticamente significativa in termini di prevalenza ed abbondanza di alcuni parassiti tra le due province investigate ($p < 0,01$). Una differenza importante fra le due province considerate potrebbe risiedere nella zona geografica in cui sono collocati gli allevamenti e nella diversa gestione aziendale (Secchioni et al., 2016). Inoltre, le pecore di età inferiore all'anno hanno mostrato tassi di prevalenza e abbondanza significativamente più elevati per coccidi e tricuridi ($p < 0,05$) e una prevalenza più bassa per cestodi e protostrongilidi ($p < 0,05$) rispetto agli adulti a motivo della mancanza di una efficace copertura parassitaria nei confronti di questi parassiti nel corso dei primi mesi di vita (Kaufmann, 1996; Scala et al., 2014). I risultati ottenuti nel presente studio confermano l'importanza delle endoparassitosi degli ovini specialmente nelle piccole realtà, spesso condizionate da una gestione sanitaria inadatta.

Endoparasites of sheep farms in Central Italy

Key words - sheep, endoparasites, central Italy

Bibliografia

- Kaufmann J (1996). Parasite infection of domestic animals. A diagnostic manual., Birkhause Verlag Basel. Boston, 1996, 13-166
- Secchioni E, Sgorbini M, Perrucci S (2016). Gastrointestinal parasites, liver flukes and lungworms in domestic ruminants from central Italy. LAR 22, 195- 201
- Venditti G, Grelloni V, Filippini G, Pezzotti G, D'Avino N, Tentellini M, Scoccia E, Cringoli G, Maresca C (2010). Applicazione dei Sistemi Informativi geografici (GIS) per la definizione di mappe parassitologiche nelle Regioni Umbria e Marche: indagine sulle endoparassitosi ovine. SPVET 60.
- Scala A (2008). La coccidiosi intestinale degli ovini e dei caprini: una parassitosi purtroppo sempre attuale, LAR 4, 129-132

Un caso di toxoplasmosi acuta fatale in un capretto di razza Tibetana (*Capra hircus*) sostenuto dal genotipo II avirulento di *Toxoplasma gondii*

PAVONE S, D'AVINO N, ZEMA J, CAMBIOTTI SV, CROTTI S, MADEO L

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati", SC1 Diagnostica Generale e Benessere Animale

Parole chiave - capra, *Toxoplasma gondii*, genotipizzazione

Introduzione - *Toxoplasma (T.) gondii* è un parassita intracellulare obbligato, facoltativamente eteroxeno, a ciclo biologico indiretto. Il gatto ed i felidi in generale rappresentano gli ospiti definitivi e completi del parassita mentre tutti gli altri vertebrati omeotermi, circa 200 specie di mammiferi (uomo compreso) e 62 specie di uccelli sono gli ospiti intermedi dove il parassita si riproduce solo per via asessuata. La toxoplasmosi è una delle zoonosi più importanti a livello mondiale ed ha distribuzione cosmopolita. La maggior parte dei casi di infezione da *T. gondii* in soggetti immunocompetenti decorre in forma asintomatica; tuttavia può essere causa frequente di aborto e natimortalità negli ospiti intermedi e tra questi, in particolar modo nelle pecore e nelle capre. Casi di toxoplasmosi ad esito fatale negli animali adulti sono stati riportati sporadicamente in ungulati selvatici, nella volpe artica, nel visone e nel gatto; tuttavia raramente si dispongono dati circa il genotipo implicato. Recentemente, lavori di genotipizzazione e di sperimentazione *in vivo* sul topo hanno permesso di raggruppare i differenti genotipi conosciuti in 3 gruppi che differiscono notevolmente in patogenicità. In questa segnalazione si documenta un caso inusuale di toxoplasmosi acuta ad esito fatale in un capretto infetto con il genotipo II di *T. gondii* (ceppo ME49).

Materiali e metodi - Un capretto di razza Tibetana di due mesi di età è venuto a morte dopo aver presentato grave sintomatologia respiratoria. Il soggetto viveva insieme alla madre, alla sorella e ad altri quattro soggetti adulti della stessa razza in apparente buono stato di salute. Gli animali venivano lasciati al pascolo ogni giorno e di notte venivano chiusi in un recinto. Un mese prima del decesso le capre hanno avuto accesso al pascolo di un vicino frequentato da gatti. Il capretto è stato conferito all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche "Togo Rosati" dove sono stati effettuati l'esame anatomopatologico completo e i prelievi per indagini batteriologiche, coprologiche (Flotac), e virologiche (molecolari) nei confronti della Border Disease (BD). Sono stati inoltre prelevati campioni di tessuto per l'esame istologico. A motivo dei risultati istologici conseguiti, sono state effettuate in un secondo momento indagini molecolari sugli organi del capretto e sul latte della madre per la ricerca di *T. gondii*. Suc-

cessivamente si è proceduto alla genotipizzazione sulla base del gene marker GRA6 mediante PCR-RFLP e sequenziamento. Parallelamente sono stati effettuati prelievi di sangue dai soggetti ancora in vita da sottoporre ad esame sierologico ELISA per individuare eventuali anticorpi anti-*T. gondii*.

Risultati e considerazioni - L'esame anatomopatologico ha rivelato i segni di una grave polmonite interstiziale acuta diffusa. Entrambi i polmoni apparivano sovraddensati, pesanti, translucidi e dall'aspetto screziato con piccole aree multifocali bianco-grigiastre che si alternavano ad aree emorragiche. Al taglio si apprezzava gemizio di materiale fluido sieroematologico. I linfonodi bronchiali e mediastinici si presentavano aumentati di volume ed al taglio mostravano un tessuto colpito da eventi di necrosi ed emorragie. In cavità addominale i linfonodi mesenterici mostravano un aspetto del tutto simile a quelli della cavità toracica in assenza di lesioni di entità rilevante a carico del tratto gastroenterico. Le indagini batteriologiche hanno dato esito negativo così come la PCR per il virus della BD. L'esame coprologico ha evidenziato una bassa carica parassitaria rappresentata da 48 o.p.g. di coccidi, 24 u.p.g. di *Trichuris spp.* e di strongili gastrointestinali. L'esame istologico del polmone ha evidenziato focolai di necrosi alveolo-settale a cui si associava edema interstiziale e alveolare ed essudazione fibrinosa settale. Si apprezzava inoltre moderato ispessimento dei setti alveolari per infiltrazione da parte di macrofagi, linfociti ed un numero inferiore di granulociti neutrofili. Si evidenziava anche iperplasia dei pneumociti di II ordine con fetalizzazione del tessuto polmonare e presenza di macrofagi endoalveolari ed alveolo-settali caratterizzati da fagosomi citoplasmatici contenenti numerose formazioni rotondeggianti o leggermente allungate delle dimensioni di circa 2-2,5 µm morfologicamente compatibili con tachizoiti di *T. gondii*. Le indagini molecolari hanno confermato la presenza di materiale genetico di *T. gondii* nei campioni di tessuto provenienti da polmone e linfonodo. Esito negativo si è avuto dal campione di latte. Il test ELISA nei confronti di *T. gondii* ha evidenziato positività della madre e della sorella e di un'altra capra adulta. Negativi gli altri soggetti. L'analisi in two step-PCR e restrizione con MseI ha evidenziato un profilo di bande tipico dei

genotipi di classe II. Dall'analisi della sequenza dell'amplificato di GRA6 è stato identificato il ceppo ME49. I risultati anatomopatologici e di laboratorio hanno consentito di descrivere un caso di toxoplasmosi acuta ad esito fatale in un capretto di razza Tibetana infettato naturalmente con il ceppo ME49 tipo II (avirulento) di *T. gondii*. A motivo dell'età di insorgenza della forma acuta sistemica, è verosimile che il capretto si sia infettato assumendo latte infetto dalla madre che tuttavia è risultato negativo alle indagini molecolari. Tale negatività potrebbe essere dovuta ad un campionamento troppo tardivo del latte (due settimane dopo la morte del capretto) superando il tempo di escrezione che nella capra è stato accertato almeno fino a 30 giorni post infezione oppure dovuta all'eliminazione di tipo intermittente ormai nota in questa specie animale. Dall'anamnesi riportata è inoltre ipotizzabile che l'infezione sia entrata in allevamento a seguito del pascolamento su area contaminata da feci di gatti infetti ed eliminatori. Nel caso in oggetto è stato individuato il genotipo II responsabile di norme di forme asintomatiche nelle quali la disseminazione dei tachizoiti risulta limitata e l'infezione si conclude con la formazione delle cisti tissutali. Nel capretto indagato non sono state evidenziate patologie in atto in grado di aver

determinato immunodepressione del soggetto e pertanto maggiore suscettibilità a sviluppare una forma atipica di toxoplasmosi ad esito fatale. È tuttavia ipotizzabile tra le possibili cause responsabili del quadro acuto sistemico una possibile insufficiente assunzione di colostro materno da parte del soggetto. D'altro canto gli autori non escludono un comportamento più aggressivo del genotipo ME49 nella specie caprina a differenza di quanto accertato da precedenti studi di sperimentazione *in vivo* condotti nella specie murina.

