



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
**Dipartimento di Medicina animale, Produzioni
e Salute**

Corso di Laurea Magistrale a ciclo unico in
MEDICINA VETERINARIA

**ANTIBIOTICO-RESISTENZA NEI SISTEMI DI
PRODUZIONE AVICOLA NON
CONVENZIONALI**

Relatrice: Prof.ssa Piccirillo Alessandra

Correlatore: Dott. Laconi Andrea

Laureando:

ANDREA LAZZAROTTO

Matricola n. 1177431

ANNO ACCADEMICO 2023/2024

Sommario

RIASSUNTO	5
ABSTRACT	7
1 INTRODUZIONE	9
1.1 Evoluzione dell'Avicoltura	9
1.2 La Filiera Integrata	11
1.3 Il Comparto Avicolo	14
1.4 L'allevamento Intensivo	17
1.5 L'allevamento biologico	21
1.6 L' Antimicrobico-resistenza.....	23
1.6.1 Definizione del problema	23
1.6.2 Come si sviluppa l'AMR?	24
1.6.3 Ruolo degli allevamenti nella diffusione dell'AMR.....	28
1.6.4 Come affrontare l'AMR dal punto di vista veterinario	31
2 OBIETTIVI	35
3 MATERIALI E METODI	36
3.1 Anagrafiche aziende.....	36
3.2 Campionamento	38
3.3 Processazione campioni.....	40
3.3.1 Preparazione campioni ed estrazione del DNA.....	40
3.3.2 Real-Time PCR	41
3.4 Analisi dati.....	41
4 RISULTATI E DISCUSSIONE	42
4.1 Prevalenza degli ARG negli allevamenti	43
4.2 Confronto prevalenze tra tempi di campionamento diversi	46
4.3 Confronto prevalenze tra diverse matrici	51
5 CONCLUSIONI	55
APPENDICE	57

ALLEGATI	60
Allegato A - Categorizzazione uso prudente degli antibiotici EMA.....	60
Allegato B - Scheda raccolta dati e accompagnamento campioni	62
BIBLIOGRAFIA e SITOGRAFIA	65

RIASSUNTO

L'antibiotico-resistenza nei batteri rappresenta una seria minaccia per la salute umana e animale: la scoperta e lo sviluppo di antibiotici ha ridotto la mortalità da infezioni batteriche in campo medico umano e animale.

Avere quindi una diminuzione di efficacia di questi farmaci rischia di rendere patologie oggi considerate non gravi, molto più difficili da trattare.

L'allevamento intensivo di animali, con l'uso di antibiotici, è considerato un fattore chiave per l'emergenza e la diffusione di batteri resistenti.

Negli ultimi anni, si stanno diffondendo allevamenti avicoli di tipo non convenzionale, come quello biologico, che escludono l'utilizzo di antibiotici durante il ciclo produttivo dei polli.

Questa tesi ha avuto come obiettivo quello di valutare la presenza e la persistenza di geni di antibiotico-resistenza in allevamenti avicoli biologici di polli da carne.

A tal fine, sono state campionate tre diverse matrici: acqua di abbeverata, prima dell'ingresso in allevamento e a fine linea, biofilm presente all'interno della linea di abbeverata e feci dalla lettiera.

I campioni sono stati raccolti ad inizio ciclo (T0), ovvero entro tre giorni dall'accasamento dei pulcini e a fine ciclo, ovvero a tre giorni dal macello (T1).

I campioni sono stati analizzati mediante tecniche di biologia molecolare. Il DNA totale è stato estratto dai campioni ed analizzato mediante saggi in *real-time PCR* per l'identificazione di geni di resistenza nei confronti di macrolidi (*ermA* e *ermB*), fluorochinoloni (*qnrA*, *qnrB*, *qnsR*, *oqxA* e *oqxB*), polimixine (da *mcr-1* a *mcr-5*) e beta-lattamici (*bla_{TEM-1}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M-1like}*, *bla_{CMY-2}*, *bla_{OXA-1}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{VIM-2}* e *bla_{NDM}*).

Differenze nella prevalenza tra matrici e tempi di campionamento sono state valutate mediante analisi statistica descrittiva.

Con l'eccezione di *qnrA* e *bla_{VIM-2}* tutti i geni di resistenza ricercati sono stati identificati in almeno un campione. *ErmB* (93.75%) e *bla_{TEM-1}* (85%) sono risultati i geni con prevalenza maggiore, mentre l'87.5% dei campioni si caratterizzava per la presenza di geni di resistenza nei confronti di

almeno tre classi di antibiotici. Nonostante la prevalenza della maggior parte dei geni di resistenza fosse simile nelle diverse matrici investigate, sono state identificate anche alcune differenze.

Ad esempio, *oqxA* e *qnrS* mostravano una prevalenza maggiore nelle feci rispetto alle altre due matrici, mentre *oqxB* era più prevalente nell'acqua. Al contrario, non sono state riscontrate differenze significative tra i due tempi di campionamento.

I risultati di questa tesi suggeriscono che l'acqua di abbeverata e il biofilm presente all'interno dei sistemi di abbeverata possano contribuire alla diffusione e alla persistenza di geni di resistenza negli allevamenti avicoli non convenzionali e che maggiore attenzione dovrebbe essere posta nella disinfezione e pulizia delle linee di abbeverata.

ABSTRACT

Antibiotic resistance in bacteria poses a serious threat to both human and animal health. The discovery and development of antibiotics has significantly reduced mortality rates from bacterial infections in both human and veterinary medicine.

Therefore, a decrease in the effectiveness of these drugs risks making currently considered non-severe pathologies much more difficult to treat. Intensive animal farming, with its use of antibiotics, is considered a key factor in the emergence and spread of resistant bacteria.

In recent years, non-conventional poultry farms, such as organic farms, which exclude the use of antibiotics during the production cycle of chickens, have been spreading.

This thesis aimed to evaluate the presence and persistence of antibiotic resistance genes in organic chicken farms.

To this end, three different matrices were sampled: drinking water, both before entering the farm and at the end of the line, biofilm present inside the drinking line, and litter feces.

Samples were collected at the beginning of the cycle (T0), within three days of chick housing, and at the end of the cycle, three days before slaughter (T1).

Samples were analyzed using molecular biology techniques. Total DNA was extracted from the samples and analyzed using *real-time PCR* assays for the identification of resistance genes against macrolides (*ermA* and *ermB*), fluoroquinolones (*qnrA*, *qnrB*, *qnsR*, *oqxA* and *oqxB*), polymyxins (from *mcr-1* to *mcr-5*), and beta-lactams (*bla_{TEM-1}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M-1like}*, *bla_{CMY-2}*, *bla_{OXA-1}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{VIM-2}* and *bla_{NDM}*).

Differences in prevalence between matrices and sampling times were evaluated using descriptive statistical analysis.

With the exception of *qnrA* and *bla_{VIM-2}*, all the resistance genes sought were identified in at least one sample. *ErmB* (93.75%) and *bla_{TEM-1}* (85%) were the most prevalent genes, while 87.5% of the samples were characterized by the presence of resistance genes against at least three

classes of antibiotics. Although the prevalence of most resistance genes was similar in the different matrices investigated, some differences were identified.

For example, *oqxA* and *qnrS* showed a higher prevalence in feces compared to the other two matrices, while *oqxB* was more prevalent in water. On the contrary, no significant differences were found between the two sampling times.

The results of this thesis suggest that drinking water and the biofilm present inside the drinking systems may contribute to the spread and persistence of resistance genes in non-conventional poultry farms and that greater attention should be paid to the disinfection and cleaning of drinking lines.

1 INTRODUZIONE

1.1 Evoluzione dell'Avicoltura

Ritrovamenti archeologici fanno risalire i primi esempi di allevamenti avicoli al 2500 a.C. da parte di popolazioni vissute nella valle dell'Indo (Tixier-Boichard et al., 2011).

Altri studi hanno trovato resti di pollo in siti neolitici nella Cina settentrionale (6000 a.C.) e in Europa e nell'Asia occidentale.

Fin dalla preistoria l'uomo ha riposto interesse negli Uccelli, inizialmente associato alle pratiche religiose e/o ludiche (Sibley e Monroe Jr., 1990).

Poi, evolvendosi da una società di cacciatori raccoglitori ad una vita sedentaria, l'uomo iniziò ad addomesticare alcune specie, tra cui il *Gallus gallus*. Questo nel tentativo di avere a disposizione riserve di cibo a cui attingere nel momento del bisogno (Al-Nasser et al., 2007).

Gli allevamenti avicoli veri e propri, però, hanno cominciato a svilupparsi a partire dalla metà del 19° secolo. In quel periodo, contemporaneamente in Europa e in Nord America, si iniziò a fare selezione artificiale di razze con caratteristiche ricercate destinate alla produzione di carne (Cerolini et al., 2008).

In Italia l'allevamento avicolo ha iniziato ad organizzarsi alla fine degli anni '30 con l'Istituzione dei Centri e Osservatori Avicoli (RDL 25/11/1937) che si occupava di una prima selezione delle razze, e agli allevatori consegnavano direttamente i riproduttori o le uova da cova con cui cominciare un allevamento.

L'allevamento avicolo era, però, considerato un'attività secondaria dell'azienda agricola e si integrava con l'allevamento di altre specie zootecniche, in particolare di bovini (Cerolini et al., 2008).

A fine anni '50, coincidente con la forte crescita economica e l'aumento della popolazione, aumentò la domanda di derrate alimentari di origine animale in tutti i paesi industrializzati. Questa richiesta spinse il comparto zootecnico ad evolversi.

La produzione avicola da tradizionale e rurale si trasformò velocemente in una produzione di tipo intensivo (Valceschini, 2006).

Nel 1958 venne fondata l'Unione Nazionale dell'Avicoltura (UNA): associazione di categoria a sostegno e tutela degli imprenditori. Nasce e si consolida così un comparto avicolo autonomo e altamente specializzato (Cerolini e Cavalchini, 1998).

In avicoltura, la selezione ha attuato il miglioramento genetico attraverso la produzione di ibridi commerciali destinati ad un allevamento di tipo intensivo.

Le razze di pollo che erano presenti negli anni '50 sono completamente scomparse dal comparto produttivo e sono rimaste solamente a livello di allevamento amatoriale (Cerolini et al., 2008).

Il tasso di crescita delle razze selezionate è stato sempre più rapido così da avere una durata del ciclo di allevamento sempre più breve. Ad esempio, nel 1945 un pollo da carne dal peso vivo di 1.6 kg veniva prodotto in 98 giorni di allevamento, oggi per lo stesso risultato sono sufficienti 35 giorni.

Nel corso degli anni la selezione avicola si è concentrata su un numero sempre più ridotto di imprese che hanno distribuito i loro ibridi commerciali in tutti i paesi in cui si è sviluppata un'avicoltura di tipo intensivo.

Si è quindi andata a formare una situazione di monopolio genetico da cui l'avicoltura intensiva è dipendente (Cerolini et al., 2008).

1.2 La Filiera Integrata

La quasi totalità della produzione avicola italiana, circa il 90%, è organizzata secondo un sistema di integrazione verticale (UNAITALIA, 2024).

Dati riguardanti la filiera agricola in Italia ci vengono forniti grazie ad un ente pubblico chiamato "Ismea" (Istituto di Servizi per il Mercato Agricolo Alimentare), che si occupa di fornire servizi di consulenza e assistenza finanziaria alle imprese agricole, in modo da facilitare l'accesso al credito per incentivare il continuo sviluppo.

Inoltre, l'Istituto raccoglie e analizza dati sul mercato agricolo e alimentare, e fornisce informazioni utili a chi opera nel settore e alle istituzioni.

Con il termine "Filiera Integrata", si intende un sistema produttivo in cui un'unica impresa o un gruppo strettamente collegato controlla tutte le fasi di produzione di un bene, dall'approvvigionamento delle materie prime fino alla distribuzione del prodotto finito (Figura 1).

L'azienda che detiene la proprietà dei polli, si occupa inoltre, della macellazione, della trasformazione e della vendita dei prodotti finiti al supermercato (Cerolini et al., 2008).

L'unico step di cui non si occupa è quello dell'allevamento degli animali. Questo è derogato ad aziende terze che lavorano per la prima con contratti di soccida.

La soccida è un tipo di modello economico, prevalente all'interno del settore avicolo, in cui due parti, il soccidante e il soccidario, si accordano per allevare un certo numero di polli o altri volatili, con l'obiettivo di dividerne i prodotti e gli utili.

Tale contratto è regolato dall'articolo 2170 del Codice Civile.

Secondo questo modello, gli animali non sono di proprietà dell'allevatore, ma i diritti sugli animali sono detenuti da società terze, che forniscono all'allevatore contingenti di polli già selezionati, insieme a una quota di mangime specifico per la loro crescita (Figura 2).

Il guadagno economico si basa sull'Indice di Conversione Alimentare (ICA), ovvero la quantità di mangime utilizzato per realizzare 1kg di peso vivo.

Gli animali distribuiti hanno la stessa genetica per cui diversi risultati di ICA dipenderanno dalla gestione dei cicli da parte degli allevatori (ROSS, 2022).

Le aziende che detengono il monopolio, avendo il controllo completo su tutto il processo produttivo, riescono ad adattare rapidamente la produzione alle esigenze del mercato e ad abbattere i costi che avrebbero se dovessero collaborare con altre aziende intermedie.

Un aspetto negativo di questo sistema è che in caso di imprevisti di qualsiasi natura in una delle fasi del processo produttivo, può venire compromessa l'intera filiera (Cerolini et al., 2008).

Figura 1. Esempio di Filiera Integrata nell'allevamento avicolo (ISMEA, 2022)

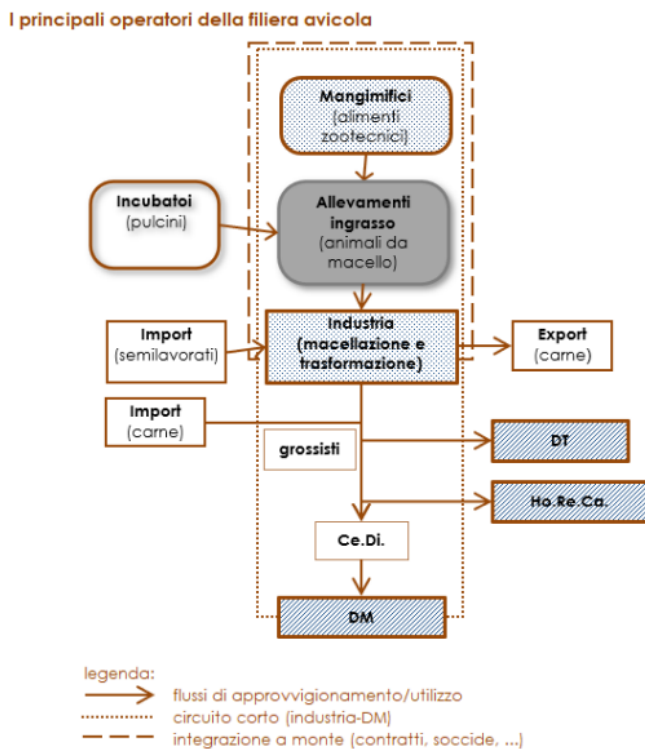


Figura 2. Impegni delle parti contraenti un contratto di soccida (ISMEA, 2022)

Impegni delle parti contraenti un contratto di soccida nella filiera avicola

Soccidante: prestatore di capitale e fornitore di assistenza tecnico sanitaria	Soccidario: prestatore attività di allevamento e di capitale
Controlla l'idoneità delle strutture	Mette a disposizione le strutture per l'allevamento (locali ed attrezzature,...)
Fornisce i capi da allevare	Si approvvigiona dei materiali per la lettiera
Assume la direzione tecnica degli allevamenti	Conduce l'allevamento:
Garantisce la necessaria assistenza tecnico sanitaria	gestendo la manodopera e somministrando mangimi
Fornisce i mangimi con suggerimenti per dosi e modalità di somministrazione	manutenendo locali ed attrezzature
Coordina e gestisce gli interventi sanitari in caso di necessità	sostenendo le spese di energia, combustibili, acqua
Provvede al trasporto e alle consegne di capi e mezzi tecnici ed al ritiro dei prodotti a fine ciclo produttivo	smaltendo i rifiuti

1.3 Il Comparto Avicolo

L'Europa è il quarto produttore mondiale di carne avicola dopo USA, Brasile e Cina.

Nel 2023, i Paesi dell'Unione Europea (UE) hanno prodotto quasi 14,4 milioni di tonnellate di carni avicole, pari al +2,1% rispetto al 2022.

I primi 6 paesi produttori di carni avicole all'interno dell'UE sono in ordine decrescente: Polonia, Germania, Francia, Spagna, Italia e Olanda e il loro apporto alla produzione corrisponde al 73% dell'intera produzione avicola UE (Ismea, 2024).

