

THE MANTEL-HAENSZEL PROCEDURE IN EPIDEMIOLOGICAL STUDIES: AN INTRODUCTION

Parodi Stefano¹, Bottarelli Ezio²

KEYWORDS

Mantel-Haenszel, case control study, cohort study, confounders, survival curves.

PAROLE CHIAVE

Mantel-Haenszel, studi caso controllo, studi di coorte, confondenti, curve di sopravvivenza.

SUMMARY

Many epidemiological studies aim to evaluate the existence of associations between outcomes (i.e., disease incidence/prevalence, effect of treatment administration, etc.) and presumptive causes (i.e., exposures, risk factors, genetic markers, etc.). Results of these studies can be biased by the presence of external variable(s), associated both with the factor(s) and the outcome(s). These nuisance variables are called confounders. Several methods are available in order to control the effect of confounders.

In this paper, the Mantel-Haenszel (MH) statistical method for confounders control is illustrated. It represents a simple and useful tool to obtain estimates of association, adjusted for the effect of one or more confounders. It is very easy in computational form, it does not require specific software, and the interpretation of the results is friendly. Moreover, an application of the MH method to the two major epidemiological observational studies (case-control and cohort studies) is briefly illustrated by the aid of examples. Finally, the use of MH method in the comparison of two survival curves (log-rank test) is instanced.

RIASSUNTO

Molti studi epidemiologici hanno lo scopo di verificare l'esistenza di associazione fra determinati eventi (es. incidenza o prevalenza di una malattia, esito di un trattamento, ecc.) e possibili cause (es. fattori di rischio, presenza di markers genetici). I risultati di questi studi possono essere distorti dalla presenza di variabili esterne associate sia all'effetto che alla presunta causa. Tali variabili prendono il nome di "confondenti" (confounders) ed il loro effetto viene detto "confondimento" (confounding).

Esistono numerosi metodi utilizzabili al fine di controllare le variabili di

1 Epidemiology and Biostatistics Section, Scientific Directorate, G. Gaslini Children's Hospital, Largo G. Gaslini, 5, 16147 Genoa (Italy); e-mail: stefanoparodi@ospedale-gaslini.ge.it

2 Università degli Studi di Parma, Dipartimento di Salute Animale. Via del Taglio 10, 43100 Parma (Italy). e-mail: ezio.bottarelli@unipr.it

confondimento. In questo lavoro viene illustrato il metodo di Mantel-Haenszel, che rappresenta uno strumento utile e semplice per ottenere stime di associazione corrette per l'effetto di uno o più confondenti. Le modalità di calcolo estremamente semplici (non è richiesto alcun software statistico) e la facile interpretazione dei risultati rendono questa metodica di impiego particolarmente amichevole. Viene anche mostrato un esempio di applicazione del test di Mantel-Haenszel nell'ambito dei due principali studi epidemiologici osservazionali (studio caso-controllo e studio di coorte). Infine, viene illustrata l'applicazione del metodo per il confronto di due curve di sopravvivenza (log-rank test).

INTRODUCTION

Many epidemiological investigations are aimed at evaluating the association between a specific factor and one or more outcomes. Factors under studies typically include risk factors (e.g., exposures to toxic compounds) or genetic markers and, in Clinical Epidemiology, treatments administration. The most common outcomes of interest are the incidence or prevalence of a specific disease, and mortality for specific causes of death (6). Many estimates of association may be computed in relation with the study design and the type of available data (6, 10). However, some nuisance (i.e., external) variables, associated both with the factor (e.g., some exposure) and the outcome (e.g., incidence of a specific disease), may bias such association estimates. The phenomenon is known as confounding, and such external factors are accordingly named "confounders". A review of the main method to control the confounding effect in epidemiological investigations and, in particular, in case-control studies have been illustrated elsewhere (11).

In this paper, the Mantel-Haenszel (MH) method is illustrated, which represents a simple and useful tool to obtain estimates of association, adjusted for the effect of one or more confounders. MH method was introduced at the end of 1950s (8) and it has been largely applied to many different study designs. Recently, the development of Generalized Linear Models, implemented in many statistical packages, have quite reduced the scope of application of MH method. However, its very easy computational form, which does not require statistical software, and the friendly interpretation of the results allows the MH method to be still largely applied in simple epidemiological studies. Moreover, in the survival analysis framework, a variant of MH method (the log-rank test, also known as the Mantel-Cox test) is still probably the most largely applied tool for the comparison of survival curves, especially in Clinical Epidemiology.