Fatal systemic toxoplasmosis in a tibetan kid (*Capra hircus*) caused by avirulent strain type II of *T. gondii*

Key words - goat, toxoplasmosis, genotyping

Bibliografia

- Dubey et al., 2014. Detection and survival of *Toxoplasma gondii* in milk and cheese from experimentally infected goats. *J Food Prot.* Oct;77(10):1747-53.
- Fazaeli et al., 2000. Molecular typing of *Toxoplasma gondii* strains by GRA6 gene sequence analysis. *Int J Parasitol.* v. 30, p. 637-642

Sviluppo di una elettroforesi su gel in gradiente denaturante (DGGE) per l'identificazione di infezioni miste di micoplasmi patogeni dell'allevamento ovi-caprino.

PULEIO R¹, PARCO A¹, TUMINO S^{1,2}, OLIVERI S², TOLONE M^{1,3}, MACALUSO G¹, TAMBURELLO A¹, LORIA GR¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo; ²Dip. Agricoltura, Alimentazione e Ambiente, Sezione Produzioni animali, Università degli Studi di Catania, Catania; ³Dip. Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali, Università degli Studi di Palermo, Palermo

Parole chiave - 16S rDNA, DGGE, Mycoplasma.

Introduzione - I micoplasmi sono batteri altamente esigenti, difficili da coltivare e a crescita lenta. Negli ovini e caprini, tra le malattie batteriche a carico della mammella, emerge per severità di sintomi e per impatto economico l'Agalassia Contagiosa (AC) che affligge gli allevatori di razze da latte del bacino del Mediterraneo. L'agalassia contagiosa è attribuita a quattro diversi micoplasmi patogeni, ma il principale responsabile della malattia nelle nostre regioni è il *Mycoplasma agalactiae*, gli altri sono: *M. mycoides sub. capri*; *M. capricolum subsp. capricolum* e *M. putrefaciens* che sono meno frequentemente isolati. L'elettroforesi verticale su gel di poliacrilamide (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, DGGE), è uno strumento di biologia molecolare che consente l'identificazione delle popolazioni microbiche presenti in campioni clinici, identificando anche polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) del DNA. La DGGE è per questo motivo particolarmente adatta per lo studio di campioni con elevata diversità microbica. Scopo del presente studio è stato quello di sviluppare un nuovo protocollo di laboratorio che permetta di rilevare e differenziare diversi micoplasmi di importanza veterinaria in un unico test.

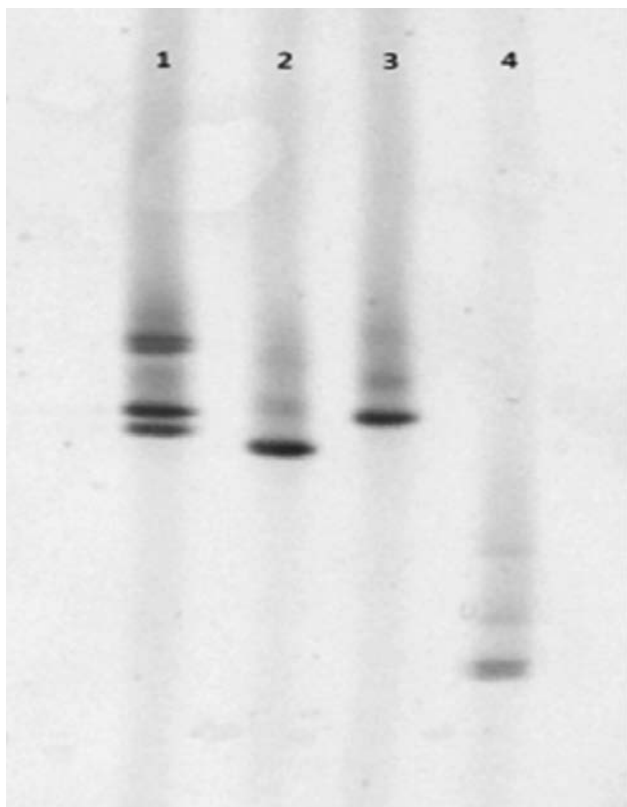
Materiali e metodi - La DGGE si basa sull'elettroforesi di frammenti di DNA (regioni del gene 16S) amplificati mediante PCR, su un gel di poliacrilammide contenente un gradiente crescente di sostanze denaturanti (urea e formammide). La separazione dei frammenti è basata sulla ridotta mobilità elettroforetica che hanno le molecole di DNA parzialmente denaturate rispetto al DNA a doppia elica, migrando lungo il gel, i frammenti di dsDNA incontrano condizioni denaturanti sempre maggiori, fino a che esse non causano l'apertura del doppio filamento. La transizione da doppio filamento a filamenti parzialmente denaturati avviene in un range molto stretto; questo determina l'arresto della molecola sul gel in corrispondenza del suo specifico dominio di melting. In questo modo è possibile separare frammenti di identica lunghezza, che differiscono per la sequenza di basi. Al fine di standardizzare il metodo, la DGGE è stata utilizzata per l'identificazione di ceppi certificati

dal National Collection of Type Cultures (NCTC) del Public Health England, di micoplasmi responsabili dell'Agalassia contagiosa: *Mycoplasma agalactiae*, *Mycoplasma mycoides subsp. Mycoides*, *Mycoplasma capricolum subsp. Capri*, *Mycoplasma putrefaciens*.

Estrazione del DNA e 16S PCR. Il DNA di micoplasma è stato estratto da un'aliquota di 1 ml di colture in fase stazionaria utilizzando il PrepMan Ultra Sample Preparation Reagent kit secondo le istruzioni d'uso (Applied Biosystems). Il DNA dei tamponi e tessuti è stato estratto utilizzando il Genelute genomic DNA kit secondo le istruzioni d'uso (Sigma). Il DNA estratto è stato quindi sottoposto a dosaggio spettrofotometrico (NanoDrop2000c ThermoScientific) per valutarne la concentrazione e la purezza tramite il rapporto OD260/OD280.

L'amplificazione della regione V3 del gene 16S RNA è stata eseguita secondo il metodo di Muyzer et al. (1993) con piccole modifiche utilizzando il primer batterico universale GC-341F (5-CGCCCCGCCGCGCGGGCGGGCGGGGGCGGGGGCACGGGGGGCCTACGGGAGGCAGCAG) e il primer mollicutes-specifico R543 (5-ACCTATGTATTACCGCG). Per la reazione di PCR 1 µl di lisato è stato aggiunto come template ad una mix di reazione di 49 µl realizzata impiegando l'Ampli-TaqGoldDNA Polymerases secondo le istruzioni d'uso (Applied Biosystem). Un termociclatore a gradiente termico (CFX96™, Biorad) è stato utilizzato per testare un range di temperature di annealing per assicurare la specificità. Le condizioni termiche sono state le seguenti: denaturazione a 94 °C per 5 min, seguita da 30 cicli di 95 °C per 1 min, 56 °C per 45 s and 72 °C per 1 min, e uno step di estensione finale di 72 °C per 10 min, L'esito della PCR è stato controllato mediante elettroforesi su gel d'agarosio al 2% seguita dalla visualizzazione al transilluminatore mediante colorazione con GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain.

DGGE. La DGGE è stata eseguita utilizzando il DCode™ Universal Mutation System (Biorad). I campioni (20 µl) sono stati caricati su un gel 10% di poliacrilamide/bis (30:1) con gradiente di denaturazione 30-60% (dove 100% è 7 M urea e 40% (v/v) formam-



Ceppi di riferimento sottoposti a DGGE:

- (1) *M. capricolum sub. capricolum*
- (2) *M. putrefaciens*
- (3) *M. mycoides sub. mycoides*
- (4) *M. agalactiae*

mide deionizzata) in buffer TAE 1X (Severn Biotech). L'elettroforesi è stata eseguita a 100 V ad una temperatura di 58 °C per 18 h. I gel sono stati poi colorati con SYBR Gold (Cambridge BioScience) in TAE 1X per 30 min a 37 °C, decolorati in acqua distillata e visualizzati mediante transilluminatore a raggi UV.

Risultati e considerazioni - La metodica DGGE è stata validata, utilizzando i ceppi di riferimento NCTC re-

sponsabili dell'Agalassia Contagiosa (*M. agalactiae*, *M. mycoides capri*, *M. putrefaciens* e *M. capricolum*), in modo da creare uno schema diagnostico utile alla diagnosi di Agalassia Contagiosa. Tutte le specie di *Mycoplasma* analizzate con PCR DGGE hanno prodotto un amplicone di circa 340 bp e sebbene siano state trovate alcune bande non specifiche a 55 °C, l'aumento della temperatura di annealing a 56 °C ha aumentato la specificità dei primers, in modo da amplificare solo DNA di Mollicutes. L'analisi DGGE ha consentito la rilevazione e la differenziazione delle diverse specie di *Mycoplasma* con un'unica metodica. Il presente lavoro presenta alcuni significativi miglioramenti della procedura che comprendono l'impiego di primers *Mycoplasma*-specifici che permettono l'individuazione di colture miste, che sarebbero state difficili da rilevare con i metodi convenzionali. In conclusione, la DGGE permette la rapida rilevazione e differenziazione delle specie di *Mycoplasma*.

Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) as a tool to assess diversity of *Mycoplasma* species in small ruminants

Key words: 16S rDNA, DGGE, *Mycoplasma*

Bibliografia

- Garcia, M., M. W. Jackwood, M. Head, S. Levisohn, and S. H. Kleven. 1996. Use of species-specific oligonucleotide probes to detect *Mycoplasma galisepticum*, *M. synoviae*, and *M. iowae* PCR amplification products. *J. Vet. Diagn. Investig.* 8:56-63.
- Muyzer, G., de Waal, E. C. & Uitterlinden, A. G. (1993). Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* 59, 695-700.
- Laura McAuliffe, Richard J. Ellis, Jo R. Lawes, Roger D. Ayling and Robin A. J. Nicholas. 2005. 16S rDNA PCR and denaturing gradient gel electrophoresis; a single generic test for detecting and differentiating *Mycoplasma* species. *Journal of Medical Microbiology*, 54, 731-739.

Ricerca finanziata dal Ministero della Salute:
RC IZS Si 06/15

Relazione tra diversi SNPs del gene MTNR1A e influenza sull'attività riproduttiva in pecore di razza Sarda

PULINAS L, ASOLE FA, DI STEFANO MV, MURA MC, LURIDIANA S, BINI PP, CARCANGIU V

Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Sassari, Sassari

Parole chiave - ovini, stagionalità riproduttiva, fertilità, MTNR1A gene polymorphisms

Introduzione - La coordinazione tra l'attività riproduttiva e i cambiamenti climatici circannuali è essenziale per la sopravvivenza di molte specie animali. Infatti, la nascita e la crescita dei giovani ne trae vantaggio quando questa avviene in primavera, quando le temperature e la disponibilità di sostanze nutritive sono ottimali. Tutto ciò porta ad una stagionalizzazione della riproduzione e di conseguenza anche delle produzioni, con un notevole limite nella commercializzazione dei prodotti. La stagionalità riproduttiva nei piccoli ruminanti è sotto il controllo dell'andamento del fotoperiodo. Negli ovini e nei caprini la riduzione delle ore di luce giornaliera stimola l'attività riproduttiva mentre l'incremento di queste determina l'inizio del periodo di anaestros. I segnali fotoperiodici sono trasmessi in messaggi neuroendocrini dalla melatonina, per cui questo ormone può essere considerato l'ormone informatore endogeno dell'andamento del fotoperiodo. Nelle pecore, questo ormone viene secreto durante la notte dalla ghiandola pineale e agisce nell'ipotalamo premammillare dove controlla la secrezione del GnRH. Gli effetti della melatonina a livello ipotalamico sono esercitati attraverso specifici recettori e precisamente in quello MT1. Il gene di questo recettore della melatonina (MTNR1A) è stato proposto come gene candidato e sembra svolgere un ruolo chiave nel controllo della stagionalità. Diversi studi su diverse razze ovine hanno trovato due mutazioni silenziose nelle posizioni 606 e 612, associate al tratto riproduttivo stagionale (Pelletier et al., 2000; Carcangiu et al., 2009). Tuttavia questi polimorfismi non causano sostituzioni amminoacidiche che possono determinare un'alterazione della trasmissione del segnale melatoninico. Quindi lo scopo della presente ricerca è evidenziare possibili relazioni tra i diversi polimorfismi evidenziati nella sequenza del gene MTNR1A al fine di chiarire il meccanismo d'azione della melatonina nel regolare l'attività riproduttiva negli ovini di razza Sarda.

Materiali e metodi - Allo scopo sono state utilizzate 2000 pecore provenienti da 8 allevamenti, situati tutti nella provincia di Sassari, e che avevano lo stesso management. Da ogni allevamento sono state scelte 200 pecore dell'età compresa tra 3 e 6 anni e che avevano partorito tra il 20 Ottobre e il 10 Dicembre. Da ogni animale è stato prelevato un campione di sangue suc-

cessivamente utilizzato per l'estrazione del DNA con kit commerciale. 150µl di DNA di ogni campione sono stati utilizzati per amplificare il II esone del gene MTNR1A usando primer specifici. I prodotti della PCR sono stati sequenziati per evidenziare le possibili mutazioni. Le sequenze ottenute sono state allineate e confrontate con la sequenza ovina depositata in banca dati (GenBank U14109 e NW_014639035.1). In ogni gregge i maschi sono stati inseriti il 1 Maggio e allontanati il 30 luglio. I parti e il numero di agnelli nati sono stati registrati giornalmente; i dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica per evidenziare le relazioni tra i diversi polimorfismi e l'attività riproduttiva.

Risultati e considerazioni - I risultati ottenuti hanno confermato la presenza di 8 mutazioni, di cui due portano ad un cambio amminoacidico. I polimorfismi che presentano la frequenza maggiore sono quelli in posizione C606T, G612A e G706A. La mutazione in posizione 612 è sempre associata a quella in posizione 706, mentre gli altri polimorfismi non mostrano associazione tra loro. Questi tre polimorfismi hanno mostrato influenzare la risposta riproduttiva all'effetto maschio. Infatti, il polimorfismo in posizione 606 ha mostrato che gli animali che possiedono l'allele Ci hanno una migliore fertilità ($P < 0.05$) e un anticipo dell'attività riproduttiva ($P < 0.05$) rispetto agli animali con l'allele T. Per quanto riguarda la mutazione in posizione 612 e 706 gli animali che possiedono l'allele G, in omozigosi o in eterozigosi, mostrano una migliore fertilità e un anticipo dell'attività riproduttiva ($P < 0.01$) rispetto agli animali che mostrano l'allele A o C in omozigosi. Di difficile spiegazione è il meccanismo che influenza la stagionalità riproduttiva per il polimorfismo in posizione 606, in quanto non genera cambiamenti amminoacidici nella catena proteica. Invece per quanto riguarda il polimorfismo in posizione 612, poiché è sempre associato con quello in posizione 706, sussiste un'ipotesi per spiegare la sua azione sull'attività riproduttiva. Infatti, la mutazione in posizione 706 causa un cambio amminoacidico, di una valina in isoleucina, nella catena proteica in posizione 220 situata in prossimità di un dominio transmembranario. Questo fatto determina, come evidenziato da alcuni AA, un'alterazione della trasmissione del segnale con la conseguente azione sull'attività riproduttiva. Pertanto, l'associazione

di questi due polimorfismi spiega l'effetto sulla stagionalità riproduttiva rilevato in diverse razze ovine. In conclusione, si evidenzia ulteriormente che i due polimorfismi summenzionati intervengono nel migliorare la ripresa riproduttiva degli ovini in primavera. Tuttavia rimane ancora da chiarire il preciso meccanismo di azione e in particolare per il polimorfismo in posizione 606 del gene MTNR1A.

Relationship between different SNPs of the MTNR1A gene and influence on reproductive activity in sardinian sheep

Key words - ovine, reproductive seasonality, fertility, MTNR1A gene polymorphisms

Bibliografia

Carcangiu V., et al. (2009) Polymorphism of the melatonin receptor MT1 gene and its relationship with seasonal reproductive activity in the Sarda sheep breed *Anim Reprod Sci* 116: 65–72. Pelletier J., et al., (2000) Association between expression of reproductive seasonality and alleles of the gene Mel1a receptor in the ewe. *Biol Reprod* 62:1096-1101..

Lavoro eseguito con il finanziamento della
Regione Autonoma della Sardegna,
progetto MIGLIOVINGENSAR

Protocollo di valutazione del benessere e della biosicurezza nelle pecore da latte

RE R¹, BERTOCCHI L², GIOVANNANTONIO P¹, FUSI F², LORENZI V², ANGELUCCI A², MONTEVERDE VP³, NICOLUSSI P¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna Laboratorio Stabulario e Benessere Animale; ²Istituto Zooprofilattico della Lombardia e dell'Emilia Romagna Centro di Referenza Nazionale per il Benessere Animale (CRENBA); ³Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia

Parole chiave - Benessere degli animali; lista di controllo; Pecore da latte

Introduzione - L'allevamento semiestensivo degli ovini da latte, più sostenibile rispetto agli allevamenti intensivi, è caratterizzato da un minore impatto sul benessere animale; tuttavia presenta alcune criticità su cui è necessario focalizzare l'attenzione. A livello europeo non esiste una normativa specifica per la salvaguardia del benessere negli allevamenti ovini; la Direttiva 98/58/CE fornisce solo regole generali e non specifiche per questa specie. Il progetto Welfare Quality ha introdotto una nuova metodica per la valutazione del benessere incentrata sugli ABMs (animal based measures), ma che utilizza anche rilevazioni riguardanti gli N-ABMs (non animal based measures). ABMs e N-ABMs sono entrambi necessari per ottenere una valutazione completa del benessere in allevamento. EFSA riprende la linea innovativa di Welfare Quality riguardo alle ABMs, ma in più introduce la valutazione dei fattori di rischio che incidono negativamente sull'animale, fornendo un parere scientifico sui maggiori pericoli per il benessere degli ovini produttori di lana, carne e latte. Non esiste in Italia un protocollo di valutazione del benessere animale nell'allevamento degli ovini da latte che utilizzi sia gli ABMs che gli N-ABMs unitamente alla valutazione del rischio. L'IZS della Sardegna, su incarico del CRENBA, ha sviluppato un protocollo di valutazione semplice e facilmente utilizzabile, da applicare per i controlli ufficiali in tutto il territorio nazionale.