Con un tasso di autoapprovvigionamento del 106%, rilevato a fine 2023 (Ismea – Tendenze Avicoli), l'Italia è in grado di soddisfare appieno il continuo aumento della domanda interna (Figura 3).

Inoltre, l'eccesso di produzione rispetto alla domanda viene poi destinato al commercio con paesi esteri.

Negli ultimi 10 anni si è passati dal produrre circa 9.500 tonnellate nel 2013 alle quasi 12.000 tonnellate del 2023 (UNAITALIA, 2024).

Al 31 dicembre 2023, negli allevamenti italiani sono stati allevati 146,9 milioni di volatili domestici, in oltre 6.800 aziende di tipo professionale, ossia con oltre 250 capi (Ismea, 2024).

Nel nostro paese c'è una chiara concentrazione degli allevamenti avicoli in tre regioni: Veneto, Lombardia ed Emilia-Romagna (Figura 4).

In particolare, la regione Veneto è la prima per produzione in Italia.

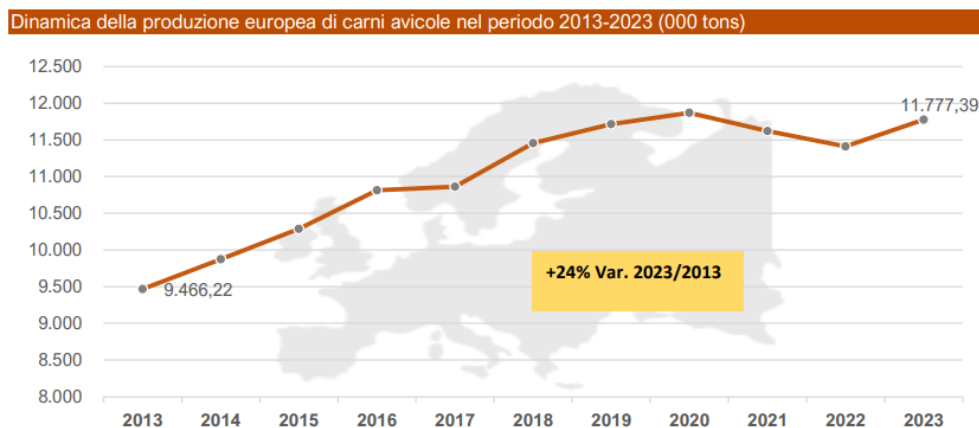
In questa regione viene allevato il 31,5 % delle specie avicole presenti a livello nazionale con oltre 48 milioni di capi censiti (Sistema Informativo Veterinario – Statistiche).

Si stima che nel 2023 ogni italiano abbia mangiato in media 21,4 kg di carne avicola, un aumento del +5,9% rispetto al 2022 secondo i dati Ismea.

Tra i motivi di successo della carne avicola c'è il fatto che si possono allevare un gran numero di animali in spazi ridotti e in breve tempo (tra le 5 e le 10 settimane a seconda di sesso e genetica), soprattutto negli allevamenti di tipo intensivo.

L'altro motivo del successo della carne avicola sta sicuramente nel prezzo contenuto rispetto a quello delle altre carni, come quella di bovino o suino. Anche se è chiaramente tra gli alimenti preferiti dei consumatori (Figura 5), questi hanno comunque preoccupazioni dal punto di vista etico, ambientale e di salute umana.

Figura 3. Andamento produzione europea di carni avicole 2013-2023 (Ismea, Scheda di Settore 2024)



Fonte: Elaborazione Ismea su dati Eurostat

Figura 4. Localizzazione allevamenti e concentrazione animali in Italia (Ismea, Scheda di settore 2024)

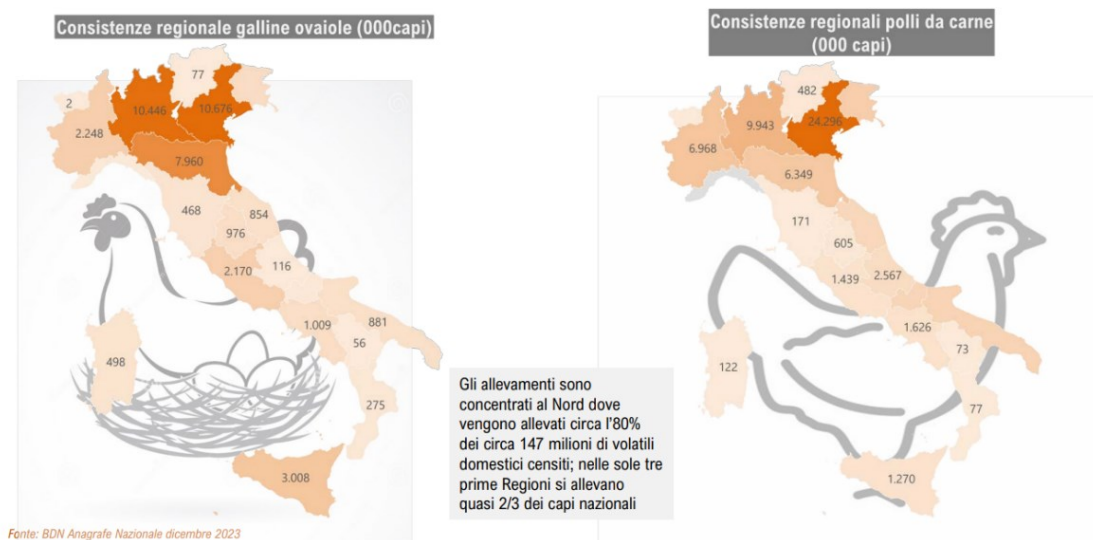
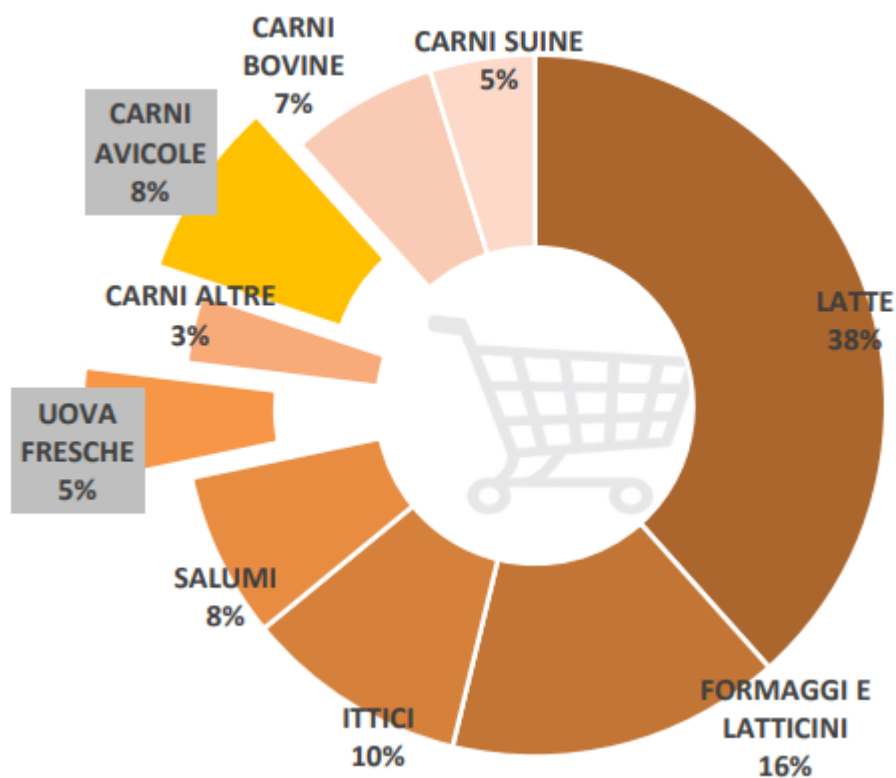


Figura 5. Ripartizione delle proteine di origine animale nel carrello di una famiglia tipo nel 2023 (Osservatorio ISMEA-NIQ, 2024)



1.4 L'allevamento Intensivo

L'avicoltura moderna, basata sull'allevamento di tipo intensivo, è standardizzata a livello globale e nelle aziende avicole odierne vengono allevati esclusivamente ibridi commerciali.

In Italia sono molto diffusi gli ibridi ROSS, prodotti dal gruppo Aviagen, e gli ibridi COBB, prodotti dalla multinazionale COBB-Vantress inc.

Le aziende che fanno selezione genetica stabiliscono gli obiettivi di produzione, ovvero le *performance* di produzione standard.

Inoltre, all'allevatore vengono fornite delle linee guida per garantire le condizioni ideali all'interno degli allevamenti. Se l'ibrido selezionato è inserito in un allevamento organizzato da un corretto *management*, questo riuscirà ad esprimere in modo ottimale il proprio potenziale genetico (Cerolini et al.,2008).

I polli vengono allevati all'interno di capannoni chiusi in cui sono monitorate le condizioni ambientali e l'alimentazione.

Questo perché in un sistema altamente controllato si punta a massimizzare la resa degli animali diminuendo i costi di gestione.

Tra gli obiettivi per migliorare i risultati ottenuti dall'allevamento, c'è anche il rispetto del benessere animale.

Il modello di allevamento intensivo ha come obiettivo quello di massimizzare la resa produttiva di un allevamento.

In campo avicolo, questo obiettivo è stato raggiunto grazie ad innovazioni tecnologiche nella gestione degli allevamenti e degli incubatoi, come anche in campo mangimistico e farmaceutico.

Nel tempo sono stati selezionati animali dalle ottime rese produttive, ma più sensibili a problemi sanitari rispetto ad animali di diverse genetiche e allevati secondo un metodo di tipo non intensivo.

Gli animali sono poi stati inseriti in ambienti in condizioni ideali dove esprimere al massimo la loro produttività, ma non i loro bisogni etologici.

All'inizio dell'introduzione di queste innovazioni, le problematiche riguardanti la salute animale, venivano quindi compensate attraverso un ampio uso di farmaci.

Nel 1964, in Inghilterra la situazione negli allevamenti intensivi venne denunciata dalla giornalista Ruth Harrison nel suo libro "*Animal Machines*".

A seguito della pubblicazione vi fu una reazione da parte del grande pubblico che portò il governo inglese a dover nominare una commissione di esperti, con a capo il professor Roger Brambell da cui deriva il nome del rapporto, per definire criteri minimi di protezione degli animali allevati (Elischer, 2019).

Nel 1965 venne poi stilato il Rapporto Brambell con cui nasceva il concetto di 'Benessere Animale', inteso come assenza di privazioni rispetto alle libertà fondamentali.

Il documento è divenuto poi il fondamento delle successive norme promulgate nell'UE su questa tematica (Barberio et al., 2023).

Secondo il Rapporto Brambell, il benessere animale è soddisfatto se vengono tutelate le 5 libertà:

1. libertà da fame, sete e cattiva nutrizione;
2. libertà da disagi ambientali;
3. libertà da malattie e ferite;
4. libertà di poter esprimere i comportamenti etologici specie-specifici;
5. libertà da paura e stress.

Per far sì che il benessere animale sia rispettato, è stata emanata la Direttiva 2007/43/CE, dove viene esplicitato che ai polli allevati deve essere garantito un accesso adeguato all'acqua di abbeverata, al mangime e una lettiera asciutta e friabile.

Inoltre, la Direttiva stabilisce un adeguato equilibrio di ore di luce/buio e impone limiti sulla densità degli animali all'interno degli allevamenti.

In particolare, all'interno di ogni capannone non devono essere presenti polli per una densità superiore di 33 kg/m². Solo in circostanze particolari questo limite può essere superato.

Attraverso un corretto *management* aziendale, i polli da carne riescono a sviluppare al meglio i caratteri produttivi selezionati dalla propria genetica: sviluppano un ottimo Indice di Conversione Alimentare (ICA) e raggiungono il peso *target* in tempi brevi. In caso contrario i tempi per raggiungere gli obiettivi si allungano, così come aumentano i costi gestionali per l'allevatore (ROSS, 2020).

Per mantenere le condizioni di allevamento ottimali viene monitorato il "microambiente" all'interno dei capannoni che dipende dalla gestione del microclima (temperatura e umidità relativa) e dalla qualità dell'aria (Cerolini et al., 2008).

Se la gestione non è ottimale, gli animali rischiano di andare incontro a quello che è definito *stress* da caldo, riducendo così le proprie *performance* produttive (Kapetanov et al., 2015).

Nell'allevamento odierno il mangime e l'acqua necessari alla crescita degli animali sono forniti da sistemi completamente automatizzati.

In particolare, l'acqua da bere è distribuita tramite linee di abbeverata, tubi che percorrono i capannoni per la loro intera lunghezza, e vanno a distribuire l'acqua ad abbeveratoi da cui gli animali possono bere.

Gli impianti di abbeverata vanno puliti bene al termine di ogni ciclo, come stabilito dal Decreto Legislativo 27 settembre 2010, n.181.

Inoltre, alcuni allevatori hanno la buona abitudine di fare pulizia degli impianti anche durante il ciclo di allevamento, come consigliato dalle linee guida (COBB, 2021).

Una cattiva gestione dell'acqua di abbeverata può consentire ai batteri di depositarsi sulle superfici e organizzarsi in una struttura definita *biofilm*. Il *biofilm* è costituito da una comunità di batteri racchiusi in una matrice autoprodotta e adesa ad una superficie (tubi, serbatoi, ecc.). Al suo interno, le cellule batteriche sono molto più resistenti agli agenti fisici e chimici (Donlan, 2001).

Sfortunatamente, la sua formazione nei sistemi di abbeverata è molto comune, grazie anche alle condizioni ambientali in allevamento.

Ad esempio, possono essere presenti batteri da un ciclo di allevamento precedente se non viene effettuata una corretta pulizia nei sistemi di abbeverata. Anche la temperatura medio-alta costante nei capannoni può favorire la loro crescita; assieme a condizioni di bassa portata a fine linea di abbeverata (Aboelseoud et al.,2021).

Il ciclo di allevamento dei polli da carne è molto breve e varia in base al sesso e alla velocità di crescita.

Per esempio, razze di polli a crescita lenta come *Ranger Classic* e *Ranger Gold*, impiegano tra i 54 e i 59 giorni per raggiungere il peso di 3 kg.

Razze a crescita rapida, come *Ross 208* e *Cobb 500*, impiegano 41 giorni per raggiungere il peso target (COBB, 2022).

I pulcini nascono all'interno di incubatoi gestiti dalle aziende. Questi vengono sessati e poi spediti alle aziende in soccida che li allevano.

L'accasamento avviene ad un giorno di vita e la data dell'invio al macello, dipende dal raggiungimento del peso *target* della partita che riguarda tutti gli animali all'interno di un capannone.

Tale situazione permette di alternare ai periodi di presenza, periodi di totale assenza degli animali dai capannoni e quindi di applicare la fondamentale regola del "tutto pieno- tutto vuoto" (Cerolini et al.,2008).

1.5 L'allevamento biologico

Negli ultimi vent'anni è emersa una maggior sensibilità etica, da parte del consumatore, rispetto ai prodotti alimentari di origine animale (Sassatelli, 2006).

Le richieste sono cambiate, il consumatore è più attento a ciò che mette sulla propria tavola, e per soddisfarle si è diffuso un tipo di allevamento differente dall'intensivo, quello biologico.

I consumatori sono disposti a pagare un prezzo più alto per prodotti ottenuti con metodi di allevamento rispettosi del benessere animale, ma necessitano di maggiori informazioni e garanzie (Miele e Ara, 2008).

Gli allevamenti di tipo biologico sono normati dal Regolamento UE 2018/848.

È permesso l'allevamento di razze dalla genetica a lento accrescimento, adatte all'allevamento all'aperto. Sono preferite quelle autoctone in grado di adattarsi alle condizioni locali, se invece vengono utilizzate razze diverse da quelle a lento accrescimento, viene imposta un'età minima di macellazione di almeno 10 settimane.

In ogni ciclo di allevamento gli animali devono avere accesso a uno spazio all'aperto per almeno un terzo della loro vita, salvo restrizioni imposte in virtù della Legislazione comunitaria, come ad esempio nei casi di focolai di Influenza Aviaria.

La superficie utilizzata dai ricoveri non deve superare i 1600 m² per i polli da ingrasso.

Inoltre, la densità degli animali in ogni capannone non deve superare i 21 kg di peso vivo per m². Questa è sensibilmente inferiore a quelli di tipo tradizionale per evitare fenomeni di aggressività tra gli animali (Sohail et al., 2021) e garantire uno spazio sufficiente a esprimere la propria etologia, migliorando così il benessere animale.

Il mangime deve provenire dalle colture interne all'azienda stessa per almeno il 30% del totale somministrato in allevamento.