The general principle of the MH procedure relies on the Score test, which is a statistical method based on the likelihood theory (3, 4). In particular, in epidemiological studies, to control the effect of one (or few) confounders, the Score test is applied to data stratified on the basis of the levels (or strata) of such variable (e.g., age classes) (4, 11). Within each stratum, the outcome (e.g., number of observed events) is measured in the two or (rarely) more groups of the factor of interest (e.g., the exposure). A statistical distribution is assumed for the observed outcome, on the

basis of the method of sampling and the study design. For example, for counting, as the number of events, Binomial and Hypergeometric functions are often employed. For random variables belonging to the exponential family (which includes the Binomial and the Hypergeometric functions) the Score test takes the following generic formula (4):

(1)

$$t_s = \frac{\left[\sum_j x_j - \hat{E} \left(\sum_j x_j \right) \right]^2}{\sum_j \hat{Var}(x_j)}$$

where x_j denotes the observed events in one group of exposure, within the j levels of the confounder, and E indicates the expected value under one specific hypothesis. The test is performed estimating the number of expected events under the hypothesis of no association between the factor of interest and the outcome. t_s follows asymptotically a chi squared distribution with 1 degree of freedom.

The MH procedure consists in calculating an estimate of a common effect of the exposure across the confounder strata using a weighted mean of an appropriate measure of association. In most epidemiological studies, such a measure represents an estimate of a relative risk between two different groups (exposed and unexposed subjects, treated and untreated patients, etc.), even if an absolute effect (e.g., mean difference) may also be estimated in some context (4). Under the null hypothesis of no association between the exposure and the outcome, the MH estimator of relative risk will tend to 1, while measures of absolute effect will tend to 0. In both such contexts, when MH approaches its expected value under the null hypothesis, t_s will tend to 0. Finally, another property of the MH estimators is the consistency, i.e., even in the presence of sparse data with 0 counts in some strata, a real number for MH estimator is obtained.

In this paper, an application of the MH method to the two major epidemiological observational studies (i.e., case-control and cohort studies) is briefly illustrated. Moreover, the last paragraph illustrates the MH method in the comparison of two survival curves. A more complete illustration of the MH procedure may be found in Kuritz et al (7). Italian readers may also refer to Grassi (4).

APPLICATION OF THE MH METHOD IN CASE-CONTROL STUDIES

In case-control studies, the main measure of association between previous exposure and risk of developing a disease is the Odds Ratio (OR), which, for rare outcomes, provide an unbiased estimate of relative risk (RR) (2, 3, 6, 10).

In a typical (simplified) case-control study without matching, i.e., with an independent selection of cases and controls, data may be arranged as in Table 1. For

each level of the confounder an estimate of the OR may be obtained by the following formula:

(2)

$$\hat{OR}_j = \frac{a_j \cdot d_j}{b_j \cdot c_j}$$

The MH method allows to obtain a common estimate of OR (OR_{MH}) across the strata of the confounder, by the following equation (8):

(3)

$$\hat{OR}_{MH} = \frac{\sum_{j=1}^K \frac{a_j d_j}{n_j}}{\sum_{j=1}^K \frac{b_j c_j}{n_j}}$$

It is easy to verify that equation 3 allows to obtain a consistent estimate of OR, i.e., even in the presence of sparse data with few or zero counts in some cells, a real number for OR_{MH} is obtained.

Please note that equation 3 is equivalent to equation 2 when $j=1$, i.e., in the absence of confounders.

As an estimator of RR, $OR_{MH}=1$ under the null hypothesis of equal risks in exposed and unexposed subjects. It will take values higher than 1 if the exposure is positively associated with the disease (e.g., if it causes the disease), while it will range between 0 and 1 if the exposure plays some protective role (2, 10). In the case of control study without matching, the MH test for the null hypothesis coincides with the score test based on the conditional assumption of a hypergeometric distribution for the counts in each cell a_j :

(4)

$$X^2_{MH} = \frac{\left[\sum_{j=1}^K a_j - \hat{E} \left(\sum_{j=1}^K a_j \right) \right]^2}{\sum_{j=1}^K \hat{V}ar(a_j)}$$

where:

$$\hat{E} \left(\sum_{j=1}^K a_j \right) = \sum_{j=1}^K \frac{m_j n_j}{n_j}$$

and

$$\sum_{j=1}^K \widehat{Var}(a_j) = \sum_{j=1}^K \frac{m_{0j} m_{1j} n_{0j} n_{1j}}{n_j^2 (n_j - 1)}$$