Materiali e metodi - Per la valutazione del benessere degli ovini da latte allevati in modo semiestensivo, sono state scelte sia ABMs, che N-ABMs. Queste ultime, in particolare, fanno riferimento all'identificazione di tutti quei fattori in grado di incidere negativamente o positivamente sul benessere degli ovini da latte, facendo riferimento alle raccomandazioni contenute in EFSA e in altra letteratura disponibile (Awin 2009), insieme a misure indicate nella legislazione italiana (D.Lgs.N.146/2001) ed europea (Direttiva 98/58/CE). Si è proceduto all'individuazione dei fattori che possono influenzare negativamente o positivamente il benessere della popolazione di animali oggetto di studio e una definizione delle relative misure e soglie di benessere.

Successivamente sono stati identificati gli effetti avversi sugli animali (ovvero le conseguenze del verificarsi dei

pericoli) e la scelta delle ABMs per la loro misurazione. Le misure e le soglie identificate sono state giudicate mediante un processo di caratterizzazione del rischio di tipo semi-quantitativo, da un team di esperti in campo ovino (medici veterinari) che ha definito numericamente l'impatto sul benessere della popolazione target dei fattori e degli effetti avversi.

Le misure selezionate e pesate dagli esperti sono state inserite in una check list da applicare sul campo, suddivisa in cinque macro aree: Area A Management aziendale e Personale, Area B Strutture ed Attrezzature, Area C ABMs. L' Area C ABMs riveste grande importanza ai fini dell'attribuzione del giudizio finale sul livello di benessere degli animali, in quanto rappresenta gli effetti positivi o negativi che i fattori presenti nelle Aree A e B hanno sull'animale. All'interno delle macro aree sono stati inseriti gli elementi di verifica di benessere che possono comprendere da due a tre opzioni di risposta. Qualora siano presenti due possibilità di scelta la prima rappresenta una situazione negativa o di pericolo rispetto alla condizione dell'animale in allevamento, la seconda una situazione sufficiente, mentre in caso di tre opzioni, la terza costituisce una situazione eccellente, particolarmente favorevole all'animale, rispetto alla condizione sufficiente espressa nella seconda opzione. La check list è stata utilizzata in 67 allevamenti per verificarne l'applicabilità in campo.

Risultati e considerazioni - La check list nei 67 allevamenti in cui è stata testata si è rivelata uno strumento snello e di facile applicabilità. Le N-ABMs identificate sono basate sull'analisi dei reali fattori di rischio presenti nell'allevamento di ovini da latte, mentre le ABMs hanno consentito di osservare gli effetti positivi o negativi che tali fattori hanno sull'animale. L'utilizzo contemporaneo delle due misurazioni ha permesso una valutazione più dettagliata delle problematiche inerenti il benessere.

L'impiego della check list su ampia scala negli allevamenti semiestensivi degli ovini da latte ha consentito di evidenziare nell'immediato e in tempi relativamente rapidi (da un'ora a un'ora e mezza a seconda della consistenza dell'allevamento) le condizioni di scarso benessere, e nel contempo di suggerire all'allevatore i possibili interventi correttivi.

Check list for assessing welfare and biosecurity in dairy sheep breeding

Key words - Animal-based measures; Animal welfare; Checklist; Dairy sheep

Bibliografia

Awin 2015 Awin welfare assessment protocol for sheep.
Decreto Legislativo n. 146 del 26 marzo 2001 (Attuazione della direttiva 98/58/CE relative alla protezione degli ani-

mali negli allevamenti). Gazzetta Ufficiale 95 24/4/2001
EFSA 2012 Guidance on Risk Assessment for animal Welfare. EFSA Journal 10(1):2513
EFSA 2012 Statement on the use of animal based measures to assess the welfare of animals. EFSA Journal
EFSA 2014 Scientific opinion on the welfare risks related to the farming of sheep for wool, meat and milk production. EFSA Journal 12(12):3933
Welfare Quality 2009 Welfare Quality® Assessment protocol for cattle pigs and poultry. Consortium, Lelystad, Netherlands.

Possiamo combattere l'antelmintico resistenza nei ruminanti?

RINALDI L¹, BOSCO A¹, DE ALCUBIERRE M¹, SOTIRAKI S², CLAEREBOU E³, MORGAN E⁴, VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G⁵, KENYON F⁶, HOSTE H⁷, CRINGOLI G¹, CHARLIER J⁸

¹University of Naples Federico IIa, Department of Veterinary Medicine and Animal Productions, 80137 Napoli, Italy; ²Laboratory of Parasitology, VetResInst, HAO-DEMETER, Thessaloniki, Greece; ³Laboratory of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Belgium; ⁴Queen's University Belfast, Institute for Global Food Security, United Kingdom; ⁵Freie Universität Berlin, Institute for Parasitology and Tropical Veterinary Medicine, Berlin, Germany; ⁶Moredun Research Institute, Pentlands Science Park, Edinburgh Scotland, UK; ⁷UMR 1225 IHAP INRA/ENVIT, Toulouse, France; ⁸KREAVET, Kruibeke, Belgium

Parole chiave - Animali da Reddito, Antelmintico Resistenza, COMBAR

Introduzione - Gli elminti sono parassiti ancora molto diffusi negli animali da reddito in tutto il mondo, causando gravi infestioni e sono tra i principali responsabili delle riduzioni delle performance produttive dei ruminanti al pascolo. Il frequente uso di antiparassitari per controllare queste infezioni ha determinato la selezione di popolazioni elmintiche resistenti ai farmaci antiparassitari. L'antelmintico resistenza (AR) si riscontra oggi nelle principali specie di elminti in tutta l'UE ed in molti Paesi nel mondo. Il problema è particolarmente diffuso negli allevamenti ovini e caprini. Il COMBAR (*COMBatting Anthelmintic Resistance in Ruminants*) è una COST Action lanciata di recente (2017) che mira a far progredire la ricerca sulla prevenzione del fenomeno dell'AR negli elminti dei ruminanti ed a diffondere le conoscenze attuali tra tutte le figure professionali coinvolte nella tematica. Il COMBAR si propone di affrontare il problema della AR in modo integrato attraverso un networking europeo che ha già attirato scienziati da 27 paesi.

Materiali e metodi - Il COMBAR è organizzato in tre gruppi di lavoro (*working groups* - WG).

WG1 "Miglioramento della Diagnosi".

Questo WG mira a valutare, implementare e favorire la scelta di metodi economicamente efficaci per la diagnosi delle infezioni da elminti e dell'AR.

Il WG1 si prefigge tre risultati principali da realizzare:

- elenco di test diagnostici armonizzati, validati e di nuova introduzione in tutti i laboratori europei e il livello di maturità tecnologica di test nuovi non ancora disponibili in commercio;
- analisi del mercato europeo per almeno un nuovo test diagnostico;
- mappe aggiornate sulla presenza e diffusione dell'AR nei ruminanti in Europa.

WG2 "Comprendere gli aspetti socio-economici"

Questo WG mira a sviluppare, diffondere e applicare

metodi per studiare gli aspetti economici e socio-psicologici nell'ambito del controllo degli elminti nei ruminanti. Il WG2 si propone i seguenti obiettivi:

- workshop sugli aspetti economici che riguardano la sanità animale e il controllo degli elminti; workshop sui metodi di ricerca in ambito socio-psicologico rilevanti per la sanità animale;
- studio approfondito sugli attuali ostacoli e sulle motivazioni per l'adozione di strategie di controllo antelmintico sostenibile e i metodi per affrontarli.

WG3 "Metodi di controllo innovativi e sostenibili"

Il WG3 mira a sviluppare strategie di controllo pratiche e sostenibili che integrino le attuali conoscenze circa la diagnostica, i *Targeted (Selective) Treatment*, l'epidemiologia, i foraggi ad attività antiparassitaria, i vaccini, l'economia degli allevamenti e il comportamento umano.

IL WG3 si propone infine di realizzare i seguenti obiettivi:

- database degli approcci di controllo alternativo;
- valutazione *in silico* e/o *in vivo* di strategie di controllo integrate;
- sviluppo di un Sistema di Supporto Decisionale finalizzato a trattamenti antelmintici sostenibili;
- linee guida delle "best practice" per un controllo sostenibile degli elminti per le istituzioni scientifiche, le organizzazioni professionali e tutti coloro che lavorano nell'ambito del benessere animale.

Conclusioni e considerazioni - La COST Action COMBAR metterà in atto un approccio coordinato a livello europeo per contrastare il fenomeno dell'AR mediante lo sviluppo di nuove tecnologie diagnostiche e di nuove strategie di trattamento antiparassitario basate su metodi sostenibili sia a livello economico che ambientale.

Can we combat anthelmintic resistance in ruminants?