La restante parte può provenire da aziende che producono mangimi secondo indicazioni biologiche. Le materie prime utilizzate per la produzione di mangimi devono provenire dalla stessa regione d'origine in cui verranno poi lavorate.

La gestione della salute degli animali deve mirare soprattutto alla prevenzione delle malattie. Si investe quindi sulla profilassi.

Sono applicate misure specifiche in materia di disinfezione come stabilito da Regolamento UE 2023/2229 che stabilisce anche gli additivi ammessi alla produzione.

Se invece è fatto uso di antibiotici durante un ciclo, la partita può essere venduta a seguito del periodo di sospensione, come per gli allevamenti di tipo tradizionale, ma la dicitura "prodotto biologico" non può essere utilizzata.

Vista la qualità e il prezzo superiore dei prodotti di origine biologica, è importante avere a disposizione uno strumento come l'etichettatura a garanzia del prodotto che il consumatore sta acquistando.

Le indicazioni comunitarie sono normate dal Regolamento UE 2018/848. Inoltre, in Italia esiste un'etichettatura che riguarda la carne di pollame, su base volontaria, sostenuta da Unitalia. Questa è stata autorizzata dal Ministero dell'Agricoltura nel 2005, assegnando il numero identificativo IT001EA.

Grazie a questo sono garantite informazioni su origine, metodo di allevamento, alimentazione e buone pratiche a favore del benessere animale.

In etichetta viene indicato che gli animali sono stati allevati a terra; alimentati con vegetale non OGM, senza grassi e farine animali; senza uso di antibiotici e che la filiera è tutta italiana.

1.6 L' Antimicrobico-resistenza

1.6.1 Definizione del problema

Gli antimicrobici sono un gruppo di farmaci che vengono utilizzati per prevenire e curare le malattie infettive nell'uomo, negli animali e nelle piante.

Questa categoria di farmaci comprende antibatterici, antivirali, antimicotici e antiparassitari, tutti fondamentali per la lotta nei confronti delle infezioni. Il fenomeno di resistenza agli antimicrobici, *Antimicrobial Resistance (AMR)*, si verifica quando gli agenti che causano le malattie infettive non rispondono più ai farmaci che precedentemente erano efficaci nei loro confronti.

La perdita di efficacia di farmaci antibiotici e altri antimicrobici, rende le infezioni più difficili da trattare, aumentando il rischio di complicanze, diffusione della malattia e persino morte (*WHO - World Health Organization, 2024*).

L'emergere di questo fenomeno preoccupa perché, oltre a rendere più complicate e dispendiose le terapie in ambito umano, impatta anche sulla salute e costi di produzione nel campo della medicina veterinaria e dell'agricoltura.

È importante affrontare questa nuova sfida, secondo un approccio *One Health*, cioè un approccio integrato che ha come obiettivo quello di mettere in relazione e cerca di equilibrare in modo sostenibile la salute di persone, animali ed ecosistemi. Seguire questo principio aiuta a controllare le malattie e contribuisce a migliorare la sicurezza sanitaria globale (*WHO*).

1.6.2 Come si sviluppa l'AMR?

L'AMR è un processo naturale che evolve nel tempo a seguito di cambiamenti genetici nei microrganismi patogeni.

La comparsa e la diffusione di questi fenomeni naturali sono però accelerati dall'attività umana. Ad esempio, l'uso improprio e/o eccessivo di antimicrobici per curare, prevenire o controllare le infezioni nell'uomo, negli animali e nelle piante svolge una pressione selettiva nelle popolazioni batteriche (Murray et al., 2022).

La resistenza agli antimicrobici può essere naturale o acquisita.

Un microrganismo sviluppa resistenza verso un antimicrobico quando integra nel suo genoma uno o più geni di antimicrobico-resistenza (*ARG*). Questi possono essere poi propagati attraverso il trasferimento verticale, da una cellula madre alle cellule figlie o tramite trasferimento orizzontale, tra cellule.

Se una cellula acquisisce più *ARG* può diventare *MDR* (*Multiple Drug Resistance*), ovvero presenta resistenza verso 3 o più classi diverse di farmaci.

RESISTENZA NATURALE

Un microrganismo può essere naturalmente resistente ad un farmaco o perché è assente il meccanismo cellulare verso il quale il principio attivo agisce o perché la parete cellulare del batterio è impermeabile allo stesso (Cambiotti et al., 2014).

Ad esempio, le β -lattamine sono una classe di antibiotici che hanno azione battericida interferendo con la sintesi della parete batterica, indebolendola e causando la lisi del batterio.

Il meccanismo d'azione di questi farmaci risulta quindi particolarmente efficace nei confronti di batteri Gram+, mentre lo è meno nei confronti di Gram-.

Ci sono poi batteri come i micoplasmii, caratterizzati dall'assenza della parete batterica, per cui il principio attivo di questa classe di farmaci risulta totalmente inefficace (Gautier-Bouchardon, 2018).

RESISTENZA ACQUISITA

La resistenza acquisita origina o da mutazioni cromosomiche a cui va incontro il microrganismo (resistenza cromosomica) o per l'acquisizione di materiale genetico trasferibile presente in popolazioni correlate a quella del microrganismo ricevente o meno (resistenza trasferibile).

Resistenza cromosomica

Questo tipo di resistenza si sviluppa a seguito di mutazioni della sequenza nucleotidica del cromosoma batterico. Vengono quindi sintetizzate proteine differenti da quelle originali che hanno la capacità di interferire con l'attività degli antibiotici.

Le mutazioni possono avvenire in qualsiasi momento, sia in presenza che in assenza di agenti antimicrobici.

La diffusione della popolazione mutata avviene tramite trasferimento verticale in cui gli ARG vengono trasferiti dalla cellula madre alla cellula figlia (Cambiotti et al., 2014).

Il fenomeno della resistenza cromosomica è comunque ritenuto di impatto limitato nello sviluppo dell'*AMR*.

Le mutazioni successive a cui va incontro naturalmente il microrganismo, lo rendono più resistente ai farmaci e la popolazione mutata risulta preponderante in un ambiente in cui è presente una pressione selettiva operata dagli antimicrobici.

Al contempo, però, le mutazioni possono portare anche a modificazioni svantaggiose per la sopravvivenza del batterio. Infatti, si è visto che al termine di una terapia, la popolazione batterica mutata tende a diminuire (Alibayov et al., 2014).

Resistenza trasferibile

Alcuni ARG sono in grado di essere scambiati geneticamente secondo un meccanismo di trasferimento orizzontale grazie a veicoli come plasmidi, trasposoni (corte sequenze di DNA in grado di saltare da un plasmide all'altro) e integroni (Cambiotti et al., 2014).

Il trasferimento orizzontale di ARG può avvenire tra il genoma di due diverse cellule batteriche oppure tra il genoma di una cellula batterica e un elemento extra-cromosomico.

Gli ARG vengono trasferiti da un donatore ad un ricevente attraverso 3 meccanismi conosciuti: coniugazione, trasformazione e trasduzione (Poli et al., 2017).

La **coniugazione batterica** prevede l'unione di due batteri tramite un ponte proteico chiamato pilo sessuale, attraverso il quale un batterio donatore trasferisce materiale genetico ad un batterio ricevente.

La cellula donatrice possiede il plasmide F (Fertilità), un elemento genetico extracromosomico, responsabile della formazione del pilo sessuale e può trovarsi liberamente nel citoplasma o integrarsi nel cromosoma batterico.

I batteri donatori F⁺ hanno il plasmide libero nel citoplasma e lo trasmettono ai riceventi F⁻.

La coniugazione può trasferire sia geni del plasmide che geni cromosomici, e sembra essere favorita in condizioni specifiche, come la formazione di biofilm e l'esposizione a dosi non letali di antibiotici (Røder et al., 2023).

Alcuni batteri, definiti "competenti" sono in grado di acquisire frammenti di DNA esogeno presenti nell'ambiente derivanti dalla lisi di altri germi che dopo la loro morte rilasciano DNA nell'ambiente.

Questo meccanismo viene definito **trasformazione**.

I frammenti di acidi nucleici liberi vengono assorbiti dalla cellula ospite e, attraverso la parete batterica, vengono trasportati nel citoplasma dove verranno incorporati nel genoma.

La maggior parte dei batteri non è in grado di utilizzare questo meccanismo di ricombinazione perché, una volta internalizzato il materiale genetico, questo viene riconosciuto come minaccia e degradato dagli enzimi nucleasi del batterio ricevente.

I microrganismi “non competenti naturalmente” per la trasformazione possono diventarlo se vengono sottoposti a trattamenti chimico-fisici che permeabilizzano la parete cellulare. Ad esempio, tramite *shock* termico e utilizzo di sostanze chimiche tra cui anche antibiotici dall'effetto non battericida (Aldaihani e Heath, 2024).

La **trasduzione** è mediata da batteriofagi, ovvero virus a doppio filamento di DNA che infettano i batteri e che sfruttano i loro organelli per replicarsi. Durante la replicazione del fago, tratti di DNA della cellula ospite possono venire incorporati nel genoma virale e poi essere immessi in una cellula ricevente alla successiva infezione del fago.

Se il DNA trasdotto è di origine cromosomica, può ricombinarsi con quello del nuovo ospite e successivamente essere tradotto, se invece è di origine plasmidica, può essere espresso direttamente (Poli et al.,2017).

1.6.3 Ruolo degli allevamenti nella diffusione dell'AMR

Negli allevamenti avicoli l'esposizione frequente a farmaci antimicrobici può creare una pressione selettiva che favorisce la sopravvivenza e la proliferazione di batteri resistenti (Mancuso, 2021).

Anche l'uso di disinfettanti può selezionare batteri resistenti, non solo al disinfettante stesso ma anche ad alcuni antibiotici (Cambiotti et al., 2014).

Gli ARG di batteri resistenti possono essere acquisiti da altri batteri presenti nell'ambiente, contribuendo allo sviluppo dell'AMR anche in batteri che non sono mai stati a contatto diretto con gli antibiotici utilizzati negli allevamenti (Yichao et al., 2019).

All'interno dei capannoni degli allevamenti avicoli, i sistemi di abbeverata non correttamente disinfettati tra un ciclo e l'altro sono indicati come possibile causa di diffusione di AMR.

All'interno di questi possono essere presenti popolazioni batteriche, eventualmente organizzate anche in *biofilm*.

Qui i batteri, inclusi quelli commensali, possono interagire tra loro, scambiarsi materiale genetico e diffondere gli ARG (Coleman et al., 2013).

Inoltre, gli animali potrebbero rilasciare batteri resistenti dal loro tratto intestinale attraverso le feci e contaminare direttamente o indirettamente i sistemi di abbeverata (Ngwenya et al., 2023).

Anche residui di mangimi contaminati da antibiotici o batteri resistenti possono finire nell'acqua, in particolare quando i polli si abbeverano dalle linee (Mak et al., 2022).

In sistemi di allevamento convenzionali, ovvero in cui non è ammesso l'uso di antibiotici, la presenza di eventuali residui all'interno dei sistemi di abbeverata potrebbe selezionare batteri che possiedono ARG, favorendone la proliferazione (Duarte et al., 2022).

Inoltre, le condizioni ambientali favorevoli all'interno dei capannoni come temperatura, pH e disponibilità di nutrienti possono favorire crescita e sopravvivenza dei batteri resistenti (Ibrahim et al., 2023).

Gli allevamenti non sono isolati dal mondo esterno e potrebbero venire contaminati da fonti esterne, come l'acqua, il cibo, volatili selvatici o persino il personale.

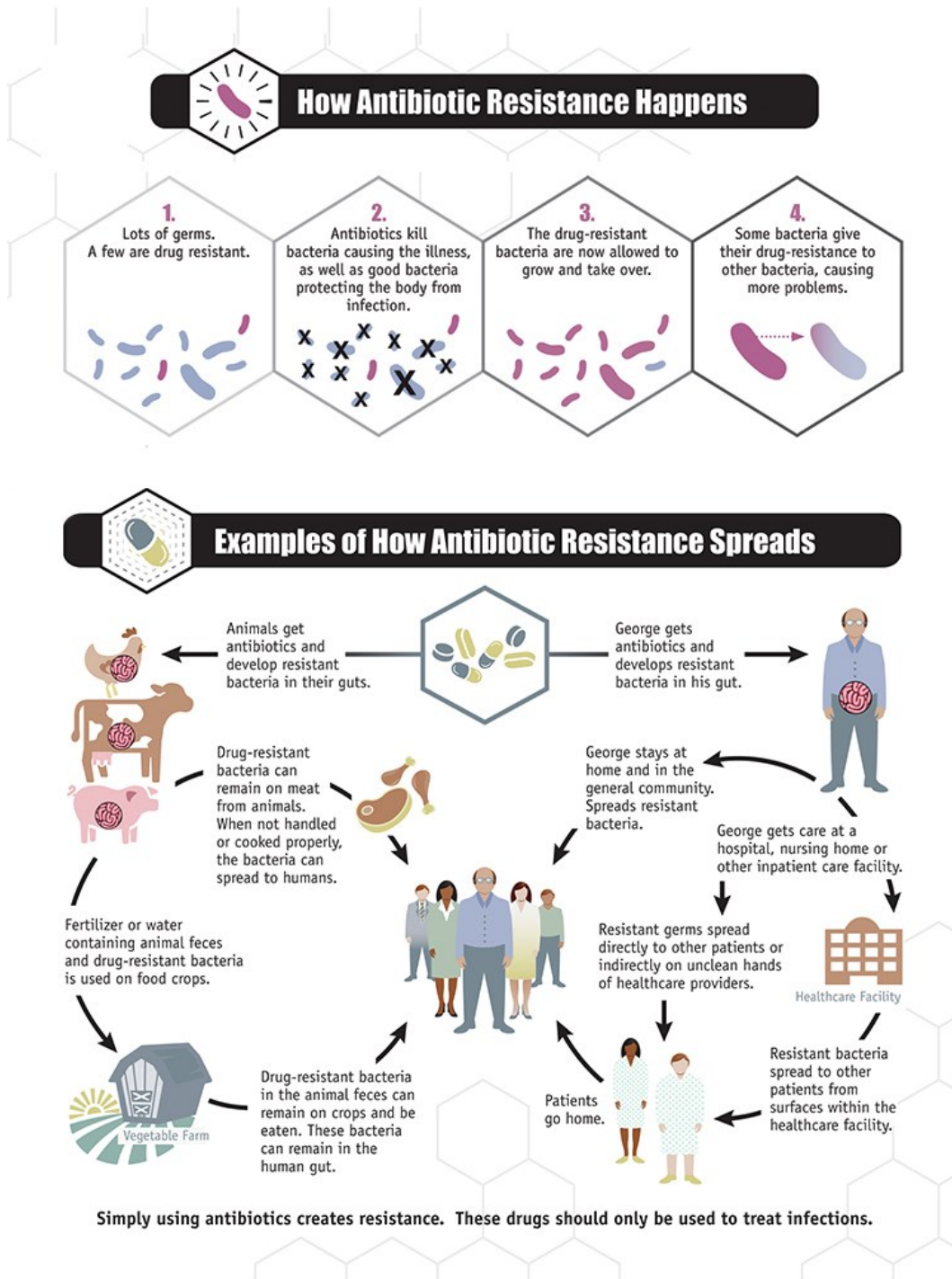
Queste fonti potrebbero trasportare batteri resistenti o geni di resistenza che, una volta introdotti nell'allevamento, andrebbero a diffondere tra gli animali.

Una mancata corretta pulizia nei mezzi di trasporto degli animali da incubatoio-allevamento o da allevamento-macello può avere poi un ruolo nella diffusione di AMR (Peyrat et al., 2008), così come il contagio da parte di altri animali o dagli operatori delle aziende, per mancanza di rispetto delle misure di biosicurezza (Hedman et al., 2020).

Batteri resistenti possono poi diffondere nell'ambiente attraverso feci, acque reflue degli allevamenti e contaminare suolo e acqua (Tian et al., 2021) (Figura 6).

Questo è stato osservato anche in allevamenti "*antibiotic-free*" (Farooq et al., 2022), suggerendo che la contaminazione ambientale e la persistenza di ARG possono rappresentare un problema ad un qualsiasi livello della filiera produttiva, sia di allevamenti convenzionali che non convenzionali (Di Francesco et al., 2022).

Figura 6. Sviluppo e diffusione dell'AMR (U.S. Centers for Disease Control and Prevention, CDC)



1.6.4 Come affrontare l'AMR dal punto di vista veterinario

La diffusione di batteri resistenti agli antibiotici rappresenta una sfida globale che trascende i confini geografici e i sistemi politici, necessitando di una risposta coordinata a livello internazionale.