It is easy to verify that when OR_{MH} tends to 1 (i.e., when there is no association between the exposure and the risk of developing the disease under study) equation 4 will tend to zero. In fact the denominator of equation 4 is:

$$\begin{aligned} \chi_{MH}^2 &= \left[\sum_{j=1}^K a_j - \widehat{E} \left(\sum_{j=1}^K a_j \right) \right]^2 = \left[\sum_{j=1}^K a_j - \sum_{j=1}^K \frac{m_{1j} n_{1j}}{n_j} \right]^2 = \left[\sum_{j=1}^K a_j - \sum_{j=1}^K \frac{(a_j + c_j)(a_j + b_j)}{a_j + b_j + c_j + d_j} \right]^2 = \\ &= \left[\sum_{j=1}^K \frac{a_j \cdot (a_j + b_j + c_j + d_j) - (a_j + c_j)(a_j + b_j)}{a_j + b_j + c_j + d_j} \right]^2 = \left[\sum_{j=1}^K \frac{a_j d_j - b_j c_j}{n_j} \right]^2 \end{aligned}$$

If there is no effect of the exposure, the expected value of OR_j will tend to 1 in each stratum and, as a consequence, expected values of $a_j d_j$ will be equal to $b_j c_j$, χ_{MH}^2 will tend to 0, and OR_{MH} will tend to 1.

Many equations have been proposed to estimate the variance of OR_{MH} (2, 3 12). A consistent and unbiased method was illustrated by Robins et al (12) (see also Silcocks (14) for a formal demonstration):

$$(5) \quad \widehat{Var} \left[\ln(\widehat{OR}_{MH}) \right] \cong \frac{\sum_{j=1}^K \frac{a_j d_j}{n_j} \cdot \frac{a_j + d_j}{n_j}}{2 \left(\sum_{j=1}^K \frac{a_j d_j}{n_j} \right)^2} + \frac{\sum_{j=1}^K \left(\frac{b_j c_j}{n_j} \cdot \frac{a_j + d_j}{n_j} + \frac{b_j + c_j}{n_j} \cdot \frac{a_j d_j}{n_j} \right)}{2 \left(\sum_{j=1}^K \frac{a_j d_j}{n_j} \right) \left(\sum_{j=1}^K \frac{b_j c_j}{n_j} \right)} + \frac{\sum_{j=1}^K \frac{b_j c_j}{n_j} \cdot \frac{b_j + c_j}{n_j}}{2 \left(\sum_{j=1}^K \frac{b_j c_j}{n_j} \right)^2}$$

Because OR_{MH} is a RR estimator, a log normal distribution may be assumed under the null hypothesis (10). Accordingly, confidence intervals of OR_{MH} at a selected α value may be obtained from the following equation:

$$(6) \quad \widehat{OR}_{MH} \exp \left(\pm z_{\alpha/2} \sqrt{\widehat{Var} \left[\log(\widehat{OR}_{MH}) \right]} \right)$$

More details and a numerical example have been provided elsewhere (11).

Table 1 – Hypothetical data from a case-control study, stratified according to the levels of one confounder (e.g., age classes).

Stratum (confounder levels)	Exposure	Cases	Controls	Total
1	Exposed	a ₁	b ₁	n ₁₁
	Unexposed	c ₁	d ₁	n ₀₁
	Total	m ₁₁	m ₀₁	n ₁
...
...
...
j	Exposed	a _j	b _j	n _{1j}
	Unexposed	c _j	d _j	n _{0j}
	Total	m _{1j}	m _{0j}	n _j
...
...
...
K	Exposed	a _K	b _K	n _{1K}
	Unexposed	c _K	d _K	n _{0K}
	Total	m _{1K}	m _{0K}	n _K

In many case-control studies, confounding may be controlled by selecting control subjects on the basis of the main characteristics (i.e., the distribution of main confounders) of each case. Such a method is known as “matching” (2, 11). In a matched case-control study with a ratio 1:1 between cases and controls, results may be resumed as shown in Table 2.

An estimate of OR (Maximum Likelihood Estimate) may be obtained by the following equation (2):

(7)

$$\hat{OR} = \frac{B}{C}$$

Table 2 – Hypothetical data from a matched case-control study, with a matching ratio 1:1.