Key words - livestock, Anthelmintic Resistance, COMBAR

Agenti patogeni contagiosi nel latte ovi- caprino: studio su 18 stalle del Cuneese

SANGRALI M, MIDULLA L, PRIN ABEIL M, BERETTA M, BARAZZUOL F, SARALE A

Laboratorio Agrilab s.r.l. (CN)

Parole chiave - latte, qualità, ovi-caprini, contagiosi

Introduzione - Le aziende ovine e caprine da latte hanno subito una forte crescita in Piemonte in questi ultimi anni, ciò ha portato parallelamente ad un incremento della qualità del latte e della sensibilità degli allevatori in questo settore. Nonostante i limiti di legge non siano restrittivi come nel settore bovino, è aumentata l'attenzione alla qualità del latte e l'impegno nel migliorarli. Per quanto riguarda gli agenti patogeni contagiosi, non tutti gli allevatori effettuano uno screening sul latte di massa per sapere se sono presenti in stalla, in molti casi per disinformazione, in altri a causa della successiva difficoltà nella gestione dell'allevamento. La presenza di patogeni contagiosi nelle mammelle degli animali può portare a diverse conseguenze:

- Diminuzione delle produzioni di latte portata dalle mastiti subcliniche;
- Casi di mastite clinica, anche molto severi;
- Danni alle mammelle in seguito ad infiammazioni prolungate;
- Aumento del numero delle cellule somatiche;
- Rischi per la sicurezza alimentare qualora il latte venga destinato alla caseificazione (enterotossine stafilococche);
- Minori rese casearie.

Materiali e metodi - Sono stati prelevati 18 campioni di latte di massa in allevamenti della provincia di Cuneo, 13 dei quali provenienti da allevamenti caprini, 5 da allevamenti ovin, per un totale di 1.140 caprini e 1.630 ovin. Le aziende risultano eterogenee per numero di capi, gestione, struttura, razza, produzioni e conta delle cellule somatiche (CCS). In ogni campione di latte sono stati ricercati Stafilococchi coagulasi positivi, *Streptococcus agalactiae* e *Prototheca* con esame microbiologico, *Mycoplasma spp.* in PCR ed è stata effettuata la conta delle cellule somatiche per ml (CCS/ml) mediante Fossomatic™ FC.

Dei 13 allevamenti caprini, 7 (allevamenti dall'1 al 7) consegnano il latte ad un caseificio, mentre 6 (allevamenti dall'8 al 13) lo lavorano direttamente nel caseificio aziendale; dei 5 allevamenti ovin, uno soltanto consegna il latte ad un caseificio (allevamento 1), 4 (allevamenti dal 2 al 5) lo lavorano in azienda. Negli allevamenti che lavorano direttamente il latte, è stato prelevato un campione di formaggio per la ricerca delle enterotossine stafilococche. Eccetto l'allevamento 13 (caprini) e l'allevamento 5 (ovini) che pastorizzano, tutti gli altri trasformano a latte crudo.

Risultati e considerazioni - i risultati degli esami microbiologici sul latte di massa non evidenziano alcuna positività per *Streptococcus agalactiae* e *Prototheca*, mentre

10 dei 18 allevamenti analizzati risultano positivi a *S. coagulasi* positivi. Un campione di latte su 18 è risultato positivo per *Mycoplasma spp.*. Tutti i campioni di formaggio analizzati presentano enterotossina stafilococca inferiore ai limiti di rilevabilità. I valori di CCS/ml su latte di massa risultano eterogenei nei diversi allevamenti (. 1).

Dai risultati ottenuti si può concludere che:

- Nessun allevamento ha mostrato positività per *Streptococcus agalactiae*;
- La *Prototheca* non è stata evidenziata nel latte di massa ovino e caprino, in accordo con i risultati ottenuti fino ad oggi in letteratura;
- Un solo campione di latte ovino su 18 campioni di latte ovi-caprino è risultato positivo per *Mycoplasma spp.* Ad oggi non ci sono abbastanza studi epidemiologici in merito a *Mycoplasma spp.* negli ovi-caprini in Piemonte per fare un confronto;
- Il 56% dei campioni è risultato positivo per *S. coagulasi* positivi;
- Nonostante la positività di 10 su 18 allevamenti agli stafilococchi coagulasi positivi, in nessuno dei 10 campioni di formaggio è stata rilevata la presenza di enterotossine stafilococche;
- L'80% (8/10) degli allevamenti positivi a Stafilococchi coagulasi positivi ha mostrato CCS > 500.000, mentre l'83% (5/6) degli allevamenti con valore <10 di Stafilococchi coagulasi positivi analizzati per CCS (soltanto 6 su 8) ha CCS < 500.000. Non si è tenuto conto in questa valutazione del numero di parti degli animali, né della visita clinica della mammella, che avrebbero potuto dare altri motivi di aumento della CCS.

Conclusioni - Dai risultati ottenuti nello studio si può affermare che il maggiore problema ad oggi negli allevamenti risulti essere la presenza di Stafilococchi coagulasi positivi. Non è stata osservata la presenza di enterotossine stafilococche in nessuno dei formaggi analizzati, ma se ne ritiene indispensabile il continuo monitoraggio data la permanenza del rischio sul prodotto finito. L'aumento di cellule somatiche associato alla presenza di stafilococchi coagulasi positivi è un dato oggettivo, ma per ora non un problema per gli al-

Tab. 1 - Allevamenti analizzati, numero di capi e risultati ottenuti: agenti patogeni contagiosi e CCS sul latte di massa, enterotossine stafilococciche sui formaggi.

ALLEVAMENTI	n° di capi	<i>Streptococcus Agalactiae</i> * UFC/ml	<i>Prototheca</i> * UFC/ml	<i>Mycoplasma</i> <i>spp.</i>	<i>Stafilococchi</i> <i>coagulasi</i> <i>positivi</i> * UFC/ml	Enterotossine stafilococciche/ 25g (formaggi)	CCS/ml
CAPRINI							
Allevamento 1	80	<10	<10	Negativo	450	/	1.423.000
Allevamento 2	30	<10	<10	Negativo	100	/	630.000
Allevamento 3	130	<10	<10	Negativo	<10	/	512.000
Allevamento 4	400	<10	<10	Negativo	10	/	890.000
Allevamento 5	20	<10	<10	Negativo	20	/	277.000
Allevamento 6	60	<10	<10	Negativo	<10	/	/
Allevamento 7	20	<10	<10	Negativo	<10	/	186.000
Allevamento 8	60	<10	<10	Negativo	50	Assenti	437.000
Allevamento 9	60	<10	<10	Negativo	300	Assenti	550.000
Allevamento 10	60	<10	<10	Negativo	<10	Assenti	155.000
Allevamento 11	150	<10	<10	Negativo	80	Assenti	776.000
Allevamento 12	20	<10	<10	Negativo	50	Assenti	930.000
Allevamento 13	50	<10	<10	Negativo	<10	Assenti	286.000
OVINI							
Allevamento 1	800	<10	<10	Negativo	250	/	757.000
Allevamento 2	600	<10	<10	Positivo	2500	Assenti	720.000
Allevamento 3	30	<10	<10	Negativo	<10	Assenti	170.000
Allevamento 4	100	<10	<10	Negativo	<10	Assenti	/
Allevamento 5	100	<10	<10	Negativo	<10	Assenti	407.000

* Limite di rilevabilità della metodica: 10 UFC/ml

levatori, data la mancanza di un valore massimo accettabile di CCS nel latte di massa negli ovi-caprini. La bassa percentuale di positività riscontrata per *Mycoplasma spp.* non rappresenta ad oggi un problema in provincia di Cuneo, ma si ritiene indispensabile un attento e continuativo controllo nelle aziende.

Tuttavia saranno necessari ulteriori ed approfonditi studi per confermare le effettive prevalenze degli agenti patogeni contagiosi negli allevamenti ovinii e caprini piemontesi, e sarà necessario sensibilizzare gli allevatori a limitarne la diffusione.

Contagious mastitis pathogens in sheeps and goats: a trial in 18 farms in Cuneo area

Key words - goat, milk, mastitis

Bibliografia

- The diagnosis of mastitis and contagious agalactia in dairy goats Paterna A et al. 2014
Molecular screening of ovine mastitis in different breeds Guerreiro O. et al. 2012
Mastitis in small ruminants Contreras A. et al. 2006

Le principali razze caprine autoctone allevate nel Lazio meridionale.

SARALLI G¹, GALLI T¹, BRANCALEONE M², DI GIOVANNANTONIO C², FAGIOLO A¹, ROSATI R¹

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M. Aleandri; ²Agenzia Regionale per lo Sviluppo e l'Innovazione dell'Agricoltura del Lazio (ARSIAL)

Parole chiave - Capre, razze autoctone, Lazio

Introduzione - Nelle aree meridionali del Lazio l'allevamento caprino è da sempre basato su una popolazione di animali ascrivibile a capre appartenenti al gruppo "mediterraneo". All'interno di questa popolazione sono riconoscibili diversi soggetti assai eterogenei dal punto di vista morfologico che genotipico, a causa di ripetuti incroci - a volte inconsapevoli - per la scarsa sensibilità degli allevatori a praticare allevamento in purezza. Tuttavia, le razze maggiormente riscontrate sono la Bianca Monticellana, la Capestrina e la Grigia Ciociara.