La globalizzazione, i viaggi internazionali e il commercio hanno creato un mondo interconnesso dove i batteri resistenti possono diffondere rapidamente, rendendo l'AMR un problema che non può essere affrontato da singoli paesi in modo isolato (Hoffman et al.,2015).

Per garantire un'efficace collaborazione, i paesi si affidano a organizzazioni sovranazionali come la *World Health Organization (WHO)*, la *Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)* e la *World Organisation for Animal Health (WOAH)*.

Quest'ultima è un'organizzazione internazionale fondata nel 1924 con il nome di "*Office International des Epizooties*" (*OIE*), con l'obiettivo di prevenire la diffusione delle malattie animali a livello internazionale e di garantire la sicurezza sanitaria degli animali.

Questa collaborazione tra organizzazioni internazionali, per combattere le malattie zoonotiche e la resistenza antimicrobica si traduce in un approccio "*One Health*", che sottolinea l'interconnessione tra la salute umana, animale e ambientale e la necessità di un'azione collettiva per affrontare lo sviluppo e la diffusione dell'AMR.

La *WOAH* propone quindi, varie strategie per affrontare l'AMR che comprendono la regolamentazione degli agenti antimicrobici, il rafforzamento dei servizi veterinari, la promozione dell'uso responsabile e il sostegno alla ricerca su trattamenti alternativi.

Regolamentazione e monitoraggio degli agenti antimicrobici

La regolamentazione per l'uso degli agenti antimicrobici tramite il controllo della produzione, dell'autorizzazione, dell'importazione, della distribuzione e dell'uso di agenti antimicrobici negli animali sono fondamentali per affrontare la sfida dell'AMR.

È essenziale avere una legislazione adeguata che regoli la vendita di antibiotici e che preveda sanzioni per la distribuzione di farmaci contraffatti (Thiermann ,2015).

In particolare, in Europa l'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA) svolge un ruolo cruciale nella regolamentazione farmaceutica.

Attraverso un complesso sistema di valutazione, monitoraggio e regolamentazione, l'EMA contribuisce in modo significativo a garantire un uso razionale e appropriato degli antibiotici, preservandone così l'efficacia a lungo termine.

L'agenzia sostiene la ricerca e lo sviluppo di nuovi antibiotici e di nuove strategie terapeutiche e prima di autorizzare la loro immissione in commercio, valuta il loro impatto potenziale sull'antibiotico-resistenza determinando profili di rischio-beneficio, ovvero valuta il rapporto cura delle infezioni in rapporto al probabile sviluppo di *AMR*.

L'EMA si occupa anche di fare farmacovigilanza monitorando continuamente la sicurezza degli antibiotici già autorizzati, raccogliendo e analizzando i dati relativi agli effetti indesiderati.

In caso di segnalazioni di *AMR* o di emergenza di nuovi meccanismi di resistenza, possono venire attuate misure correttive: imporre condizioni d'uso specifiche per un antibiotico come la necessità di effettuare test di sensibilità agli antibiotici prima dell'uso, fino a restrizioni d'uso o al ritiro dal mercato.

Ad esempio, ancora dibattuto, è il caso della limitazione d'uso in campo veterinario di farmaci a base di colistina, dato il rischio di sviluppo di resistenza crociata verso la polimixina B, farmaco di uso critico utilizzato in medicina umana.

Attraverso il Regolamento UE 2019/6 gli Stati membri possono limitare o vietare l'uso di determinati antimicrobici, in linea con la politica nazionale di uso prudente consigliata dall'EMA.

Uso responsabile e prudente degli antimicrobici

Per il mondo veterinario, è importante fare un uso responsabile e prudente degli agenti antimicrobici per preservare la loro efficacia terapeutica.

Ciò include l'uso di agenti antimicrobici negli animali solo quando prescritto da un veterinario, seguendo sempre la durata del trattamento e le istruzioni di dosaggio raccomandate (Kasimanickam et al., 2021).

Per dare priorità alle strategie di gestione del rischio nel contenimento dell'*AMR* sono state redatte classifiche degli agenti antimicrobici dalle diverse organizzazioni internazionali, tra cui *OMS*, *WOAH* ed *EMA*, che classificano gli antibiotici in base alla loro importanza per la medicina umana e veterinaria e al rischio di sviluppare resistenza.

L'obiettivo principale della categorizzazione degli antibiotici è quello di ridurre il rischio per la salute pubblica derivante dall'uso veterinario di antibiotici importanti per l'uomo.

I criteri di classificazione variano tra le organizzazioni, ma generalmente includono fattori come importanza per la medicina umana, probabilità di trasferimento della resistenza e disponibilità di alternative al principio attivo.

In particolare, in campo veterinario si deve considerare il parere scientifico dell'*EMA* sulla categorizzazione degli antibiotici prima di prescriverli.

La classificazione comprende quattro categorie, dalla A alla D: evitare, limitare, cautela e prudenza (Allegato A).

La categoria A ("Evitare") include antibiotici che non possono essere utilizzati negli animali destinati alla produzione alimentare, mentre possono essere somministrati agli animali da compagnia solo in circostanze eccezionali e valutando ogni singolo caso.

La categoria B ("Limitare") si riferisce ad antibiotici di fondamentale importanza in medicina umana e il loro uso negli animali dovrebbe essere limitato per mitigare il rischio per la salute pubblica.

La categoria C ("Attenzione") comprende antibiotici per i quali esistono generalmente alternative, ma solo poche di queste sono disponibili come indicazioni veterinarie.

La categoria D ("Prudenza") comprende antibiotici che dovrebbero essere usati come trattamenti di prima linea.

Dovrebbero essere evitati usi non necessari e per periodi lunghi e il trattamento di gruppo dovrebbe essere limitato a situazioni in cui non è possibile il trattamento individuale.

Promuovere lo sviluppo delle capacità nella professione veterinaria

La *WOAH* fornisce linee guida sull'istruzione veterinaria, sottolineando la necessità di avere professionisti altamente formati.

Per verificare la competenza dei professionisti, tra gli stati che fanno parte della *WOAH*, è stato istituito il *Veterinary Statutory Body (VSB)*, un organismo nazionale e indipendente che supervisiona la qualità e la condotta dei veterinari che lavorano nel privato per garantire la miglior collaborazione possibile con i professionisti della sanità pubblica. Tuttavia, attualmente, solo la metà dei paesi che hanno aderito alla *WOAH* sono dotati di un sistema ordinistico.

Sostegno alla ricerca su trattamenti alternativi

È sostenuta la ricerca di trattamenti alternativi agli antibiotici, in particolare dei vaccini, per ridurre la dipendenza dagli antibiotici e mitigare il rischio di resistenza antimicrobica (*Terrestrial Animal Health Code - 2024*).

La *WOAH* e l'EMA invitano a limitare l'uso del farmaco, ma sostengono l'uso degli antibiotici quando risulta necessario.

2 OBIETTIVI

Lo scopo di questa tesi è stato quello di valutare la presenza di geni di resistenza in allevamenti di polli da carne biologici, in cui non è ammesso l'utilizzo di antibiotici, e di verificare se la loro presenza potesse variare durante il ciclo.

Data la mancanza di pressione selettiva esercitata dall'uso di farmaci, questo tipo di allevamento è l'ideale per andare ad indagare altre cause che possano portare allo sviluppo e trasferimento di *AMR*.

Nel presente studio, sono stati ricercati 20 *ARG* che codificano resistenza verso 4 diverse classi di antibiotici di importanza critica per la medicina umana:

- Macrolidi: *ermA*, *ermB*
- Fluorochinoloni: *oqxA*, *oqxB*, *qnrS*, *qnrA*, *qnrB*
- Colistina: *mcr1*, *mcr2*, *mcr3*, *mcr4*, *mcr5*
- β -lattamici: *bla_{TEM-1}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M-1like}*, *bla_{CMY-2}*, *bla_{OXA-1}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{VIM-2}* e *bla_{NDM}*

Gli *ARG* sono stati ricercati in sistemi di distribuzione dell'acqua degli allevamenti per capire se potessero fungere da serbatoio per eventuali batteri resistenti agli antibiotici, contribuendo così alla diffusione *dell'AMR* negli animali e nell'ambiente.

Per verificare quest'ipotesi sono stati quindi raccolti campioni di acqua e di biofilm, i cui risultati sono stati poi confrontati con quelli ottenuti da campioni di feci.

3 MATERIALI E METODI

I campioni sono stati raccolti in 10 allevamenti avicoli biologici situati in Veneto, in particolare nell'area di interesse dell'AULSS 6 Euganea.

I sopralluoghi in azienda sono avvenuti tra luglio 2022 e dicembre 2022.

In questo periodo, agli allevamenti campionati, che dovevano garantire l'accesso all'aperto degli animali come da Regolamento (CE) 889/2008, era stato sospeso il permesso a seguito dell'Ordinanza del Presidente della Giunta Regionale n. 157 del 17/11/2021 avente per oggetto "Influenza Aviaria. Misure di restrizione dell'insorgenza di due focolai in provincia di Padova".

3.1 Anagrafiche aziende

Alla visita, in ogni azienda è stato compilato un *form* (Allegato B), in cui sono stati riportati i dati anagrafici delle aziende, intervistando gli allevatori.

Per garantire l'anonimato degli allevamenti che hanno partecipato a questa ricerca, è stato assegnato un numero in ordine crescente da 1 a 10 a ciascuna azienda.

In Tabella 1 sono riportati i dati relativi alle aziende campionate.

Altre informazioni raccolte e non riportate in tabella sono:

- Data di accasamento e di macellazione
- Controllo dell'acqua (chimico, fisico, microbiologico)
- Uso di farmaci o additivi

Tabella 1. Raccolta dati dagli allevamenti campionati

Azienda	Numero capannoni per azienda	Superficie azienda (in m ²)	Numero animali per azienda	Superficie zona free-range (in m ²)	Prodotto disinfezione acqua di abbeverata
1	1	1000	6000	1800	H ₂ O ₂
2	5	5000	35000	3000	Biocloro
3	2	1200	8400	30000	H ₂ O ₂ e NaCl
4	3	4000	22860	15000	Clostat
5	4	6600	40000	10000	H ₂ O ₂ e Cloro
6	3	2750	18350	10000	NaCl e Proxide
7	3	4800	35000	27000	H ₂ O ₂
8	2	1760	13000	10000	Cloro e acidificante
9	3	1300	12000	12000	Cloro
10	2	3600	27000	20000	Clostat

3.2 Campionamento

I campionamenti avvenivano in 2 momenti differenti: inizio ciclo (T0), ovvero entro tre giorni dall'accasamento dei pulcini e fine ciclo (T1), ovvero a tre giorni dalla macellazione.

I campionamenti sono stati svolti da uno o più ricercatori dell'Università degli Studi di Padova, accompagnati dallo studente di questa tesi e da un tecnico di filiera.

In totale sono stati raccolti 80 campioni in 20 giornate diverse.

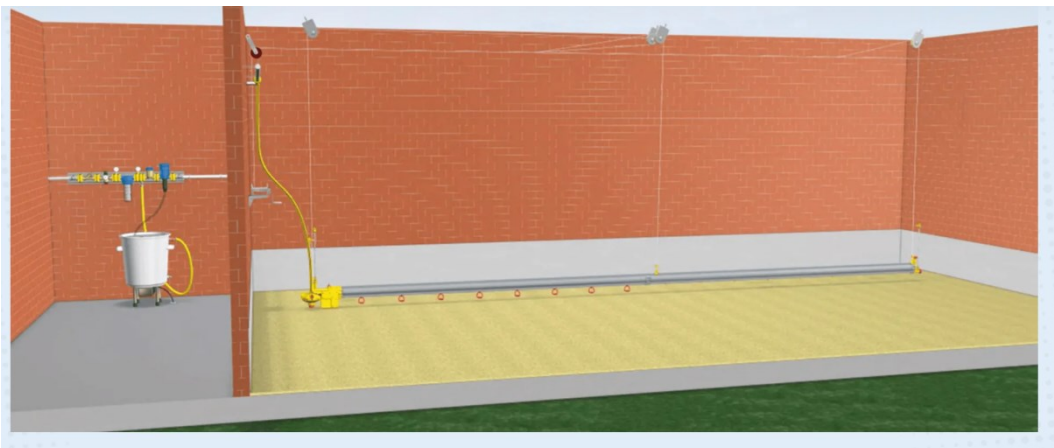
Sono state campionate 4 diverse matrici:

- Acqua di bevanda prima dell'ingresso in capannone (*tank*): sono stati raccolti 2 litri (L) di acqua utilizzando bottiglie sterili in *PET* (figura 7). Durante la raccolta si è evitato di toccare le pareti interne delle bottiglie e dei tappi forniti, con qualsiasi altra superficie per non contaminare i campioni.
- Acqua di bevanda a fine linea: utilizzando una bottiglia sterile è stata raccolta acqua di bevanda dalle linee presenti in capannone per un totale di 2L (Figura 7) sempre stando attenti a non contaminare i campioni raccolti.
- Biofilm: con l'utilizzo di campioni sterili e monouso, è stato raschiato l'interno delle linee di abbeverata (2-3 campioni per linea in modo da ottenere 10 tamponi per capannone). Durante la raccolta si è evitato di toccare altre superfici per non contaminare i campioni. Ad ogni visita, i tamponi venivano raccolti in *pool* per ottenere un unico campione.

- Feci: utilizzando contenitori e spatole sterili, sono state raccolte almeno 25 g di feci fresche. Queste sono state raccolte secondo una distribuzione casuale lungo l'intero capannone, in almeno 10 punti diversi, per poi essere raggruppate in *pool* per ottenere un unico campione.

Ad ogni visita (T0 e T1) in allevamento sono stati raccolti campioni dallo stesso capannone e dagli stessi punti di prelievo della volta precedente. I campioni raccolti sono stati poi posti in contenitori refrigerati, per mantenere una temperatura di refrigerazione fino all'arrivo in laboratorio.

Figura 7. Esempio di un sistema di abbeverata. In particolare, l'acqua di tank (a sinistra) e linea di abbeverata (a destra) (Lubingsystem)



3.3 Processazione campioni

3.3.1 Preparazione campioni ed estrazione del DNA

Per ciascun tipo di matrice, si è proceduto con l'estrazione del DNA.

FECI

25 g di feci sono stati trasferiti in una provetta Falcon sterile da 50 mL a cui sono stati aggiunti 25 mL di *PBS (Phosphate Buffered Saline)*, mescolato il tutto con il *vortex* per 1 minuto e successivamente centrifugato per 10 minuti a 4000 *rpm* a 4°C.

Il DNA è stato estratto da 250 mg del *pellet* ottenuto usando il *DNeasy PowerSoil kit* (Qiagen, Hilden, Germany) e seguendo le indicazioni fornite dal produttore.

BIOFILM

Ogni tampone di raccolta del biofilm è stato eluito in 1 mL di *PBS*, mischiato per 1 minuto usando il *TyssueLyser Instrument* (Qiagen), e poi raccogliendo il surnatante. Il surnatante dei singoli tamponi di ogni allevamento è stato unito e centrifugato a 4000 *rpm* per 10 minuti a 4°C e il DNA estratto dal *pellet* risultante usando il *DNeasy PowerSoil kit* (Qiagen).

ACQUA

Entro 24 ore dal campionamento in azienda, l'acqua prelevata dalle linee di abbeverata e dai *tank* è stata filtrata usando una pompa a vuoto e membrane filtranti da 0.20 µm (Bioscientifica, Rignano Flaminio, RM, Italia). Dai filtri è stato poi estratto il DNA usando il *PowerWater DNA kit* (Qiagen, Hilden, Germany).

La quantificazione del DNA estratto è stata fatta utilizzando il fluorimetro *Qubit dsDNA HS (High Sensitivity) Assay kit* (Life Tech) seguendo le istruzioni del produttore.

3.3.2 Real-Time PCR

Tramite *real-time Polymerase Chain Reaction (Real-time PCR)* sono stati ricercati i seguenti *ARG* che conferiscono resistenza nei confronti di diverse classi di antibiotici: *ermA*, *ermB*, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *oqxA*, *oqxB*, *mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, *mcr-4*, *mcr-5*, *bla_{TEM-1}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M-1like}*, *bla_{CMY-2}*, *bla_{OXA-1}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{VIM-2}* e *bla_{NDM}*.

Tutte le *real-time PCR* sono state eseguite utilizzando *PowerUp™ SYBR® Green Master Mix (Thermo Fisher Scientific)* con concentrazione ottimale di ciascun *primer* e utilizzando lo strumento *LightCycler®480 Roche* (Roche, Basilea, Svizzera).

3.4 Analisi dati

I risultati delle prove di *real time PCR* sono stati analizzati con un'analisi qualitativa.

