



SCHEDA FINALE PROGETTO DI RICERCA N. 5

STRATEGIE SOSTENIBILI PER RIDURRE L'IMPIEGO DI ANTIBIOTICI NELL'ALLEVAMENTO DELLE BOVINE DA LATTE – RABoLA –

Individuazione di pratiche operative mirate ad un miglioramento del benessere animale, alla prevenzione dell'insorgenza di mastiti e alla riduzione dell'uso di antibiotici in allevamento intervenendo nell'intero ciclo di lattazione delle bovine a partire dalla messa in asciutta.

Progetto della durata di 40 mesi terminato nell'anno 2022

Gli attori

Ente proponente è il Dipartimento di Scienze Bio-Agroalimentari del Consiglio Nazionale delle Ricerche che vede nella persona della Dr.ssa Milena Brasca la figura di Responsabile Scientifico.

Il progetto ha visto il coinvolgimento di gruppi di ricerca multidisciplinari dei seguenti Enti:

- **C.N.R. Dipartimento di Scienze Bio-Agroalimentari** con la partecipazione di due diversi istituti, l'Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari (ISPA Sede di Milano) e l'Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria (IBBA Sedi di Milano e di Lodi).
- **Università degli Studi di Milano** con il coinvolgimento di due gruppi di ricerca appartenenti al Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali - Produzione, Territorio, Agroenergia (DISAA) e al Dipartimento di Scienze Veterinarie e Sanità Pubblica, Università degli Studi di Milano
- **Università Cattolica del Sacro Cuore**, Dipartimento di Scienze Animali, della Nutrizione e degli Alimenti – DiANA

Il progetto ha inoltre coinvolto 5 aziende agricole site in Regione Lombardia.

Gli obiettivi

La riduzione dell'impiego di biocidi in ambito zootecnico costituisce una delle priorità condivise a livello internazionale, che richiede nuove soluzioni per aumentare la risposta immunitaria degli animali e/o di fornire una maggiore protezione nei confronti di microrganismi patogeni, in modo da ridurre significativamente l'impiego di antibiotici.

L'obiettivo del progetto è stato pertanto l'individuazione di pratiche operative che comportino la riduzione dell'uso di antibiotici nell'allevamento delle bovine da latte.

Nello specifico, il progetto RABoLa ha valutato

- i) nel periodo della messa in asciutta dell'animale e nel periodo che segue il parto, l'effetto della somministrazione di *Aloe arborescens*, essenza vegetale ricca di composti immunomodulanti e coltivabile in Lombardia, nel garantire agli animali asciugati senza antibiotici un miglior stato di salute correlato a migliori prestazioni produttive delle bovine



e ad una maggiore resistenza alle malattie durante la lattazione successiva alla messa in asciutta.

- ii) durante la fase di lattazione l'impiego di pre e post-dipping a base di una batteriocina prodotta da un ceppo di *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* che aveva dimostrato un elevato potere battericida verso i principali batteri mastitogeni nel garantire il mantenimento di una mammella sana;
- iii) composti naturali efficaci nei confronti di *Prototheca* spp. e sviluppo di un saggio diagnostico specifico.

Collegamenti: Le tematiche affrontate nel progetto sono strettamente correlate con quelle affrontate dai progetti BENELAT - Interventi a breve e lungo termine per il miglioramento del benessere, dell'efficienza e della qualità delle produzioni dei bovini da latte della Lombardia (RL Bando 2018 d.d.s. n. 4403 del 28/03/2018), LATSAN - Strumenti innovativi nello studio e gestione dello stato sanitario della mammella e del benessere animale finalizzati al miglioramento della qualità nutrizionale e dell'attitudine casearia del latte (MIPAAF DG DISR – DISR 04 – Prot. Uscita N.0027443 del 25/09/2018); META– Mungitura: Efficienza, Sostenibilità e Qualità (PSR 2014 – 2020).

I risultati ottenuti e le nuove conoscenze acquisite

La somministrazione di *Aloe arborescens* nel periodo della messa in asciutta e nel periparto è stata messa a confronto in due diversi allevamenti con la messa in asciutta con solo sigillante e con messa in asciutta con uso di antibiotico.