I processi di esodo rurale e il ridimensionamento delle piccole aziende, hanno coinciso con la drastica diminuzione di tali razze, caratterizzate da una minore produttività e redditività, per molte delle quali vi è rischio di estinzione. Ciò rappresenta un danno per l'intera collettività per la perdita di un patrimonio funzionale al rafforzamento di processi di sviluppo basati sulla qualità delle produzioni e la valorizzazione/salvaguardia del territorio. Da ciò la necessità di attivare nell'ambito delle misure agroambientali specifiche forme di sostegno alle imprese agricole.

Materiali e metodi - Trattasi di un lavoro preliminare di un più ampio progetto di ricerca, in corso, finalizzato alla definizione della reale consistenza numerica e distribuzione geografica delle razze, oltre che alla valutazione delle loro performance produttive. Lo studio è iniziato con l'acquisizione degli elenchi degli allevamenti aderenti alla rete di conservazione della biodiversità che allevano razze iscritte al Registro Volontario Regionale di cui alla L.R. 15 marzo 2000, n. 15, "Tutela delle risorse genetiche autoctone di interesse agrario".

Tutti gli allevamenti sono stati visitati per accertare la consistenza dei capi allevati e la loro rispondenza su base morfologica alle caratteristiche fenotipiche di razza.

Risultati e considerazioni - Come riportato in recenti ricerche effettuate da Arsiyal e dall'IZS (1) sull'allevamento della capra e sulla presenza di alcuni tipi genetici autoctoni nelle province di Latina e Frosinone, l'allevamento della Capra Bianca Monticellana è diffuso nelle aree meridionali del Lazio. Il maggior numero è concentrato sui Monti Aurunci e Ausoni nei versanti delle province di Frosinone e

Latina. Risultano presenti nuclei anche sui Monti delle Mainarde (Val Comino) in provincia di Frosinone, sui Monti Lepini sia del versante Pontino che della provincia di Roma e sui Monti Prenestini in provincia di Roma. Mentre l'areale di allevamento della Capra Capestrina è situato nel sud del Lazio sulle dorsali dei Monti Lepini, Ausoni ed Aurunci. Una diffusa presenza la si riscontra anche nei monti delle Mainarde in Val Comino. Ultime propaggini di diffusione sembrano i Monti Prenestini in provincia di Roma. Riguardo alla Grigia Ciociara, è difficile individuare con certezza il territorio dei nuclei originari perché tale popolazione è sempre stata interessata dalla transumanza anche in territori delle regioni limitrofe di Campania e Abruzzo. L'attuale area di diffusione, seppure con pochi nuclei in purezza, risulta compresa tra l'intera Val Comino fino alle piane e colli di S. Vittore e Cassino e la dorsale frusinate e romana dei Monti Lepini, Ausoni ed Aurunci da Colleferro al Garigliano, compresa la zona dei Monti Prenestini.

Le capre di razza *Bianca Monticellana* risultano (2): taglia medio-grande (peso 50/70 kg le femmine; 80/90 kg i maschi); apparato mammario piccolo con capezzoli non molto sviluppati, conformazione variabile da bifido a ipogloboso; testa relativamente grande, nei maschi molto tozza (montonina), profilo frontale leggermente camuso, coperta da peluria corta, presenza di ciuffi sulla fronte e sulla barbetta, provvista in ambo i sessi di grosse corna, relativamente appiattite con punte divergenti, orecchie lunghe, grandi, pendenti con l'estremità apicale spesso rivolta all'esterno, occhi di colore chiaro, collo lungo con tettole di colore bianco; mantello di colore bianco. Attitudine produttiva principale latte, secondaria carne.

Le capre di razza *Capestrina* sono di taglia medio-grande, femmine con peso tra i 46-53 Kg e maschi tra 80-85 Kg; apparato mammario mediamente sviluppato di conformazione variabile da bifido a ipogloboso; testa grande, lunga con profilo leggermente camuso, generalmente coperta da peluria corta e quasi sempre caratterizzata da una linea bianca sopraorbitale. Sempre presente la barbetta, più pronunciata nei maschi; entrambi i sessi sono provvisti di grandi corna divergenti e relativamente appiattite; orecchie grandi, larghe e pendenti o semipendenti; occhi scuri, collo lungo e molto largo nei maschi; mantello melanico nero o marrone focato uniforme su tutto il corpo e con arti

chiari con linea nera anteriore. Attitudine produttiva principale latte, secondaria carne.

Le capre di razza *Grigia Ciociara* sono di taglia media, femmine con peso tra i 45-55 Kg e maschi tra 75-85 Kg; apparato mammario mediamente sviluppato di conformazione variabile da bifido a ipogloboso. Il tipo semibifido è la tipologia più diffusa a cui si associano capezzoli di media dimensione; testa grande, lunga con profilo leggermente camuso, generalmente coperta da peluria corta talvolta con un pronunciato ciuffetto frontale, sempre presente la barbetta; sia nelle femmine che nei maschi sono presenti soggetti acorni o provvisti di grandi corna divergenti e relativamente appiattite; orecchie grandi, larghe e pendenti o semipendenti ma non trascurabile la presenza di orecchie più piccole portate orizzontali; occhi scuri, collo lungo e non sempre provvisto di tette; mantello grigio-argenteo scuro e chiaro uniforme su tutto il corpo compresi gli arti e la testa ove la tonalità di grigio è data da maculature; nei soggetti giovani può persistere fino a tre anni un mantello marrone focato che man mano viene sostituito con il mantello grigio. Attitudine produttiva principale latte, secondaria carne.

Il mantenimento o l'aumento della consistenza di tali razze apporta diversi vantaggi coerenti con l'obiettivo

specifico anche dei programmi di tutela e salvaguardia della biodiversità e in particolare di tutela e sviluppo dei sistemi agricoli e forestali che abbiano "elevata valenza naturale". La loro sopravvivenza, oltre all'interesse storico e culturale a esse legato, è necessaria anche per la valorizzazione del latte e dei formaggi tipici locali quali la Marzolina (PAT), il formaggio di Capra e la Ricotta Secca, sui quali sarebbe necessario avere ulteriori conoscenze.

Main local goat breeds bred in the southern Lazio Region.

Key words - goats, local breeds, Lazio

Bibliografia

- Costanza M.T., Di Marco A., Barbagiovanni I. (2005) Recupero, caratterizzazione e tutela del germoplasma animale autoctono del Lazio a rischio di erosione genetica. Atti del VII Convegno Nazionale sulla Biodiversità. Catania 30 marzo 2005.
- Tanca M., Cironi P., Brancaleone M. (2008) La capra Bianca Monticellana. Quaderno N. 4 ARSIAL
-

Caratteri fenotipici/genotipici per la produzione di Alginato negli isolati clinici di *Pseudomonas aeruginosa* presenti negli allevamenti ovini

SCANO A¹, ORRÙ G¹, SERAFI G¹, PUGGIONI F¹, BOMBOI S¹, PATERI L¹, FAIS S¹, LICIARDI M²

¹MBS (Molecular Biology Service), Università degli Studi di Cagliari; ² IZS - Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, Cagliari, Italia.

Parole chiave - *Pseudomonas*, *mucA*, Biofilm, Alginate

Introduzione - In ambito sanitario il genere *Pseudomonas* è temuto per la sua resistenza agli antibiotici e agli antimicrobici, resistenza dovuta alla capacità di formare biofilm protettivo. *P. aeruginosa* è il patogeno più comune isolato nelle infezioni nosocomiali e in campo veterinario è di notevole importanza in bovini, ovini e caprini, dove può causare mastiti ambientali; è un piccolo bacillo Gram negativo caratterizzato da una capsula spessa ricoperta di alginato. L'alginato è il componente principale della matrice extracellulare del biofilm; ha una funzione protettiva in un ambiente relativamente ostile, in cui i batteri sono continuamente sottoposti a stress ossidativo e attaccati dal sistema immunitario. *P. aeruginosa* presenta un fenotipo non mucosidico sensibile agli antibiotici e un fenotipo mucosidico resistente agli antimicrobici. In alcuni casi, la conversione del fenotipo non mucosidico nel fenotipo mucosidico è causata da mutazioni che si verificano in due distinti loci cromosomici denominati MUC. L'inattivazione *in vitro* di *mucA* in *P. aeruginosa* POA1 (non mucoso) produce i ceppi Alg⁺; questo sembra indicare, quindi, che *mucA* agisce come un regolatore negativo della produzione di alginato perché può legare e sequestrare il fattore ²² attraverso il dominio citoplasmatico N-terminale. L'obiettivo del nostro lavoro è un'analisi dell'influenza delle mutazioni del gene *mucA* nei ceppi mucosidici di *P. aeruginosa*.