Alla presenza e all'assenza di ogni gene di resistenza è stato assegnato un valore numerico di 1 e 0, rispettivamente (Ferrari e Cribari-Neto, 2010). È stata inoltre valutata la presenza di campioni *MDR*, ovvero campioni che presentavano *ARG* verso 3 o più classi di farmaci.

Sono state calcolate e poi rappresentate attraverso grafici a barre le prevalenze di ogni singolo gene e dei profili *MDR*:

- sul totale di campioni analizzati
- all'interno della stessa matrice confrontando T0 e T1
- allo stesso tempo di campionamento confrontando le diverse matrici

I risultati ottenuti sono stati testati per la significatività statistica utilizzando il test del Chi-quadrato (" χ^2 ").

4 RISULTATI E DISCUSSIONE

L'obiettivo di questa tesi è stato quello di identificare la presenza di ARG in campioni raccolti in allevamenti di polli da carne biologici nei confronti di antibiotici di importanza critica per la medicina umana.

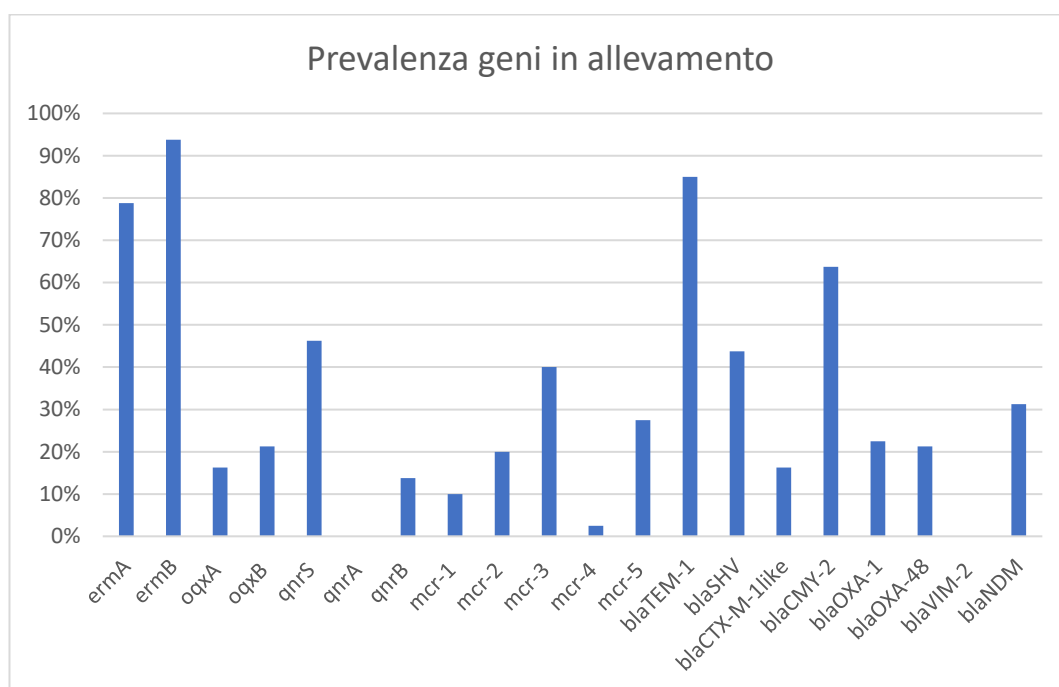
In particolare, sono stati ricercati i seguenti ARG:

- *ErmA*, *ermB* codificanti resistenza verso la classe dei Macrolidi (eritromicina, claritromicina, azitromicina) e Lincosamidi (clindamicina). Questi geni codificano per metilazioni che modificano il ribosoma batterico, impedendo ai macrolidi e ai lincosamidi di legarsi e inibire la sintesi proteica.
- *OqxA*, *oqxB*, *qnrS*, *qnrA*, *qnrB* codificanti resistenza verso la classe dei Fluorochinoloni (ciprofloxacina, levofloxacina) attraverso codifica di proteine che proteggono la DNA girasi e la topoisomerasi IV, gli enzimi bersaglio dei fluorochinoloni.
- *Mcr1*, *mcr2*, *mcr3*, *mcr4*, *mcr5* codificanti resistenza nei confronti delle Polimixine (colistina). Questi geni codificano per una fosfoetanolamina transferasi, un enzima che modifica la colistina, rendendola meno efficace.
- *Bla_{TEM-1}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M-1like}*, *bla_{CMY-2}*, *bla_{OXA-1}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{VIM-2}* e *bla_{NDM}* codificanti resistenza nei confronti della classe dei β -lattamici (penicilline, cefalosporine, carbapenemi). Questi geni codificano per β -lattamasi, enzimi che inattivano gli antibiotici idrolizzando l'anello β -lattamico essenziale per la loro attività.

4.1 Prevalenza degli ARG negli allevamenti

Si è cominciato lo studio definendo la prevalenza degli *ARG* e la presenza di *MDR* all'interno degli allevamenti campionati.

Grafico 1. Prevalenza ARG in allevamento



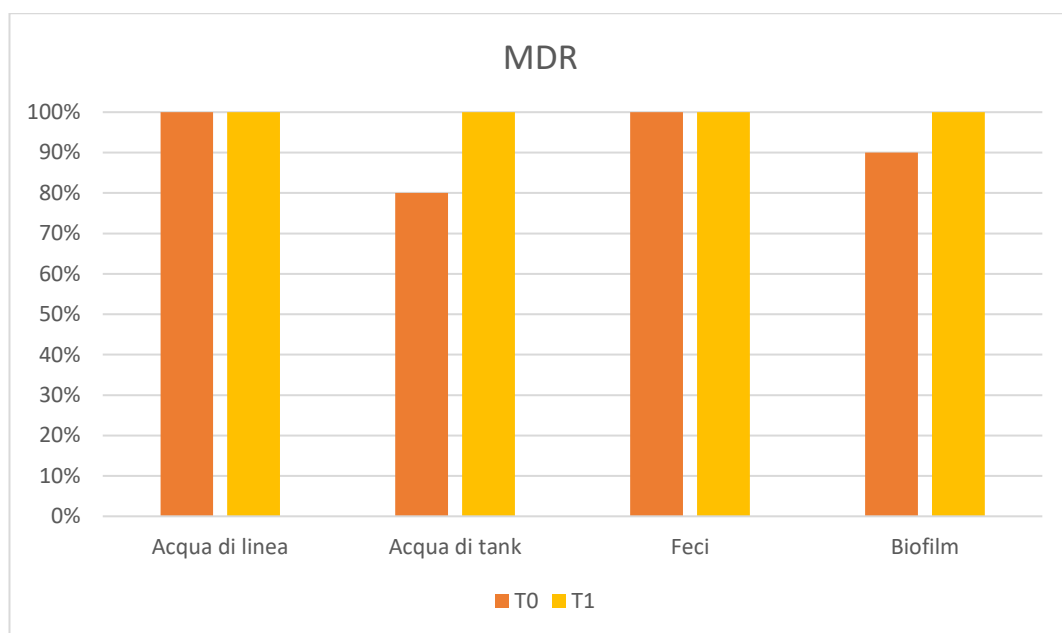
Dei 20 *ARG* ricercati, sono stati rilevati tutti in almeno un campione, tranne i geni *qnrA* e *bla_{VIM-2}* (Grafico 1). Questo risultato è confortante in quanto il primo conferisce resistenza verso i fluorochinoloni, collocati in “Categoria B” secondo la categorizzazione dell’EMA; mentre il secondo *ARG* non rilevato conferisce resistenza verso i Carbapenemi, posti in “Categoria A”. Ritrovare *ARG* verso questi farmaci, proibiti o fortemente limitati all’uso in campo zootecnico, indicherebbe che batteri resistenti sono presenti e potrebbero diffondere in ambienti in cui non è mai stato fatto uso di questi principi attivi.

Gli *ARG* rilevati con maggior prevalenza, invece, sono stati *ermB* (94%), *bla_{TEM-1}* (85%) ed *ermA* (79%). I geni *ermB* ed *ermA* conferiscono resistenza verso i macrolidi, ovvero farmaci che sono classificati in

“Categoria C” a seguito della perdita di efficacia e dell'introduzione di più efficaci antibiotici, come i fluorochinoloni e i carbapenemi.

È stata poi indagata l'eventuale presenza di *MDR* tra i campioni nelle diverse matrici (Grafico 2).

Grafico 2. Presenza di *MDR* nelle varie matrici



Già a T0 in tutti i campioni di feci e acqua di linea era presente un profilo di *MDR*.

Si è osservato come fin dall'inizio del ciclo fossero presenti *reservoir* di resistenza nei sistemi di abbeverata ed è probabile che questi possano essere stati trasmessi agli animali e poi eliminati con le feci.

A T0, nei campioni di *biofilm* e di acqua di *tank*, è stata invece osservata una prevalenza rispettivamente del 90% nella prima matrice e dell'80% nella seconda.

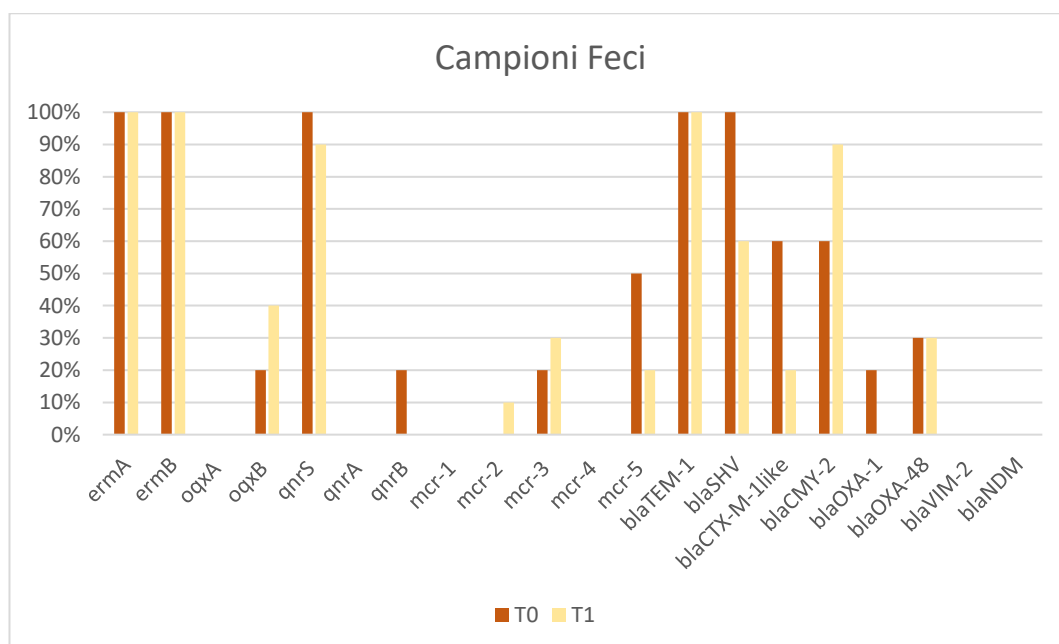
A T1 si è osservato un aumento di prevalenza, rispettivamente del 10% per l'acqua di abbeverata e del 20% per l'acqua di *tank*, anche se con una significatività piuttosto bassa per entrambi ($p > 0,05$), portando queste matrici al 100% di prevalenza di *MDR* nei campioni raccolti.

Osservare un aumento di *MDR* tra T0 e T1 in allevamenti in cui non vi è pressione selettiva da uso di antibiotici, fa supporre che il trasferimento di *ARG* tra popolazioni batteriche presenti in allevamento possa essere causato da altri fattori, come per esempio una o più matrici campionate in questo studio.

4.2 Confronto prevalenze tra tempi di campionamento diversi

Sono state confrontate le prevalenze di ARG all'interno di una stessa matrice per individuare la presenza di variazioni ai diversi tempi di campionamento.

Grafico 3. Prevalenza ARG in campioni di feci



Dei 20 ARG ricercati, nei campioni di feci sono stati rilevati tutti almeno una volta, eccetto *oqxA*, *qnrA*, *mcr1*, *mcr4*, *bla_{VIM-2}* e *bla_{NDM}* (Grafico 3). Non aver ritrovato questi geni in campioni di feci è di conforto: *mcr-1* e *mcr-4* conferiscono resistenza verso la colistina, classificata in “Categoria B” secondo l’EMA. I geni *oqxA* e *qnrA* conferiscono resistenza ai fluorochinoloni, anch’essi in “Categoria B”, mentre *bla_{VIM-2}* e *bla_{NDM}* conferiscono resistenza ai carbapenemi, considerati antibiotici di ultima istanza e posti in “Categoria A”.

Si è osservato come 8 ARG su 20 indagati fossero già presente a T0 con prevalenze uguali o superiori al 50%.

Tra i campioni prelevati a T0 e successivamente a T1 è stato osservato un aumento della prevalenza del 10% per *mcr-3*, del 20% per *oqxB* e del 30% per *bla_{CMY-2}* e *bla_{SHV}*, anche se tutti senza significatività statistica ($p > 0,5$). Il gene *mcr-2*, invece, assente a T0 è stato riscontrato con il successivo campionamento a T1 con una prevalenza del 10% ($p > 0,5$).

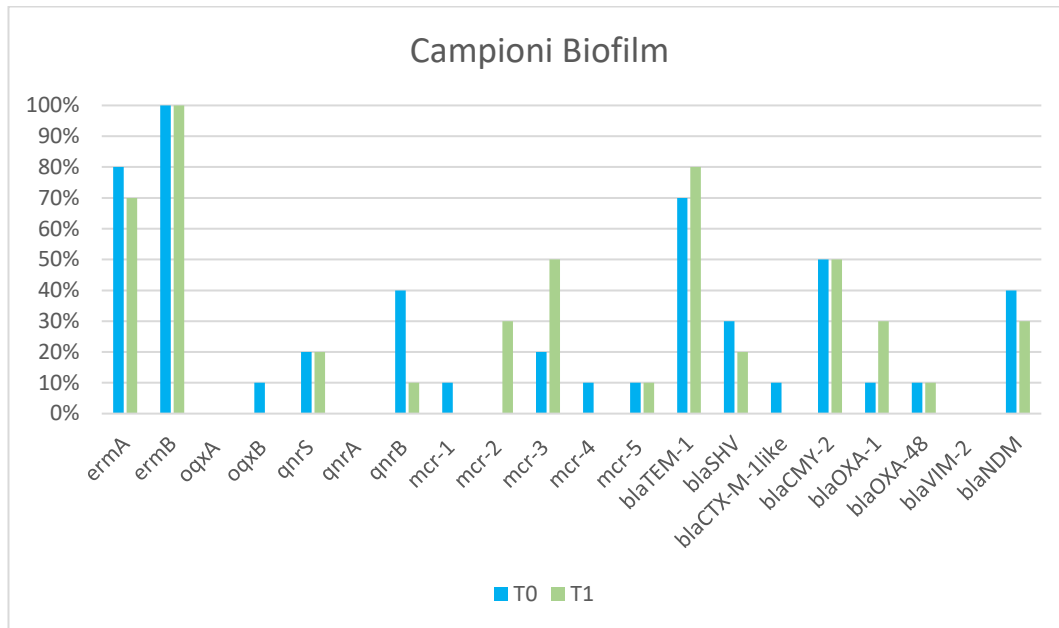
Inoltre, la prevalenza tra T0 e T1 è risultata diminuita del 10% per *qnrS* ($p > 0,5$), del 30% per *mcr-5* ($p > 0,5$) e del 40% per *bla_{CTX-M-1like}* ($p > 0,5$). I geni *qnrB* e *bla_{OXA-1}*, sono invece diminuiti del 20% fino a non essere più rilevati a T1 ($p > 0,5$).

L'unica variazione significativa riscontrata tra i campioni di feci è stata quella osservata per il gene *bla_{SHV}* dove si è osservata una diminuzione del 40% tra T0 e T1 ($p = 0,025$).

Il gene *bla_{SHV}* conferisce resistenza alle penicilline e alle cefalosporine di prima e seconda generazione, classificate in "Categoria C".

Non si tratta di un gene che conferisce resistenza verso farmaci particolarmente importanti, ma è comunque un buon rilievo osservare una sensibile riduzione della presenza di tale ARG in allevamento a fine ciclo.

Grafico 4. Prevalenza ARG in campioni di biofilm



Dei 20 ARG ricercati, nei campioni di *biofilm* sono stati rilevati tutti almeno una volta, eccetto *oqxA*, *qnrA* e *bla_{VIM-2}* (Grafico 4).

In questa matrice erano presenti diversi geni di resistenza, ma 16 ARG su 20 è stato rilevato al di sotto del 40% di prevalenza.

Tra i campioni prelevati a T0 e successivamente a T1 è aumentata la prevalenza dei geni del 10% per *bla_{TEM-1}*, del 20% per *bla_{OXA-1}* e del 30% per *mcr-3*.