	Exposed Controls	Unexposed Controls	Total
Exposed Cases	A	B	A+B
Unexposed Cases	C	D	C+D
Total	A+C	B+D	A+B+C+D

It is easy to show that equation (7), which represents the Maximum Likelihood Estimate of OR in a matched study, is equivalent to OR_{MH}. In fact, data in Table 2 may also be summarized in a table stratified by each case (Table 3).

Let consider that a_jd_j=0 for all strata in Table 3, except for the n=B strata like that corresponding to ID=2. Moreover, let consider that b_jc_j=0 for all strata except for the n=C strata like that corresponding to ID=3. Applying equation (3) to the data in Table 3, the following estimate of OR_{MH} is obtained, which corresponds to the MLE estimate reported in equation (7):

$$\hat{OR}_{MH} = \frac{\sum_{j=1}^K \frac{a_j d_j}{n_j}}{\sum_{j=1}^K \frac{b_j c_j}{n_j}} = \frac{B}{C}$$

Finally, the null hypothesis: $OR_{MH}=1$ may be tested by the Mc Nemar chi squared test (χ^2_{MN}) (2)

χ^2_{MN} is a Score test and then it may be considered as a MH test.

$$\chi^2_{MN} = \frac{(B - C)^2}{B + C}$$

Table 3 – Hypothetical data from a matched case-control study, with a matching ratio 1:1, stratified by each case. ID identifies each case in the data set.

ID	Type of case	Exposure	N. of Cases	N. of Controls
1	<i>Exposed case matched with an exposed control</i>	<i>Exposed</i>	1	1
		<i>Unexposed</i>	0	0
2	<i>Exposed case matched with an unexposed control</i>	<i>Exposed</i>	1	0
		<i>Unexposed</i>	0	1
3	<i>Unexposed case matched with an exposed control</i>	<i>Exposed</i>	0	1
		<i>Unexposed</i>	1	0
4	<i>Unexposed case matched with an unexposed control</i>	<i>Exposed</i>	0	0
		<i>Unexposed</i>	1	1
...	...	<i>Exposed</i>
		<i>Unexposed</i>
j	...	<i>Exposed</i>	a _j	b _j
		<i>Unexposed</i>	c _j	d _j
...	...	<i>Exposed</i>
		<i>Unexposed</i>

APPLICATION OF THE MH METHOD IN THE COHORT STUDY

Cohort (or follow-up) study is considered as the most important investigation in observational Epidemiology (6, 10). In many cases, a group of healthy people (the “cohort”) is identified and split into (at least) two categories or sub-cohorts, on

the basis of the presence of one or more specific exposures. The two sub-cohorts are followed up for a time period and the occurrence of the outcome of interest (e.g., the incidence of one or more disease) is observed. A measure of the impact of the disease in each sub-cohort may be obtained estimating the corresponding rate λ (3, 6, 10):

$$\hat{\lambda} = \frac{n}{m}$$

where n represents the number of observed events and m is the sum of the follow up time, often expressed in years, for each subject in the sub cohort (person-years at risk). Considering the shorter life of livestock or pet animals, in veterinary epidemiologic studies the follow up time is often expressed on a narrower scale, i.e., animal-months at risk, etc. The association between the exposure under study and the outcome may be estimated by the ratio between the rates in the exposed and unexposed sub-cohorts. For rare diseases, such a measure (rate ratio) is an unbiased estimate of RR (6, 10).

In a cohort study, in the presence of one or more confounders, data may be resumed as in Table 4.

The association between the exposure and the incidence of the disease under study, adjusted for the effect of the confounder, may be obtained by the Mantel-Haenszel rate ratio (RR_{MH}), which is estimated by the following equation (13):

(8)

$$\hat{RR}_{MH} = \frac{\sum_{j=1}^K \frac{n_{E,j} \cdot m_{NE,j}}{m_j}}{\sum_{j=1}^K \frac{n_{NE,j} \cdot m_{E,j}}{m_j}}$$

The null hypothesis: $RR_{MH}=1$ may be tested by the following chi squared test, which is obtained by the same method (Score test) used for equation (4), under the assumption of a conditional binomial distribution for the events $n_{E,j}$ in Table 4:

(9)

$$\chi^2_{MH} = \frac{\sum_{j=1}^K n_{E,j} - \hat{E}\left(\sum_{j=1}^K n_{E,j}\right)}{\sum_{j=1}^K \hat{V}\hat{a}r(n_{E,j})}$$

where:

$$\sum_{j=1}^K \hat{E}(n_{E,j}) = \sum_{j=1}^K \frac{m_{E,j}}{m_j} n_j$$

and:

$$\sum_{j=1}^K \hat{V}ar(n_{E,j}) = \sum_{j=1}^K \frac{m_{E,j} \cdot m_{NE,j}}{m_j^2} n_j$$

Table 4 – Hypothetical data from a cohort study, stratified according to the levels of one confounder (e.g., age classes). PY=Person years at risk.