La messa in asciutta con il solo sigillante, se viene applicato un protocollo di indagine sulle condizioni sanitarie della mammella a fine lattazione e le operazioni di messa in asciutta vengono svolte con un rigido protocollo igienico, fornisce sufficienti garanzie che le bovine non vadano incontro a patologie della mammella e affrontino con successo la lattazione successiva. Il nostro studio ha individuato alcuni fattori che possono migliorare la sicurezza della applicazione dei protocolli: i) l'indagine deve essere estesa ad altri aspetti quali attività ruminativa e parametri ematici; ii) deve essere affiancata dall'uso di prodotti con attività antiossidante ed antinfiammatoria, preferibilmente naturali quali l'aloè, che grazie alla presenza di principi attivi che riducono lo stress ossidativo sostengono l'attività del sistema immunitario che meglio elimina eventuali patogeni della mammella migliorando la preparazione del tessuto parenchimatice per la lattazione successiva.

I risultati ottenuti dall'analisi della popolazione microbica di rumine, feci e latte mostrano un effetto significativo dell'utilizzo di Aloe sulla composizione del microbiota a livello intestinale e a livello della ghiandola mammaria. In particolare, l'utilizzo di *Aloe arborescens*, sembra favorire a livello intestinale la diminuzione di Lachnospiraceae e l'aumento di Ruminococaceae, gruppi batterici che giocano un ruolo fondamentale nella digestione delle fibre alimentari nel rumine, ma che evidentemente hanno anche un ruolo nella riduzione dello stato infiammatorio locale a livello mammario.

L'analisi della popolazione di enterococchi presente nel latte è risultata differire in modo significativo da quella residente nelle feci bovine. Nessun biotipo isolato da campioni di latte è stato riscontrato nelle feci e i differenti profili di antibiotico-resistenza relativi a ceppi isolati dalle due matrici confermano che le feci non sono una fonte di enterococchi per il latte.

L'impiego di prodotti pre- e post-dipping a base di batteriocina di *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* durante la lattazione è stato testato in due allevamenti a confronto con i prodotti in uso.



L'analisi proteomica della coltura del ceppo *Lc. lactis* FT27 ha evidenziato la presenza della batteriocina nisina A e il suo intero pathway.

L'utilizzo dei prodotti a base di batteriocina non ha avuto effetti negativi sullo sfintere dei capezzoli e sulla sanità della mammella e non sono state evidenziate differenze significative a livello di singolo quarto mammario, nell'insorgenza di infezioni.

L'analisi funzionale delle proteine differenziali indica che negli animali del gruppo trattato con il disinfettante a base di batteriocina sono presenti in quantità leggermente superiori alcune proteine correlate alla risposta all'infiammazione.

I risultati ottenuti dalla caratterizzazione dei microrganismi presenti a livello della ghiandola mammaria mostrano che il trattamento in fase di pre- e post-dipping con il prodotto sperimentale determina un effetto sul microbiota residente.

Individuazione di composti naturali efficaci nei confronti di *Prototheca* spp.

Alcune sostanze di sintesi ad attività erbicida, specifiche per le microalghe, hanno mostrato attività di inibizione della crescita *in vitro* di *Prototheca*. In particolare, agenti antimicrotubulari selettivi come dinatramina e cloralina sembrano promettenti per lo sviluppo di farmaci di nuova concezione.

Gli oli essenziali di cannella e chiodo di garofano, hanno mostrato una forte attività algicida nei confronti di entrambe le specie patogene, *P. bovis* e *P. blaschkea*.

E' stato sviluppato un saggio di real time PCR sensibile e specifico per *P. bovis*, in grado di rilevare e quantificare DNA di *Prototheca* nel latte.

Target dei risultati: I principali destinatari del progetto sono *allevatori, veterinari e tecnici* che potranno avvalersi di protocolli di gestione dell'asciutta selettiva e limitare l'uso degli antibiotici; *le aziende florovivaistiche* che potrebbero avere uno sbocco commerciale per la produzione di Aloe; *le aziende produttrici di prodotti pre e post dipping* che potranno avvalersi di risultati scientifici a supporto di un prodotto innovativo che risponde alle sollecitazioni della comunità europea; dal minor impiego di antibiotici in allevamento trarranno benefici *le aziende casearie e i consumatori*, ma anche *i cittadini*, in relazione al minor rischio di insorgenza di antibiotico-resistenza.