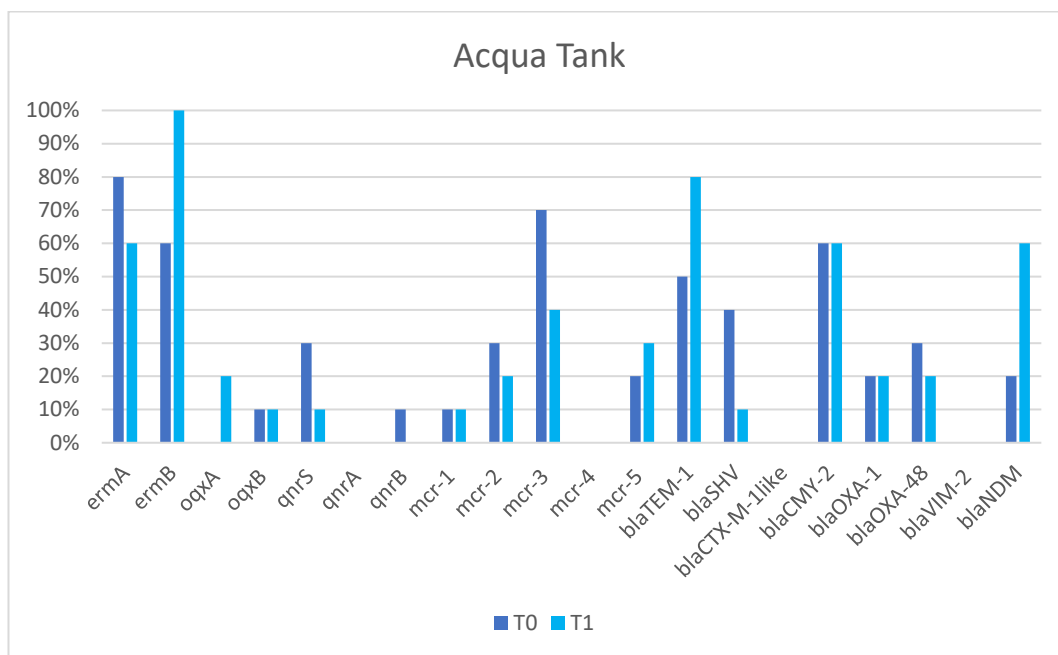
Il gene *mcr-2* invece non è stato ritrovato a T0, mentre a T1 era presente con una prevalenza del 30%.

La prevalenza tra T0 e T1 è diminuita del 10% per *ermA*, *bla_{SHV}* e *bla_{NDM}*, del 30% per *qnrB*.

I geni *oqxB*, *mcr-1*, *mcr-4* e *bla_{CTX-M-1like}* sono diminuiti del 10% fino a non essere più rilevati a T1.

In generale, però, possiamo rilevare che nessuna delle variazioni registrate per questa matrice sembra essere di particolare significatività statistica ($p > 0,05$).

Grafico 5. Prevalenza ARG in campioni di acqua prelevata dal tank



Dei 20 ARG ricercati, nei campioni di acqua di linea sono stati rilevati tutti almeno una volta, eccetto *qnrA*, *mcr-4*, *bla_{CTX-M-1like}* e *bla_{VIM-2}* (Grafico 5).

Tra i campioni prelevati a T0 e successivamente a T1 è aumentata la prevalenza dei geni del 10% per *mcr-5*, del 30% per *bla_{TEM-1}*, del 40% per *ermB* e *bla_{NDM}*.

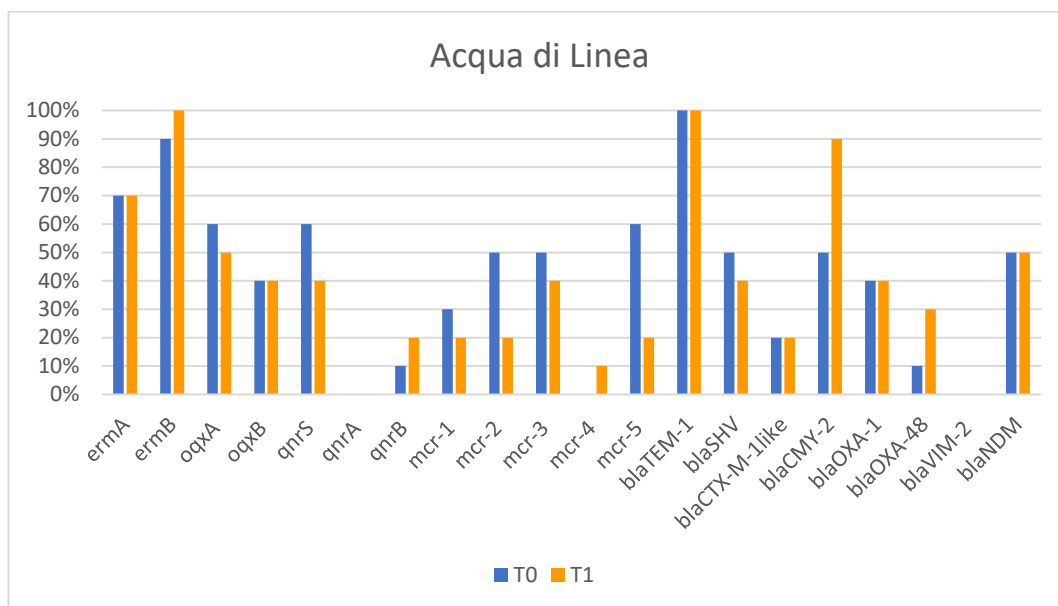
Il gene *oqxA*, assente a T0, è stato rilevato a T1 con una prevalenza del 20%.

La prevalenza tra T0 e T1 è risultata diminuita del 10% per *mcr-2* e *bla_{OXA-48}*, del 20% per *ermA* e *qnrS*, del 30% per *mcr-3* e *bla_{SHV}*.

Il gene *qnrB*, rilevato a T0, risulta diminuito del 10% fino a non essere più rilevato a T1.

L'unica variazione significativa rilevata in questa matrice è stato l'aumento del 40% del gene *ermB* ($p=0,025$).

Grafico 6. Prevalenza ARG in campioni di acqua prelevata da linee di abbeverata



Dei 20 ARG ricercati nei campioni di acqua di *tank* sono stati rilevati tutti almeno una volta eccetto *qnrA* e *bla_{VIM-2}* (Grafico 6).

Tra i campioni prelevati a T0 e successivamente a T1 è aumentata la prevalenza dei geni del 10% per *ermB* e *qnrB*, del 20% per *bla_{OXA-48}* e del 40% per *bla_{CMY-2}*.

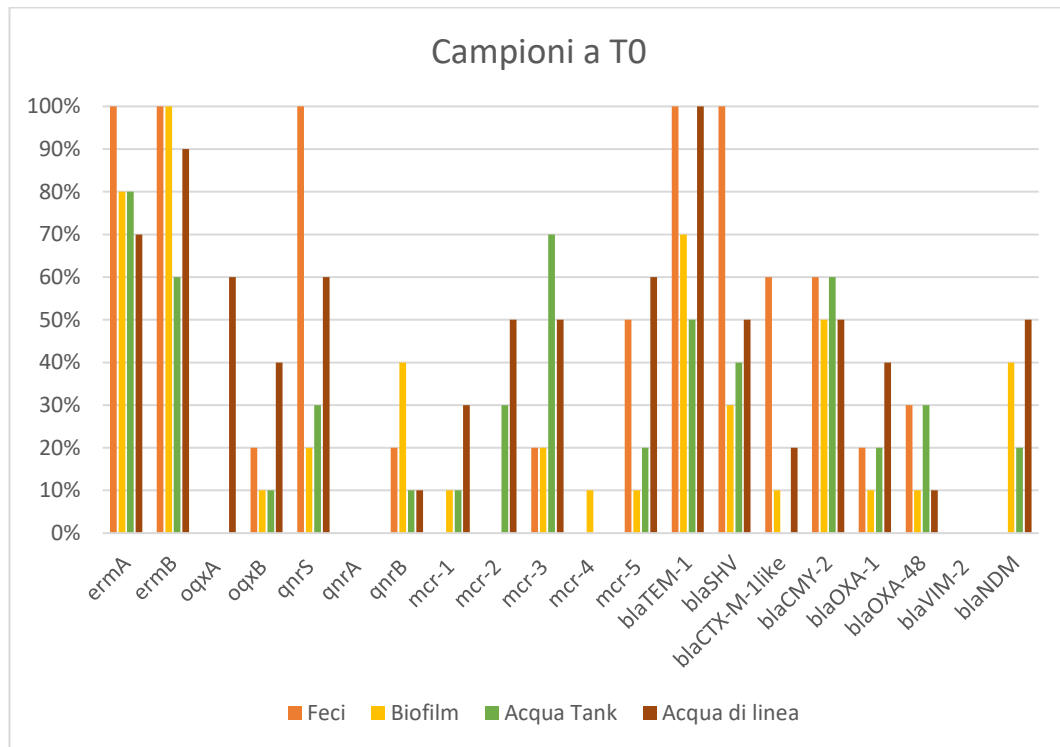
Il gene *mcr-4* invece non è stato riscontrato a T0, mentre a T1 è presente con una prevalenza del 10%.

La prevalenza tra T0 e T1 è risultata diminuita del 10% per *oqxA*, *mcr-1*, *mcr-3* e *bla_{SHV}*, del 20% per *qnrS*, del 30% per *mcr-2* e del 40% per *mcr-5*. Le variazioni rilevate all'interno di questa matrice non hanno significatività statistica ($p > 0,05$).

4.3 Confronto prevalenze tra diverse matrici

Sono state confrontate le prevalenze di ARG tra le diverse matrici raccolte nello stesso tempo di campionamento.

Grafico 7. Confronto prevalenza ARG tra campioni di diverse matrici a T0



Dei 20 ARG ricercati, sono stati rilevati tutti almeno una volta, eccetto *qnrA* e *blaVIM-2* (Grafico 7).

I campioni di feci hanno presentato le prevalenze maggiori rispetto alle altre matrici, in particolare 7 ARG su 20 sono stati rilevati con prevalenze superiori al 50%.

Nei campioni di *biofilm* gli ARG *ermB* ed *ermA* sono stati riscontrati con prevalenze maggiori rispetto alle altre matrici, il primo con una prevalenza del 100% ($p=0,0201$), mentre il secondo con una prevalenza dell'80% ($p>0,05$).

Il gene *mcr-4* è stato ritrovato solo all'interno del *biofilm* con prevalenza del 10%, anche se la differenza non era significativa ($p> 0,05$).

Il gene *qnrS*, che conferisce resistenza verso i fluorochinoloni, è stato riscontrato con una prevalenza maggiore nelle feci rispetto alle altre matrici con prevalenze fino al 100% (p=0,0014).

Il gene *bla_{CTX-M-1like}* non è stato ritrovato nei campioni dell'acqua di *tank*, mentre nelle feci era presente anche con prevalenze del 60% (p= 0,0077).

L'ARG *bla_{SHV}* è stato ritrovato in tutte le matrici campionate con prevalenze superiori al 30% e raggiungendo il 100% nelle feci (p= 0,0084).

Il gene *bla_{TEM-1}* e *mcr-2* sono stati ritrovati rispettivamente il primo in tutte le matrici, con prevalenze fino al 100% in campioni di feci e di acqua di linea, mentre il secondo solo all'interno dei campioni di acqua di linea e di *tank*.

Il gene *ermB* è stato ritrovato con prevalenze del 100% nei campioni di feci e biofilm e con almeno il 60% nelle altre matrici (p=0,0201).

Solo all'interno dei campioni di acqua di linea è stato trovato il gene *oqxA* con prevalenza del 60%, la più significativa riscontrata in questo confronto tra matrici (p=0,0001).

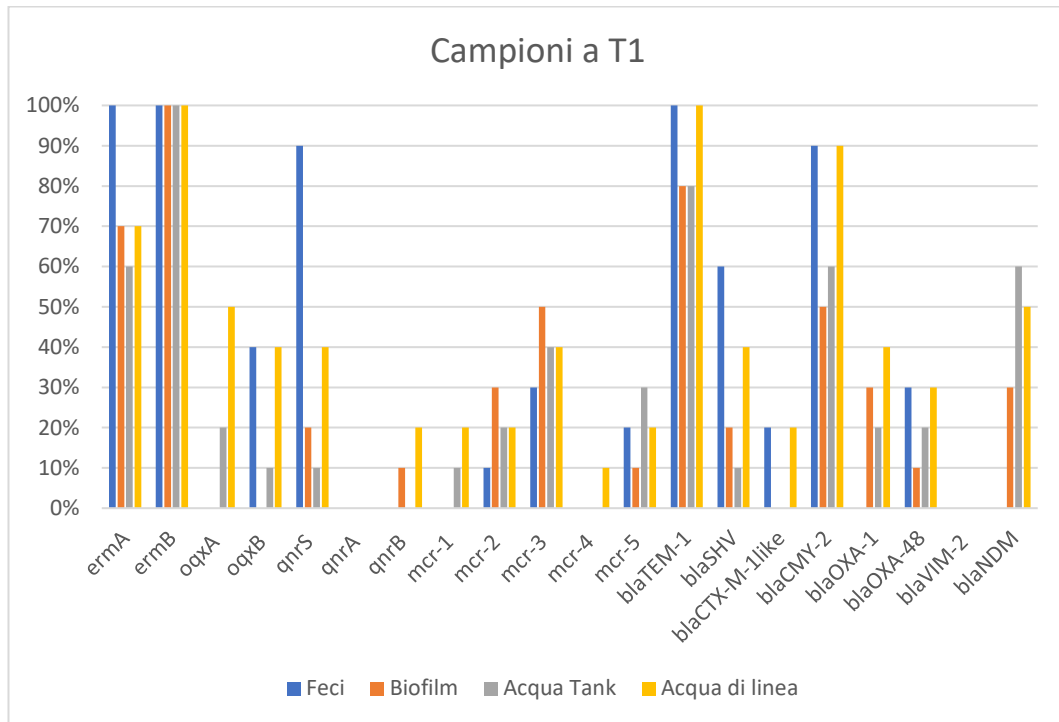
Confrontando i dati ottenuti dai campioni prelevati dalle fonti idriche (acqua di *tank*, di linea e biofilm), è interessante notare che 16 ARG dei 20 ricercati erano presenti in prevalenza maggiore nell'acqua di linea rispetto a quella di *tank*.

Degli allevatori intervistati, il 30% ha dichiarato di effettuare trattamenti durante il ciclo di allevamento, mentre l'80% ha affermato di eseguirli tra inizio e fine ciclo.

Il 100% degli allevatori, inoltre, ha dichiarato di fare analisi microbiologiche e fisico-chimiche annuali dei sistemi di abbeverata.

Nonostante le precauzioni prese dagli allevatori, la presenza di geni di resistenza nei sistemi di abbeverata fin dalla data dell'accasamento, e in prevalenza maggiore rispetto all'acqua prelevata dai *tank*, potrebbe essere data da una disinfezione non accurata delle linee tra un ciclo e quello successivo.

Grafico 8. Confronto prevalenza ARG tra campioni di diverse matrici a T1



Dei 20 ARG ricercati, sono stati rilevati tutti almeno una volta, eccetto *oqxA*, *qnrA* e *bla_{VIM-2}* (Grafico 8).

I livelli più elevati di ARG sono stati rilevati nei campioni di feci.

In questa matrice si osserva una maggiore prevalenza di resistenza verso i macrolidi, tramite i geni *ermA* ed *ermB*, e verso le β -lattamine, tramite i geni *bla_{TEM-1}* e *bla_{CMY-2}*.

Il gene *oqxA* è stato rilevato solo all'interno di campioni di acqua con prevalenze del 50% all'interno dell'acqua di linea e del 20% all'interno dell'acqua di *tank* ($p=0,0089$).

L' ARG *bla_{NDM}* è stato invece ritrovato in tutte le matrici tranne le feci, con prevalenze tra il 30 e il 60% ($p=0,0264$).

Il *qnrS* è stato rilevato nelle feci con prevalenze fino al 90% del totale ($p=0,0012$), mentre nelle altre matrici fino al 40%.

Gli incrementi di prevalenza più significativi sono stati osservati all'interno dei campioni d'acqua di fine linea, rispetto a quelli osservati nei campioni prelevati dall'acqua di *tank*.

Probabilmente i sistemi di abbeverata, trovandosi all'interno dei capannoni assieme agli animali e in condizioni favorevoli di proliferazione batterica, hanno contribuito a formare un ambiente in cui batteri resistenti hanno trasferito *ARG* ad altri batteri presenti in allevamento.