Stratum (confounder levels)	Exposure	Cases	PY
1	Exposed	$n_{E,1}$	$m_{E,1}$
	Unexposed	$n_{NE,1}$	$m_{NE,1}$
	Total	n_1	m_1
...
...
...
j	Exposed	$n_{E,j}$	$m_{E,j}$
	Unexposed	$n_{NE,j}$	$m_{NE,j}$
	Total	n_j	m_j
...
...
...
K	Exposed	$n_{E,K}$	$m_{E,K}$
	Unexposed	$n_{NE,K}$	$m_{NE,K}$
	Total	n_K	m_K

As in a case-control study, also for RR_{MH} a log-normal distribution may be assumed near the null hypothesis. Accordingly, the following equation, similar to equation (6), provides an estimate of the confidence interval of RR_{MH} at a selected α level:

(10)

$$\hat{R}R_{MH} \exp\left(\pm Z_{\alpha/2} \sqrt{\hat{V}ar\left[\log\left(\hat{R}R_{MH}\right)\right]}\right)$$

A consistent estimate of the variance of $\log(RR_{MH})$ may be obtained by the following formula (5):

(11)

$$\hat{V}ar\left[\log\left(\hat{R}R_{MH}\right)\right] \cong \frac{\sum_{j=1}^K \frac{m_{E,j} \cdot m_{NE,j}}{m_j^2} n_j}{\left(\sum_{j=1}^K \frac{m_{NE,j} \cdot n_{E,j}}{m_j}\right) \left(\sum_{j=1}^K \frac{m_{E,j} \cdot n_{NE,j}}{m_j}\right)}$$

Table 5 shows an example of a hypothetical cohort study with a putative confounder at two levels (e.g., gender).

Table 5. Example of a cohort study with a two-level putative confounder.

a) Whole cohort		b) Stratum 1 (e.g., Males)		c) Stratum 2 (e.g., Females)				
	n	PY		n	PY		n	PY
Exposed	108	448,701	Exposed	30	32,178	Exposed	78	416,523
Unexposed	51	210,626	Unexposed	44	117,021	Unexposed	7	93,605

The RR estimate for the whole cohort is:

$$\hat{RR}_w = \frac{108}{448701} / \frac{51}{210626} = 0.99$$

The RR estimates for the two strata are, respectively:

$$\hat{RR}_1 = \frac{30}{32178} / \frac{44}{117021} = 2.48$$

and

$$\hat{RR}_2 = \frac{78}{416523} / \frac{7}{93605} = 2.50$$

The RR estimates for the two strata are very similar, but they clearly differ from the RR estimate for the whole cohort, pointing out the presence of a strong confounding effect.

A common estimate of RR may be obtained by applying equation (8):

$$\hat{RR}_{MH} = \frac{\frac{30 \cdot 117021}{149199} + \frac{78 \cdot 93605}{510128}}{\frac{44 \cdot 32178}{149199} + \frac{7 \cdot 416523}{510128}} = 2.49$$

Its statistical significance, under the null hypothesis of no association between exposure and risk of developing the disease under study (i.e., $H_0: RR_{MH}=1$), may be obtained by applying equation (9):

$$X_{MH}^2 = \frac{\left(30 + 78 - \frac{32178}{149199} \cdot 74 - \frac{416523}{510128} \cdot 85 \right)^2}{\frac{117021 \cdot 32178}{149199^2} \cdot 74 + \frac{93605 \cdot 416523}{510128^2} \cdot 85} = 20.29$$

Such a value exceeds the conventional critical value for $\alpha=0.05$ ($\chi^2_c=3.84$), then the null hypothesis is rejected and the association may be considered as statisti-

cal significant.

Finally, the confidence interval of RR_{MH} may be obtained according to equation (10) and equation (11):

$$Var[\log(\hat{RR}_{MH})] \cong \frac{\frac{117021 \cdot 32178}{149199^2} \cdot 74 + \frac{93605 \cdot 416523}{510128^2} \cdot 85}{\left(\frac{117021}{149199} \cdot 30 + \frac{93605}{510128} \cdot 78\right) \left(\frac{32178}{149199} \cdot 44 + \frac{416523}{510128} \cdot 7\right)} = 0.0439$$

95%CI (RR_{MH}):

$$2.49 \cdot e^{(\pm 1.96 \cdot \sqrt{0.0439})} = [1.65; 3.75]$$

APPLICATION OF THE MH METHOD IN SURVIVAL ANALYSIS

The MH method has been largely applied for the comparison of survival curves, where it is commonly known as the log-rank test or the Mantel-Cox test.