Momenti di Comunicazione

Sono stati organizzati due convegni, uno di presentazione del progetto e uno finale di restituzione dei risultati scientifici:

- Convegno di presentazione Polo Universitario di Lodi, 4/12/2018
- Convegno finale Polo Universitario di Lodi, 8/06/2022

Gli interventi al convegno finale, sono integralmente scaricabili sul sito di progetto: <https://sites.unimi.it/rabola/>

Le attività progettuali sono state inoltre divulgate tramite la partecipazione ai seguenti eventi:

24° Congresso ASPA – Padova 2021
Fiera del Bovino da Latte di Cremona 2021
FoodMicro22, Atene 28-31 Agosto 2022

Agroinnovation Award: M. C. Bianchi, Tesi Laurea Magistrale "Efficacia dell'impiego di batteriocine per la disinfezione dei capezzoli alla mungitura" – UNIMI AA 2020 – 2021

Piacenza on line: 30.12.2019 Il progetto RABoLa: Le strategie sostenibili per ridurre l'impiego di antibiotici nell'allevamento delle bovine da latte.



Consiglio Nazionale delle Ricerche

Dipartimento di Scienze Bio-Agroalimentari

Sono stati pubblicati inoltre i seguenti articoli:

Gazzola A. Il progetto RABoLa: le strategie sostenibili per ridurre l'impiego di antibiotici nell'allevamento delle bovine da latte. *Latte e Formaggio*, 2020, 4, 15 - 16

Molinari C., Gazzola A., Secondo il progetto Rabola Meno antibiotici? Si può fare. *Informatore Zootecnico*, 2020, 2, 68 – 71

Mezzetti, M. et al. 2020. Inflammatory status and metabolic changes at dry-off in high-yield dairy cows. *Italian Journal of Animal Science*, 19(1), 51-65

Premi, M. et al. 2021. Changes of plasma analytes reflecting metabolic adaptation to the different stages of the lactation cycle in healthy multiparous holstein dairy cows raised in high-welfare conditions. *Animals*, 11(6), 1714

Piccinini R. et al. 2022 Preliminary results of the use of bacteriocins in pre- and post-dipping products for dairy cows. *Sci. Tecn. Latt-Cas* (1)72: 53 – 59

Morello, L. et al. 2020 Preliminary Results, Perspectives, and Proposal for a Screening Method of In Vitro Susceptibility of Prototheca Species to Antimicrotubular Agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(3).

Nunziata, L. et al. 2022 Antibiotic resistance in wild and commercial non-enterococcal Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria strains of dairy origin: An update. *Food Microbiology*, 103999.

Cattaneo L. et al. 2022 Drying-off dairy cows without antibiotic therapy and supplemented with lyophilized Aloe arborescens: effects on rumen activity, immunometabolic profile, and milk yield. *JAPAN Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* (Accepted)

Altre informazioni

Valore totale progetto	€ 712.782,05
Spesa a carico del bilancio regionale	€ 440.826,44
Compartecipazione	€ 271.955,61
Anno di approvazione	Decreto n. 19442 del 21 dicembre 2018

Allegati:

Latte e formaggio 2019
Latte e formaggio 2020
Piacenza oggi 2019
IZS Molinari
Mezzetti et al. 2020
Morello et al. 2020
Premi et al. 2021
Nunziata et al. 2021
Piccinini et al. 2022
Poster Cremonesi ASPA 2021
Poster FoodMicro.2022

Link a sito web RABoLa: <https://sites.unimi.it/rabola/>

Dipartimento di Scienze Bio-Agroalimentari – CNR

Piazzale Aldo Moro, 7 00185 Roma

Tel. (+39) 0649937803 Dir. – 7802 Segr. – Fax (+39) 0649937691

e-mail: direttore.disba@cnr.it – segreteria.disba@cnr.it – daa@pec.cnr.it

Codice fiscale CNR 80054330586 – Partita IVA 02118311006