All'interno dei capannoni vi è una temperatura costante, inoltre a fine linea vi è una pressione minore e l'acqua, rallentando, potrebbe favorire l'adesione di batteri alla parete dei tubi.

Si suppone che l'acqua all'interno dei tubi possa favorire il trasferimento di geni di resistenza, soprattutto in caso di mancata corretta pulizia dei sistemi di abbeverata (Mustedanagic et al., 2023).

5 CONCLUSIONI

In campo zootecnico, e in particolare nell'allevamento avicolo, si sono sviluppati negli ultimi anni sistemi di allevamento alternativi come quello biologico in cui l'uso degli antibiotici non è ammesso.

Adottare questa pratica potrebbe essere una strategia per limitare la diffusione dell'*AMR* per l'assenza di pressione selettiva operata dall'uso di antibiotici (Mak et al., 2022).

Chi decide di allevare secondo metodo biologico, non potendo utilizzare farmaci deve porre ancora più attenzione, rispetto agli allevamenti tradizionali, su profilassi degli animali e igiene dell'allevamento.

È possibile migliorare la biosicurezza, in particolare le procedure di pulizia e disinfezione. Queste buone pratiche sono essenziali per prevenire l'introduzione e la diffusione di agenti patogeni resistenti dagli allevamenti all'esterno e viceversa (Bombieri, 2022).

È importante applicare protocolli di pulizia e disinfezione dei sistemi di abbeverata per evitare il proliferare di popolazioni batteriche e la formazione di biofilm che possono favorire la diffusione dell'*AMR*.

Per verificare l'efficacia di questi trattamenti è utile effettuare analisi periodiche chimico-fisiche e microbiologiche, sia dei sistemi di abbeverata in sé che dalla fonte, che può essere sia di sorgente sia di acquedotto.

Questo studio ha riscontrato la presenza di molti ARG fin dai primi giorni del ciclo di allevamento nelle diverse matrici campionate. È stata, inoltre, rilevata la presenza di profili MDR in tutte le matrici raccolte. Questo risultato suggerisce possibile trasferimento di ARG attraverso le popolazioni microbiche presenti nei sistemi di abbeverata (Yamagami et al., 2024).

In conclusione, si può affermare che sono necessari ulteriori studi per valutare il ruolo che gli allevamenti *antibiotic-free* possono svolgere nello sviluppo e nella diffusione dell'antibiotico-resistenza.

Attraverso un ampliamento del numero di campioni e un monitoraggio longitudinale, si potrebbe essere in grado di valutare in maniera più approfondita l'impatto di questi sistemi di allevamento sull'emergenza e diffusione di *ARG*.

Infine, sarebbe importante indagare anche il ruolo di altre matrici presenti in allevamento, come, ad esempio, suolo e aria, per ottenere un quadro completo della distribuzione dei geni di resistenza.

APPENDICE

Di seguito sono elencati le definizioni principali di alcuni termini utilizzati.

Queste sono tratte da:

- D.L. (Decreto-legge) del 05 agosto 2022, n. 134, recante disposizioni in materia di sistema di identificazione e registrazione (I&R) degli operatori, degli stabilimenti e degli animali per l'adeguamento della normativa nazionale alle disposizioni del regolamento (UE) 2016/429.
- art. 3, comma 1, lett. a), del Codice del Consumo, Dal Regolamento (UE) n. 2018/848 “Norme relative alla produzione biologica e all’etichettatura dei prodotti biologici”.
- Regolamento UE 2018/848
- Definizioni date dall’ Istituto Superiore della Sanità (ISS)

Allevamento biologico: tipologia di allevamento che rispetta le abitudini naturali dell'animale. I benefici sono molteplici: per la salvaguardia dell'ambiente, per il benessere degli animali e per i consumatori finali, che godono dell'alta qualità dei prodotti da allevamento biologico.

Allevamento intensivo: sistema di produzione animale caratterizzato da una elevata densità di animali allevati in spazi confinati, con l'obiettivo di massimizzare la produzione e ridurre i costi.

Allevamento: è un tipo di unità riproduttiva. È l'insieme degli avicoli della stessa specie, o gruppo specie, e dello stesso proprietario e dello stesso detentore, presenti in una singola unità produttiva.

Avicoli: il pollame, ossia animali della specie *Gallus gallus*, [...] allevati o comunque tenuti ai fini della riproduzione, della produzione di carne [...].

Azienda: una struttura agricola o di altro tipo, anche all'aperto, nella quale gli avicoli sono allevati o tenuti, esclusi i macelli, i mezzi di trasporto, gli impianti e stazioni di quarantena ed i posti d'ispezione frontaliere.

Benessere Animale: si riconosce all'animale il diritto inalienabile di essere trattato come un essere vivente 'Una vita degna di essere vissuta'. Questa è espressa secondo le 5 libertà del Rapporto Brambell.

Biofilm: è un'aggregazione di microrganismi coperta da una pellicola adesiva e protettiva in grado di aumentare la loro resistenza a disinfettanti e antimicrobici.

Capannone: il locale o recinto destinato ad ospitare singoli gruppi, identificato in maniera univoca nell'ambito dell'allevamento di appartenenza.

Classy Farm: è un sistema informatico del Ministero della Salute per il monitoraggio e classificazione degli allevamenti in base al rischio. I parametri ricercati sono il benessere animale, la biosicurezza dell'allevamento, condizioni del macello e uso degli antibiotici (consumo e suscettibilità).

Consumatore: persona fisica che agisce per scopi estranei all'attività imprenditoriale, commerciale, artigianale o professionale eventualmente svolta".

Detentore: la persona fisica o giuridica responsabile anche temporaneamente degli animali. Qualora non coincida col proprietario degli animali, il detentore è formalmente individuato dal proprietario

degli animali. In caso di contratto di soccida, il soccidario rappresenta il detentore e il soccidante il proprietario degli animali.

Filiera integrata: sistema di produzione in cui un'unica azienda o un gruppo strettamente collegato di aziende controlla e gestisce tutte le fasi di un processo produttivo, dalla materia prima al prodotto finito.

One Health: è un concetto che sostiene che salute di persone, animali ed ecosistemi sia strettamente legata e che qualsiasi cambiamento in uno di questi elementi possa influenzare gli altri.

Proprietario: la persona fisica o giuridica che ha la proprietà degli animali e la loro piena disponibilità, a titolo permanente o provvisorio.

Ricetta Elettronica Veterinaria: una novità introdotta in Italia per digitalizzare e semplificare la prescrizione dei farmaci per gli animali. Sostituisce la tradizionale ricetta cartacea, migliorando la tracciabilità dell'uso del farmaco.

Ricovero per pollame: un edificio fisso o mobile per l'alloggio di gruppi di pollame che include tutte le superfici coperte da tetti, inclusa una veranda; il ricovero può essere suddiviso in compartimenti separati, ognuno di essi ospitante un unico gruppo.

Unità produttiva: un'unità produttiva all'interno della medesima azienda, identificata univocamente, in cui è svolta una determinata attività zootecnica e della quale il servizio veterinario constata la totale indipendenza da qualsiasi altra unità della stessa azienda, sia in termini di ubicazione sia in termini di gestione del pollame o degli altri volatili ivi ospitati.

ALLEGATI

Allegato A - Categorizzazione uso prudente degli antibiotici EMA

EMA Categorizzazione degli antibiotici destinati all'impiego negli animali per un uso prudente e responsabile

L'uso prudente e responsabile di antibiotici sia negli animali che negli esseri umani può ridurre il rischio di sviluppo della resistenza da parte dei batteri.

Questo aspetto è particolarmente importante per gli antibiotici utilizzati per uso sia umano che veterinario e per quelli che rappresentano l'ultima linea di trattamento in caso di infezioni gravi nelle persone.

One Health (una sola salute)

La resistenza agli antibiotici si può diffondere tra gli animali, gli esseri umani e l'ambiente.

Il gruppo di esperti ad hoc di consulenza antimicrobica (AMEG) ha classificato gli antibiotici in base all'effetto che il possibile sviluppo della resistenza antimicrobica dovuto al loro utilizzo negli animali può avere sulla salute pubblica e in base alla necessità di utilizzarli nella medicina veterinaria.

La categorizzazione è intesa a essere uno strumento di supporto al processo decisionale dei veterinari per la scelta degli antibiotici da usare.

Si esortano i veterinari a consultare la categorizzazione AMEG prima di prescrivere antibiotici agli animali che hanno in cura. La categorizzazione AMEG non sostituisce le linee guida terapeutiche, che devono tenere conto anche di altri fattori, quali le informazioni di supporto presenti nel riassunto delle caratteristiche del prodotto per i medicinali disponibili, le limitazioni inerenti all'uso nelle specie destinate alla produzione alimentare, le variazioni regionali delle malattie e dell'antibiotico-resistenza e le politiche nazionali in materia di prescrizione.

Categoria A	Categoria B
Evitare <ul style="list-style-type: none">gli antibiotici di questa categoria non sono autorizzati come medicinali veterinari nell'UEnon dovrebbero essere usati in animali destinati alla produzione alimentarepossono essere somministrati agli animali da compagnia in circostanze eccezionali	Limitare <ul style="list-style-type: none">gli antibiotici di questa categoria sono molto importanti nella medicina umana e l'uso negli animali dovrebbe essere limitato al fine di attenuare il rischio per la salute pubblicadovrebbero essere presi in considerazione solo quando non ci sono antibiotici delle categorie C o D che potrebbero essere clinicamente efficaciper quanto possibile, l'uso dovrebbe essere basato su esami di suscettibilità antimicrobica
Categoria C	Categoria D
Attenzione <ul style="list-style-type: none">per gli antibiotici di questa categoria esistono alternative nella medicina umanaper alcune indicazioni veterinarie, non sono disponibili alternative appartenenti alla categoria Ddovrebbero essere presi in considerazione solo in assenza di antibiotici della categoria D che potrebbero essere clinicamente efficaci	Prudenza <ul style="list-style-type: none">per quanto possibile, dovrebbero essere usati come trattamenti di prima lineacome sempre, dovrebbero essere usati con prudenza, solo se necessario dal punto di vista medico

Per gli antibiotici di tutte le categorie

- si dovrebbero evitare l'uso non necessario, i periodi di trattamento eccessivamente lunghi e i sottodosaggi
- il trattamento di gruppo dovrebbe essere limitato a situazioni in cui non è fattibile un trattamento individuale
- consultare le linee guida della Commissione europea sull'uso prudente degli antibiotici negli animali: <https://bit.ly/2s7LUF2>

AMEG è l'acronimo che designa l'Antimicrobial Advice Ad Hoc Expert Group dell'EMA. Il gruppo riunisce esperti di medicina sia umana sia veterinaria, che collaborano per fornire indicazioni riguardanti le implicazioni sulla salute pubblica dell'uso degli antibiotici negli animali.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY
SCIENCE. MEDICINES. HEALTH

Rapporto completo dell'AMEG: <https://bit.ly/30ZEuRi>

Categorizzazione delle classi di antibiotici per uso veterinario
(con esempi di sostanze autorizzate per uso umano o veterinario nell'UE)

A	Aminopenicilline mecillinam pivmecillinam	Carbapenemi meropenem doripenem	Medicinali usati solo per trattare la tubercolosi o altre malattie causate da micobatteri isoniazide etambutolo pirazinamide etionamide	Glicopeptidi vancomicina	EVITARE	
	Ketolidi telitromicina	Lipopeptidi daptomicina		Gliciclidine tigeciclina		
	Monobattami aztreonam	Oxazolidinoni linezolid		Derivati dell'acido fosfonico fosfomicina		
	Rifamicine (tranne rifaximina) rifampicina	Riminofenazine clofazimina		Altre cefalosporine e penemi (codice ATC J01DI), comprese le combinazioni di cefalosporine di terza generazione con inibitori delle beta-lattamasi ceftobiprolo ceftarolina ceftalozano-tazobactam faropenem		Acidi pseudomonici mupirocina
	Carbossipenicillina e ureidopenicillina, comprese le combinazioni con inibitori delle beta-lattamasi piperacillina-tazobactam	Solfoni dapsona		Streptogramine pristinamicina virginiamicina		Sostanze di recente autorizzazione nella medicina umana in seguito alla pubblicazione della classificazione AMEG da definire
B	Cefalosporine di terza e quarta generazione con l'eccezione di combinazioni con inibitori delle beta-lattamasi cefoperazone cefovecina cefquinome ceftiofur	Polimixine colistina polimixina B	Chinoloni: fluorochinoloni e altri chinoloni cinoxacina danofloxacina difloxacina enrofloxacina flumequina lbafloxacina	LIMITARE		
	C	Aminoglicosidi (tranne spectinomina) amikacina apramicina diidrostreptomina framicina qentamicina kanamicina neomicina paromomicina streptomina tobramicina	Aminopenicilline, in associazione con inibitori delle beta-lattamasi amoxicillina + acido clavulánico ampicillina + sulbactam	Amfenicoli cloramfenicolo florfenicolo tiamfenicolo	ATTENZIONE	
Aminoglicosidi di prima e seconda generazione e cefamicine cefacetrile cefadrossil cefalexina cefalonio cefalotina cefapirina cefazolina	Lincosamidi clindamicina lincomicina pirimicina	Macrolidi eritromicina gamitromicina norfloxacina orbifloxacina acido oxolinico pradofloxacina				
D	Aminopenicilline, senza inibitori delle beta-lattamasi amoxicillina ampicillina metampicillina	Aminoglicosidi: solo spectinomina spectinomina	Sulfonamidi, inibitori della diidrofolato reductasi e combinazioni formosulfatazolo ftalilsulfatazolo sulfacetamide sulfacorpiridazina sulfaclozina sulfadiazina sulfadimetoxina sulfadimidina sulfadoxina sulfafurazolo sulfaguandina	Rifamicina: solo rifaximina rifaximina	PRUDENZA	
	Tetracicline clortetraciclina doxiciclina oxitetraciclina tetraciclina	Penicilline anti-stafilococciche (penicilline beta-lattamasi resistenti) cloxacillina dicloxacillina nafcillina oxacillina	Poliipeptidi ciclici bacitracina	Nitroimidazoli metronidazolo		
	Penicilline naturali, a spettro ristretto (penicilline sensibili alle beta-lattamasi) benzilpenicillina benzatinica fenossimetilpenicillina benzatinica benzilpenicillina penetamato iodidrato	Penicilline sensibili alle beta-lattamasi feneticillina fenossimetilpenicillina benzilpenicillina procaina	Antibatterici steroidi acido fusidico	Derivati nitrofuranci furalidone furazolidone		

Altri fattori da prendere in considerazione

Via di somministrazione: quando si prescrivono antibiotici dovrebbe essere presa in considerazione assieme alla categorizzazione. L'elenco seguente suggerisce vie di somministrazione e tipi di formulazione classificati dal minore fino al maggiore impatto stimato sull'antibiotico-resistenza.

- Trattamento individuale locale (per esempio iniettore mammario, gocce oculari o auricolari)
- Trattamento individuale parenterale (per via endovenosa, intramuscolare, sottocutanea)
- Trattamento individuale orale (ossia compresse, bolo orale)
- Medicazione di gruppo iniettabile (metafilassi), solo se debitamente motivata
- Medicazione di gruppo orale tramite acqua di abbeverata/latte artificiale (metafilassi), solo se debitamente motivata
- Medicazione di gruppo orale tramite mangime o premiscela (metafilassi), solo se debitamente motivata



Allegato B - Scheda raccolta dati e accompagnamento campioni



Allegato A

Scheda raccolta dati e accompagnamento campioni

SCHEDA no.

Data 1° campionamento/...../.....

Data 2° campionamento/...../.....

ALLEVAMENTO

VIA N. COMUNE

PROVINCIA ULSS

CODICE ALLEVAMENTO

AZIENDA

Allevamento convenzionale

Allevamento biologico

Anno di costruzione

No. unità/azienda

Superficie totale mq

No. animali/azienda

Capannone campionato

No. animali allevati per ciclo

Data accasamento

Durata ciclo da gg. a gg.

Accesso area *free-range* Si No

Superficie mq

ALIMENTAZIONE E ABBEVERAMENTO

Approvvigionamento mangime

.....

Sistema di distribuzione mangime

.....

Approvvigionamento idrico

.....

Sistema di distribuzione idrica

.....

Controllo qualità microbiologica acqua SI NO

.....

Controllo qualità chimico-fisica acqua SI NO

.....

Uso di additivi NO SI

.....

USO FARMACI (durata e date trattamenti, almeno 6 mesi precedenti, con
intervista allevatore e consultazione registro farmaci)

.....

.....

STATO SANITARIO (es. biosicurezze, gestione sanitaria, piani vaccinali,
malattie, esami di *routine*)

.....

.....