Materiali e metodi - Gli isolati clinici sono rappresentati da un totale di 36 ceppi di *P. aeruginosa* provenienti da 12 allevamenti ovini appartenenti a diverse aree della Sardegna, di cui 35 isolati da prelievi di latte di pecore infette da mastite e uno dall'acqua di lavaggio proveniente dalla mungitrice. I campioni di latte sono stati seminati in agar Cetrimide e incubati a 42°C per 24 ore e identificati mediante sequenziamento. Il DNA batterico è stato estratto per shock termico. Un frammento di 585 pb contenente l'intero gene *mucA* è stato ottenuto mediante PCR in cui 1 ul di sospensione microbica è stato aggiunto alla miscela contenente 3,5 ul di MgCl₂ e 0,7 ul di primer Pamuc. I cicli termici sono stati impostati come segue: 95° per 3', 40 cicli di 95° per 1', 50° per 1' e 72° per 3'. Per rilevare possibili cambiamenti nel nucleotide del gene *mucA* di *P. aeruginosa*, i campioni sono stati sequenziati, usando gli

stessi primer per PCR, con il metodo Sanger. La regione target della PCR è stata identificata dal programma di allineamento di sequenze multiplo Clustal Omega <EMBL-EBI>.

Risultati e considerazioni - I risultati hanno evidenziato che 19 / 36 campioni sono stati infettati da ceppi mucosidici di *P. aeruginosa*, 17 / 36 sono stati infettati da ceppi non mucosidici. Il gene *mucA* è stato amplificato e sequenziato in tutti i ceppi per rilevare eventuali mutazioni come possibile causa del fenotipo mucosidico. Le sequenze ottenute sono state confrontate con quelle disponibili online nel database NCBI utilizzando il programma BLAST per visualizzare direttamente i cambiamenti o le interruzioni nella sequenza di amminoacidi. In questo lavoro è stato valutato il frammento sequenziato di 585 pb del gene (pari a 194 Aa). Il ceppo fenotipicamente non produttore di alginato genotipicamente mostra una sequenza perfettamente "in match" alla sequenza di riferimento del PAO1 (non mucosidico NC_002516.2).

L'isolamento di fenotipi di *P. aeruginosa* non mucosidici e di fenotipi mucosidici che producono alginato, negli allevamenti ovini da latte, suggerisce l'azione di fattori che possono causare mutazioni nel gene che codifica per la proteina MucA. La conversione al fenotipo mucosidico potrebbe essere il risultato di mutazioni cromosomiche indotte dall'uso di disinfettanti e da trattamenti antibiotici errati effettuati in allevamento, per il controllo della mastite. Inoltre, i risultati suggeriscono che la maggior parte dei ceppi analizzati può rappresentare un percorso intermedio tra ceppi ambientali non alginati e specie mucosidici altamente patogene, tali da evidenziare una funzione pre-adattativa alla patogenicità indotta dai sistemi di disinfezione usati nell'allevamento, specialmente nella mungitrice. Ciò dovrebbe portare le autorità sanitarie, a effettuare un controllo più accurato dei metodi di profilassi nel bestiame e in particolare l'uso indiscriminato di disinfettanti e antibiotici.

Phenotypic/genotypic characters for the production of alginate in the clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* present in sheep breeding

Key words - *Pseudomonas*, *mucA*, Biofilm, Alginate

Bibliografia

- Pseudomonas aeruginosa biofilms in disease Isabella V. M., Lewis K., Mulcahy L. R.; 2014; Microb Ecol.
- Pseudomonas aeruginosa in dairy goats: genotypic and phenotypic comparison of intramammary and environmental isolates Ballarini A., Barberio A., Bronzo V., Casula A., García-Fernández A., Jousson O., Leoni L., Locatelli C., Morandi S., Moroni P., Pisoni G., Rapetti L., Scaccabarozzi L., 2015, PLOS ONE
- Antimicrobial susceptibility differences among mucoid and non-mucoid pseudomonas aeruginosa isolates Alaghehbandan R., Lari A. R., Owlia P., Nosrati R.; 2014; GMS Hyg Infect Control
- Co-regulation of β -lactam resistance, alginate production and quorum sensing in pseudomonas aeruginosa; 2011; Balasubramanian D., Jayawardena S. R., Kong K., Leal S. M., Mathee K., Sautter R. T. 2011; J Med Microbiology
- Understanding the control of pseudomonas aeruginosa alginate synthesis and the prospects for management of chronic infections in cystic fibrosis Ramsey D. M., Wozniak D. J.; 2005; molecular microbiology
-

Valutazione della specificità e sensibilità in elisa degli anticorpi monoclonali e policlonali anti-beta2 di *C. perfringens*: Dati preliminari

SERRONI A, CIULLO M, PELLEGRINI M, CROTTI S, CRUCIANI D, GOBBI M, D'AVINO N, PAPA P, DE GIUSEPPE A

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche "Togo Rosati", Perugia

Parole chiave - *C. perfringens*, CPB2 ricombinante, anticorpi monoclonali

Introduzione - *C. perfringens* è un batterio Gram-positivo anaerobio sporigeno, ubiquitario, presente negli strati superficiali del suolo così come nell'intestino dell'uomo e degli animali. In alcune circostanze può divenire patogeno e la sua virulenza è da attribuire alla sua capacità di produrre almeno 16 differenti tipi di tossine, quattro delle quali (α , β , ϵ , ι) sono definite tossine "maggiori". Sulla base della produzione delle tossine maggiori, *C. perfringens* viene classificato nei tossinotipi A, B, C, D ed E. Tra le tossine minori è stata identificata la tossina beta2, nelle sue varianti alleliche *consensus* ed atipica (CPB2). La CPB2, una proteina di circa 28 kDa, può essere prodotta da tutti i tossinotipi ed è codificata dal gene *cpb2* localizzato a livello plasmidico. La sua implicazione a livello clinico non è stata ancora definita ed ad oggi il meccanismo d'azione e la sua attività biologica rimangono sconosciuti. L'ipotesi più avvalorata è che questa tossina esplichi la sua azione in sinergia con le tossine maggiori, con conseguente aggravamento del quadro clinico. Nel presente lavoro una forma deleta della CPB2 atipica è stata espressa in sistema baculovirus ed utilizzata come presidio immunizzante per la produzione di anticorpi monoclonali e policlonali, impiegati a loro volta come reagenti per l'allestimento di un test ELISA.

Materiali e metodi - *Clonaggio e generazione del baculovirus ricombinante*: il gene codificante la forma deleta della tossina beta2 atipica (delezione dei primi 26 aa della regione amino-terminale) è stato ottenuto mediante reazione di amplificazione impiegando primers specifici e DNA estratto da un ceppo di *C. perfringens* di campo. Il prodotto amplificato è stato digerito con gli enzimi di restrizione *EcoRI*-*AgeI* e clonato, *in frame* con il tag-6xHis, nel vettore per baculovirus POET2C_6xHis. Il costrutto ottenuto è stato impiegato per la generazione del baculovirus ricombinante secondo procedura riportata sul manuale FlashBac baculovirus expression system (Oxford Technologies Expression).

Produzione, caratterizzazione e purificazione della proteina ricombinante: le cellule Sf21 sono state infettate con il baculovirus ricombinante ed incubate a 27° C per 72 ore. Le cellule sono state trattate con un buffer di

lisi (UREA 8M, Triton X100 1% e DTT 5 mM) e l'estratto cellulare è stato recuperato a seguito della chiarificazione tramite centrifugazione. L'espressione della proteina ricombinante è stata valutata in Western blot impiegando anticorpo anti-His₆ HPR (Invitrogen), mentre la purificazione è stata eseguita mediante cromatografia per affinità impiegando la matrice HIS-Select Nickel Affinity Gel (SIGMA ALDRICH). L'antigene purificato è stato dializzato a 4°C in PBS e quantificato con il metodo Bradford (Bio-Rad).

Produzione degli anticorpi policlonali e monoclonali (Mabs): la proteina CPB2 atipica ricombinante deleta è stata utilizzata come presidio immunizzante per la produzione di anticorpi monoclonali e policlonali. Gli anticorpi ottenuti sono stati caratterizzati sia in Western blot che in ELISA impiegando come antigene i terreni colturali di *C. perfringens* CPB2 produttori.

ELISA sandwich: gli anticorpi policlonali prodotti sono stati impiegati come molecole catturanti (catcher), mentre i Mabs come sistemi rivelatori. Brevemente, il siero policlonale è stato adsorbito in diluizione (in tampone carbonato/bicarbonato a pH 9.5) su piastra Maxi-Sorp da 96 pozzetti. Dopo tre lavaggi con PBS tween 0,05% (PBST) i terreni colturali di diversi ceppi di *C. perfringens* CPB2 produttori sono stati aggiunti (diluiti 1:4 in PBST) alla piastra ed incubati 1h 37°C. Come controllo positivo nel test ELISA è stata impiegata la CPB2 ricombinante deleta purificata. A seguito di ulteriori tre lavaggi si è proceduto all'aggiunta dei Mabs in diluizione. Dopo 1h a 37°C sono stati effettuati altri tre lavaggi con PBST ed aggiunto antimouse-HRP per 15 minuti a temperatura ambiente. La reazione è stata bloccata con H₂SO₄ 0.5 M e la lettura è stata eseguita a 450 nm. Sono state inoltre effettuate delle prove preliminari in ELISA su matrici (feci, contenuto intestinale, tampone rettale) provenienti da animali morti (ovini, caprini e bovini) sui quali sono stati isolati ceppi di *C. perfringens* *cpb2*⁺.