CAMPIONI

Acqua in entrata lt

Acqua fine linea lt

Biofilm fine linea tamponi (..... linee di abbeverata)

Feci (..... punti di campionamento)

PARTE DA COMPILARE DURANTE LA SECONDA VISITA

Trattamento dell'acqua durante il ciclo in oggetto: NO SI

Se sì riportare informazioni a riguardo (es. prodotto usa, quando, quante volte, perché, etc.)

.....
.....
.....

Trattamenti del gruppo nel capannone campionato durante il ciclo in oggetto:

NO SI

Se sì riportare informazioni a riguardo (es. prodotto usato, inclusi fitoterapici, oli essenziali, probiotici, quando, quante volte, perché, etc.)

.....
.....
.....

CAMPIONI

Acqua in entrata lt

Acqua fine linea lt

Biofilm fine linea tamponi (..... linee di abbeverata)

Feci (..... punti di campionamento)

BIBLIOGRAFIA e SITOGRAFIA

Aboelseoud H., Ismael E., Moustafa G.Z., Badawy E.M. (2021). *Hygienic Studies on Biofilms in Drinking Water Systems in Poultry Farms: Isolation, Molecular Identification, and Antibiotic Sensitivity*. Journal of Animal Health and Production 9(4): 443-454. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.jahp/2021/9.4.443.454>

Aldaihani R., Heath L.S. (2024). *Investigating the nature of prokaryotic genomic island locations within a genome*. Plos One 19(5). doi: [10.1371/journal.pone.0301172](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0301172)

Alibayov B., Baba-Moussa L., Sina H., Zdenkova K., Demnerova K. (2014). *Staphylococcus aureus mobile genetic elements*. Molecular biology reports, 41(8): 5005-5018. doi: [10.1007/s11033-014-3367-3](https://doi.org/10.1007/s11033-014-3367-3)

Al-Nasser A., Al-Khalaifa H., A-Saffar A., Khalil F., Al-Bahouh M., Ragheb G., Al-Haddad A., Mashaly M. (2007). *Overview of chicken taxonomy and domestication*. World's Poultry Science Journal, 63 (2): 285-300. doi:[10.1017/S004393390700147X](https://doi.org/10.1017/S004393390700147X)

Antimicrobial Resistance – OIE

https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Media_Center/docs/pdf/Fact_sheets/ANTIBIO_EN.pdf

Antimicrobial Resistance Collaborators (2022). *Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis*. The Lancet; 399(10325): 629-655. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)

- Aviagen (2018). *Ross Broiler: Manuale di Gestione*.
https://aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Italian_TechDocs/Ross-BroilerHandbook2018-IT.pdf
- Aviagen (2020). *Ross Broiler: Pocket Guide*.
https://aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/Ross-Broiler-Pocket-Guide-2020-EN.pdf
- Aviagen (2022). *Ross 308/308 FF Broiler: Obiettivi di performance*.
https://aviagen.com/assets/Tech_Center/BB_Foreign_Language_Docs/Italian_TechDocs/RossxRoss308_BroilerPerformanceObjectives2022_IT.pdf
- Barberio A., Di Martino G., Manfrin A., Menini A., Mutinelli F. (2023).
Appunti di scienza: Il benessere animale, pubblicazione n. 24.
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie.
<https://www.izsvenezie.it/documenti/comunicazione/materiale-editoriale/1-comunicazione-scientifica/appunti-scienza/benessere-animale.pdf>
- Bombieri C. (2022). *Sistemi e Tecnologie Innovative per l'Allevamento Avicolo*. Relatore Prof. A. Pezzuolo. Dipartimento Territorio e sistemi agro-forestali, Facoltà di Agraria, Università degli studi di Padova, Legnaro.
- Cambiotti V., Romagnoli P., Sorice A., Sechi P., Cenci Goga B. (2014).
I meccanismi con cui i batteri resistono agli antimicrobici.
Argomenti (2): 71-79. https://sivemp.it/wp/wp-content/uploads/2019/03/file_1405429628.pdf
- Cerolini S., Cavalchini L.G. (1998). *Appendice 5 – Avicoltura. Evoluzione del patrimonio zootecnico italiano nel corso del XX secolo*. Annali Accademia Nazionale di Agricoltura 191(5): 258-265.

Cerolini S., Marzoni Fecia di Cossato M., Romboli I. (2015). *Avicoltura e conigliicoltura*. Milano: Le Point Vétérinaire Italie.

COBB (2021). *Broiler Management Guide*.

https://www.cobbgenetics.com/assets/Cobb-Files/Broiler-Guide_English-2021-min.pdf

COBB (2022). *Performance & Nutrition Supplement*.

<https://www.cobbgenetics.com/assets/Cobb-Files/2022-Cobb500-Broiler-Performance-Nutrition-Supplement.pdf>

Coleman B.L., Louie M., Salvadori M.I., McEwen S.A., Neumann N., Sibley K., Irwin R.J., Jamieson F.B., Daignault D., Majury A., Braithwaite S., Crago B., McGeer A.J. (2013). *Contamination of Canadian private drinking water sources with antimicrobial resistant Escherichia coli*. *Water Research* (47): 3026–3036.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.03.008>

Del Bravo F., Nucera M., Parmigiani P. (2024). *Tendenze e Dinamiche Avicoli*. Ismea.

Di Francesco C.E., Ferri G., Smoglica C., Festino A.R., Ruffini F., Marsilio F., Vergara A. (2022). Diffusione di salmonelle multi-resistenti e dei determinanti genetici di Antimicrobicoresistenza nella filiera antibiotic-free del pollo da carne del centro Italia. In *Convegni di Società Italiana di Patologie Aviarie*.

<https://www.patologiaviare.org/wp-content/uploads/2023/09/2022-estratto-07.pdf>

- Diarra S., Lameta S., Amosa F., Anand S. (2021). *Alternative Bedding Materials for Poultry: Availability, Efficacy, and Major Constraints*. *Frontiers in Veterinary Science* (8). doi:[10.3389/fvets.2021.669504](https://doi.org/10.3389/fvets.2021.669504)
- Donlan R.M. (2001). *Biofilms and device-associated infections*. *Emerging Infectious Disease* 7(2): 277-81. DOI: [10.3201/eid0702.010226](https://doi.org/10.3201/eid0702.010226)
- Duarte AC, Rodrigues S, Afonso A, Nogueira A, Coutinho P. (2022) Antibiotic Resistance in the Drinking Water: Old and New Strategies to Remove Antibiotics, Resistant Bacteria, and Resistance Genes. *Pharmaceuticals*. 15 (4): 393. <https://doi.org/10.3390/ph15040393>
- Elischer M. 2019. The Five Freedoms: A history lesson in animal care and welfare. https://www.canr.msu.edu/news/an_animal_welfare_history_lesson_on_the_five_freedoms
- Elmberg J., Berg C., Lerner H., Waldenström J., Hessel R. (2017). *Potential disease transmission from wild geese and swans to livestock, poultry and humans: a review of the scientific literature from a One Health perspective*. *Infection Ecology & Epidemiology* 7 (1). <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/20008686.2017.1300450>
- Farooq M., Smoglica C., Ruffini F., Soldati L., Marsilio F., Di Francesco C.E. (2022). *Antibiotic Resistance Genes Occurrence in Conventional and Antibiotic-Free Poultry Farming, Italy*. *Animals* 12 (18): 2310. doi: [10.3390/ani12182310](https://doi.org/10.3390/ani12182310)

- Ferrari S., Cribari-Neto F. (2010). *Beta Regression for Modelling Rates and Proportions*. Journal of Applied Statistics 31 (7).
<https://doi.org/10.1080/0266476042000214501>
- Gautier-Bouchardon A. V. (2018). Antimicrobial Resistance in *Mycoplasma* spp. Microbiology Spectrum 6 (4): 1128. doi:
<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0030-2018>
- Hedman H.D., Vasco K.A., Zhang L. (2020). *A Review of Antimicrobial Resistance in Poultry Farming within Low-Resource Settings*. Animals 10 (8): 1264. <https://doi.org/10.3390/ani10081264>
- Hoffman S.J., Outtersen K., Røttingen J.A., Cars O., Cliff C., Rizvi Z., Rotberg F., Tomson G., Zorzet A. (2015). *An international legal framework to address antimicrobial resistance*. Bulletin of the World Health Organization. 93 (2): 66.
doi:[10.2471/BLT.15.152710](https://doi.org/10.2471/BLT.15.152710)
- Ibrahim N., Boyen F., Mohsin M.A.S., Ringenier M., Berge A.C., Chantziaras I., Fournié G., Pfeiffer D., Dewulf J. (2023). *Antimicrobial Resistance in Escherichia coli and Its Correlation with Antimicrobial Use on Commercial Poultry Farms in Bangladesh*. Antibiotics 12 (9): 1361. doi: [10.3390/antibiotics12091361](https://doi.org/10.3390/antibiotics12091361)
- Ismea (2022). *Scheda Avicoli*.
https://www.ismeamercati.it/flex/files/1/f/9/D.66c5ed005c2ae0027ac0/SchedaAvicoli_2022_02.pdf
- Ismea (2024). *Scheda di settore*.
<https://www.ismeamercati.it/carni/avicoli-uova>

- Ismea (2024). Tendenze e dinamiche recenti Avicoli – maggio 2024.
<https://www.ismeamercati.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/13067>
- Kapetanov M., Pajić M., Ljubojević D., Pelić M. (2015). *Heat Stress In Poultry Industry*. Arhiv veterinarske medicine 8(2): 87-101.
doi:[10.46784/e-avm.v8i2.117](https://doi.org/10.46784/e-avm.v8i2.117)
- Kasimanickam V, Kasimanickam M, Kasimanickam R. (2021). Antibiotics Use in Food Animal Production: Escalation of Antimicrobial Resistance: Where Are We Now in Combating AMR? *Medical Sciences*. 9 (1):14. <https://doi.org/10.3390/medsci9010014>
- Laconi A., Mughini-Grasb L., Tolosi R., Grilli G., Trocino A., Carraro L., Di Cesare F., Cagnardi P., Piccirillo A. (2021). *Microbial community composition and antimicrobial resistance in agricultural soils fertilized with livestock manure from conventional farming in Northern Italy*. Science of The Total Environment (760).
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143404>
- Mak, P.H.W., Rehman, M.A., Kiarie, E.G. *et al.* (2022). Production systems and important antimicrobial resistant-pathogenic bacteria in poultry: a review. *J Animal Sci Biotechnol* 13 (148)
<https://doi.org/10.1186/s40104-022-00786-0>
- Mancuso G., Midiri A., Gerace E., Biondo C. (2021). *Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens*. Pathogens 10 (10): 1310. doi: <https://doi.org/10.3390/pathogens10101310>
- Miele M., Ara A. (2008). *Le scelte alimentari e il benessere animale: le preoccupazioni e le aspettative delle consumatrici e dei consumatori italiani*. Agriregionieuropa anno 4 (13).

<https://agriregionieuropa.univpm.it/it/content/article/31/13/le-scelte-alimentari-e-il-benessere-animale-le-preoccupazioni-e-le-aspettative>

Ministero della Salute, *Antibiotico-resistenza nel settore Umano*. (2022).

<https://www.salute.gov.it/portale/antibioticoresistenza/dettaglioContenutiAntibioticoResistenza.jsp?lingua=italiano&id=5282&area=antibiotico-resistenza&menu=vuoto>

Ministero della Salute, *Antibioticoresistenza-strategie One Health*. (2022).

<https://www.salute.gov.it/portale/antibioticoresistenza/dettaglioContenutiAntibioticoResistenza.jsp?lingua=italiano&id=5279&area=antibiotico-resistenza&menu=vuoto>

Ministero della Salute. *Consistenza allevamenti e capi avicoli*. Sistema Informativo Veterinario – Statistiche. (data di riferimento: 31/08/2024; dati elaborati il 15/09/2024).

https://www.vetinfo.it/j6_statistiche/index.html#/report-pbi/41

Murray C.J.L., Ikuta K.S., Sharara F., Swetschinski L. (2022). *Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis*. The Lancet 399(10325): 629-655.

[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)

Mustedanagic A., Matt M., Weyermair K., Schrattenecker A., Kubitza I., Firth C.L., Loncaric I., Wagner M., Stessl B. (2023). *Assessment of microbial quality in poultry drinking water on farms in Austria*. Frontiers in Veterinary Science (10).

<https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1254442>

Ngwenya L., Moganedi K.L.M., Chitura T. (2023). Presence of Coliforms in Water, Poultry Mouth and Rectal Swabs from Selected Smallholder Poultry Farming Projects of Capricorn District, South

Africa . Agricultural Science Digest. 43 (2): 248-254.
doi: 10.18805/ag.DF-495

Ordinanza del Presidente della Giunta Regionale n. 182 del 31 dicembre 2021. *Influenza Aviaria. Aggiornamento delle misure di restrizione nelle province di Verona, Padova, Vicenza e Rovigo.*
https://www.resolveveneto.it/wp-content/uploads/2023/04/OPGR-182_311221_merged.pdf?_gl=1*1chxcm3*_up*MQ..*_ga*NTkzNjU3ODY5LjE3Mjl1Mjl3MDQ.*_ga_KDW66HBZDX*MTcyMjUyMjcwNC4xLjAuMTcyMjUyMjcwNC4wLjAuMA

Peyrat M.B., Soumet C., Maris P., Sanders P. (2008). *Phenotypes and genotypes of Campylobacter strains isolated after cleaning and disinfection in poultry slaughterhouses.* Veterinary Microbiology (128): 313-326. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.10.021>

Poli G., Dall' Ara P., Martino P.A., Rosati S. (2017). *Microbiologia e immunologia veterinaria.* 3° ed., Edra.

Rocchi L., Paolotti L., Rosati A., Boggia A., Castellini C. (2019). *Assessing the sustainability of different poultry production systems: A multicriteria approach.* Journal of Cleaner Production (211): 103-114. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.11.013>

Røder H.L., Christidi E., Amador C.I., Music S., Olesen A.K., Svensson B., Madsen J.S., Herschend J., Kreft J.U., Burmølle M. (2023). *Flagellar interference with plasmid uptake in biofilms: a joint experimental and modeling study.* Applied and environmental microbiology 90 (1). doi: [10.1128/aem.01510-23](https://doi.org/10.1128/aem.01510-23)

- Sassatelli R. (2006). *Virtue, Responsibility and Consumer Choice: Framing Critical Consumerism*. In J. Brewer, F. Trentmann (a cura di), *Consuming cultures, global perspectives*. Oxford: Berg.
- Sibley C.G., Monroe B.L. Jr. (1990). *Distribution and Taxonomy of the Birds of the World*. New Haven and London; Yale University Press.
- Thiermann AB. International standards: the World Organisation for Animal Health Terrestrial Animal Health Code. Rev Sci Tech. 2015 Apr; 34(1):277-281. doi: 10.20506/rst.34.1.2340
- Tian M, He X., Feng Y., Wang W., Chen H., Gong M., Liu D., Clarke J.L., van Eerde A. (2021). *Pollution by Antibiotics and Antimicrobial Resistance in LiveStock and Poultry Manure in China, and Countermeasures*. Antibiotics 10(5): 539. doi: [10.3390/antibiotics10050539](https://doi.org/10.3390/antibiotics10050539)
- Tixier-Boichard M., Bed'hom B., Rognon X. (2011). *Chicken domestication: From archeology to genomics*. Comptes Rendus. Biologies, 334 (3):197-204. doi: [10.1016/j.crv.2010.12.012](https://doi.org/10.1016/j.crv.2010.12.012)
- UNAITALIA, Relazione annuale '24 <https://www.unaitalia.com/relazione-annuale-e-risorse/>
- Valceschini E. (2006). *Poultry meat trends and consumer attitudes*. World's poultry Science Journal (62): 81-82.
- World Health Organization (2023), *Antimicrobial resistance*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

World Health Organization (WHO) (2018). *Global Action Plan on Physical Activity 2018-2030: More Active People for a Healthier World*. (p. 104). Geneva: World Health Organization.

Yamagami Y., Asao M., Takahashi A., Hashimoto Y., Okuyama N., Arai E., Arihara W., Masui R., Shimazaki Y. (2024). *Prevalence and antimicrobial resistance of Enterococcus spp. isolated from animal feed in Japan*. *Frontiers in Veterinary Sciences* (10) <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1328552>

Yang Y., Ashworth A.J., Willett C., Cook K., Abhinav Upadhyay A., Owens P.R., Ricke S.C., DeBruyn J.M., Moore P.A. Jr. (2019). *Review of Antibiotic Resistance, Ecology, Dissemination, and Mitigation in U.S. Broiler Poultry Systems*. *Frontiers in Microbiology* (10): 2639. doi: [10.3389/fmicb.2019.02639](https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02639)