Risultati e considerazioni - L'espressione della proteina ricombinante CPB2 è stata verificata tramite Western blot, il quale ha evidenziato una banda immunoreattiva specifica di circa 28 kDa. L'analisi quantitativa del prodotto purificato ha evidenziato un'enorme capacità

produttiva del sistema baculovirus. Infatti, la resa del prodotto finito purificato si è attestata su un valore medio di circa 1 mg di proteina per 150×10^6 di cellule Sf21 infettate. Alla stessa stregua, l'analisi qualitativa del prodotto purificato (colorazione del gel elettroforetico mediante Coomassie) ha evidenziato un elevatissimo grado di purezza (al 95%). Eccellente si è dimostrato anche il potere immunogeno della CPB2 ricombinante purificata. Il siero policlonale infatti, in fase di cattura, dimostra una piena funzionalità anche quando diluito 1:100000. Analoghi risultati sono stati riscontrati nei test effettuati per valutare le *performance* di specificità e sensibilità in ELISA degli anticorpi monoclonali. In effetti, tutti i Mabs hanno individuato la CPB2 *wilde type* sui ceppi di *C. perfringens* recanti il gene *cpb2*, mentre non è stato riscontrato nessun caso di falso positivo sul totale dei ceppi *cpb2*-. Alle verifiche con terreno di coltura sono seguiti alcuni test su matrici di campo (feci, contenuto intestinale, tampone rettale). Dati preliminari mostrano un'eccellente sensibilità e

specificità dei Mabs anche quando applicati su matrici più complesse.

Evaluation of specificity and sensitivity in elisa of *C. perfringens* anti-beta2 monoclonal and polyclonal antibodies: preliminary data

Key Words - *C. perfringens*, Recombinant CPB2, Monoclonal Antibodies

Bibliografia

- Gibert M, Jolivet RC, Popoff MR.(1997) Beta2 toxin, a novel toxin produced by *Clostridium perfringens*. *Gene*; 203:65-73
- Jihong Li, Vicki Adams, Trudi L. Bannam, Kazuaki Miyamoto, Jorge P. Garcia, Francisco A. Uzal, Julian I. Rood, Bruce A. McClanea,. (2013) Toxin Plasmids of *Clostridium perfringens*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev* 77(2):208-33

Efficacia di moxidectina orale (Cydectin®) nei confronti di endoparassiti di ovini allevati in Italia centrale

VERONESI F¹, TRAVERSA D², CASSINI R³, FRANGIPANE DI REGALBONO A³, MORETTA I¹, DI CESARE A², LA TORRE F⁴, PAOLETTI B²

¹Dipartimento Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Perugia; ²Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Teramo; ³Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute, Università di Padova; ⁴Zoetis Italia, Roma

Parole chiave - pecore, endoparassitosi, Italia centrale, moxidectina

Introduzione - Le endoparassitosi, soprattutto quelle causate da strongili gastro-intestinali, rappresentano uno dei principali problemi sanitari e produttivi per gli allevamenti di pecore a livello globale in quanto responsabili di perdite economiche significative connesse alla riduzione nella produzione di latte e lana, decremento ponderale ed ipofertilità. Negli anni, tali ripercussioni sulle performances produttive, hanno spinto ad una lotta sistematica nei confronti di questi parassiti a diffusione cosmopolita, attraverso l'uso massiccio di farmaci antielmintici ad ampio spettro, la quale ha favorito l'insorgenza di fenomeni di chemioresistenza. Obiettivo del presente studio è stato quello di valutare l'efficacia di una formulazione pour on contenente moxidectina nel trattamento delle strongilosi gastro-intestinali e bronco-polmonari in ovini allevati in Italia centrale.

Materiali e metodi - Nello studio sono stati inclusi due allevamenti di pecore (A1 e A2) di razza sarda/ibridi sarda-laucaune ubicati in Umbria. Gli allevamenti sono stati selezionati sulla base dei seguenti criteri: 1) presenza di almeno 150 animali 2) ultima somministrazione di farmaci antielmintici almeno 10 settimane prima dello studio 3) volontà di

collaborazione da parte degli allevatori. Alla prima visita in allevamento (tempo T-7) è stato effettuato un esame copromicroscopico quantitativo mediante tecnica di McMaster con sensibilità 50 UPG (uova per grammo di feci) e test quantitativo di Baermann con sensibilità di 5 LPG (larve per grammo di feci) (McKenna, 1999). Sono state selezionate 38 pecore in A1 e 37 in A2 con carica parassitaria 50 uova per grammo di feci (UPG) per strongili gastro-intestinali (SGI). In A2 è stato inoltre possibile selezionare 31 soggetti positivi per strongili bronco-polmonari (SBP). In ciascun allevamento, gli animali selezionati per la prova di efficacia sono stati pesati e successivamente trattati con moxidectina (Cydectin® 0,1% soluzione orale, Zoetis, 0,2 mg/kg p.v.). Nuove indagini copromicroscopiche quali-quantitative sono state effettuate su campioni individuali di feci raccolti dall'ampolla rettale o appena emessi a partire dal giorno del trattamento (T0) e, in seguito, a cadenza quindicinale per le 4 settimane successive al trattamento antiparassitario (T14, T28) e a cadenza mensile per 2 volte (T60, T90). L'efficacia del trattamento è stata calcolata sulla base della riduzione percentuale dei valori di conta copromicroscopica al tempo T14 rispetto al tempo T0 (FE/LCR=FECAL EGG/LARVAL

Tab. 1 - Risultati dei test di efficacia (FE/FLCR: Faecal egg/larval reduction) eseguiti nei due allevamenti. IC=intervallo di confidenza

Tempo	Allevamento	
	A1	A2
	FECR% (IC)	FECR% (IC) LECR% (IC)
T14	93,3 (70,5-98,5)	99,2 (94,1-99,9) 96,6 (90,1-98,8)
T28	95,3 (85,5-98,5)	99,2 (94,1-99,9) 91,3 (81,4-95,9)
T60	40,6 (7,2-62,0)	73,7 (54,4-84,8) 84,8 (66,1-93,2)
T90	8,0 (0,0-40,6)	0,0 (0,0-28,0) 14,0 (0,0-58,6)

COUNT REDUCTION), secondo le linee guida W.A.A.V.P. e considerando la molecola come efficace per valori FE/LCR >95% e limite inferiore dell'IC (intervallo di confidenza) >90% (Coles et al., 1992). La persistenza di efficacia della molecola nei confronti di SGI e SBP è stata valutata come intervallo tra il tempo T0 e il primo controllo post-trattamento caratterizzato da valori medi di FE/LCR <90%.

Risultati e considerazioni - Al tempo T0, nei soggetti in prova i valori medi di emissione di UPG risultavano essere di 197,4 in A1, e 179,7 e 42,6 LPG in A2. In A1, è stato evidenziato un sostanziale contributo alla carica complessiva degli SGI da parte di *Strongyloides papillosus*, con 12 dei 38 soggetti in prova che mostravano uova riconducibili morfologicamente a questa specie con valori di UPG compresa tra 50 e 500. In A2 risultavano positivi per lo stesso parassita solo 3 soggetti, tutti con UPG=50. I risultati delle prove di efficacia sono riassunti nella Tab. 1. Per quanto riguarda gli SGI, al giorno T14 nell'allevamento A1 il valore di FECR sembra indicare presenza di resistenza, sebbene nel controllo successivo (T28) gli stessi parametri assumano valori indicativi di sospetta resistenza. Questo risultato è molto probabilmente imputabile alla parziale efficacia della moxidectina nei confronti degli adulti di *S. papillosus* (Bauer e Conraths, 1997), unico parassita evidenziato al T14 in 3 soggetti (media UPG=150). In A2, al giorno T14 la molecola è risultata efficace nei confronti sia degli SGI, con un solo soggetto positivo per *S. papillosus* (50 UPG), sia degli SBP. In conclusione, questo studio mostra come una singola somministrazione orale di

moxidectina (Cydectin®) esprima una ottima efficacia nei confronti rispettivamente degli SGI e degli SBP, con un effetto protettivo che viene mantenuto fino a 28 giorni post-trattamento. Tuttavia, si evidenzia l'importanza di attuare una attenta valutazione della popolazione di SGI presenti nel gregge ed in particolare di indagare l'eventuale presenza di soggetti positivi per *S. papillosus*, specie verso la quale questa molecola potrebbe mostrare minore efficacia.

Efficacy of moxidectin oral solution (Cydectin®) in the treatment of endoparasites of sheep reared in Central Italy

Key words - sheep, endoparasites, central italy, moxidectin

Bibliografia

- Bauer C, Conraths FJ (1997). Comparative efficacy of moxidectin and mebendazole against gastrointestinal nematodes in experimentally infected lambs. *Vet Rec*, 135(6), 136-138
- Coles GC, Bauer C, Borgsteede FH, Geerts S, Klei TR, Taylor MA, Waller PJ. (1992). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP). Methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet Parasitol* 44: 35-44.
- McKenna (1999). Comparative evaluation of two emigration/sedimentation techniques for the recovery of dictyocaulid and protostrongylid larvae from faeces. *Vet Parasitol* 80 (4): 345-351.