Results from a simple survival analysis may be resumed as in Table 6, where the observed events (i.e., the number of deaths) are stratified by the follow up time intervals and by the presence of a hypothetical treatment.

Table 6 – Hypothetical data from a survival analysis comparing two groups of subjects (e.g., treated and untreated). Events are stratified according to the observed intervals of the follow up time.

Follow-up time (t)	Groups under studies	At risk (live at t)	Dead at t	Total subjects at t
1	Treated	$m_{1,1}$	$n_{1,1}$	$Tot_{1,1}$
	Untreated	$m_{2,1}$	$n_{2,1}$	$Tot_{2,1}$
	Total	m_1	n_1	Tot_1
...
...
...
j	Treated	$m_{1,j}$	$n_{1,j}$	$Tot_{1,j}$
	Untreated	$m_{2,j}$	$n_{2,j}$	$Tot_{2,j}$
	Total	m_j	n_j	Tot_j
...
...
...
K	Treated	$m_{1,K}$	$n_{1,K}$	$Tot_{1,K}$
	Untreated	$m_{2,K}$	$n_{2,K}$	$Tot_{2,K}$
	Total	m_K	n_K	Tot_K

Please note the analogy with Table 4, where data were stratified accordingly to the levels of a confounder and a hypothetical exposure. Under the hypothesis of a conditional hypergeometric distribution for the counts $n_{j,E}$, a MH test may be obtained as follows (Mantel, 1966):

(12)

$$\chi^2_{MH} = \frac{\left[\sum_{j=1}^K n_{1,j} - \hat{E} \left(\sum_{j=1}^K n_{1,j} \right) \right]^2}{\sum_{j=1}^K \hat{V}ar(n_{1,j})}$$

where:

$$\sum_{j=1}^K \hat{E}(n_{1,j}) = \sum_{j=1}^K \frac{Tot_{1,j}}{Tot_j} n_j$$

and:

$$\sum_{j=1}^K \hat{V}ar(n_{1,j}) = \sum_{j=1}^K \frac{Tot_{1,j} Tot_{2,j} n_j m_j}{Tot_j^2 (Tot_j - 1)}$$

which, in the case of only 1 observed event for each not censored time interval (e.g., in the Kaplan-Meier survival tables), is equal to the variance of a binomial variable (Grassi, 1994):

$$\sum_{j=1}^K \hat{V}ar(n_{1,j}) = \sum_{j=1}^K n_j \frac{Tot_{1,j} Tot_{2,j}}{Tot_j^2}$$

In this context, the MH test is equivalent to the Cox score test to compare two survival distributions under the assumption of proportional risks (Cox, 1972).

In epidemiological literature, some alternative equations exist to obtain the comparison between survival curves in a univariable analysis. For example, a log-rank test may be obtained by a “Pearson’s chi squared-like” procedure, i.e., estimating the variance of each observed event by its expected value (see, for example, Bland and Altman, 2004) (1). Probably this is the reason why some authors consider the log-rank test and the MH test as two different procedures.

An estimate of relative risk between treated and untreated subjects may be obtained via the Hazard Ratio, which may be still estimated by the MH procedure (Grassi, 1994):

(13)

$$\hat{HR}_{MH} = \frac{\sum_{j=1}^K n_{1,j} \cdot m_{2,j} / Tot_j}{\sum_{j=1}^K n_{2,j} \cdot m_{1,j} / Tot_j}$$

When only 1 event is observed for each follow up time j , like in the survival analysis by the Kaplan Meier method (1), equation (13) may be replaced by the following simple formula (4):

(14)

$$\hat{HR}_{MH} = \frac{\sum_{(1)} E_{2,j}}{\sum_{(2)} E_{1,j}}$$

where $\sum_{(1)}$ indicates the sum of expected deaths in the group 2 corresponding to the observed deaths in the group 1, while $\sum_{(2)}$ indicates the sum of expected deaths in the group 1 corresponding to the observed deaths in the group 2.

An approximated estimate of the variance of $\log(HR_{MH})$ may be obtained from the following formula, which is valid for Kaplan-Meier survival tables (4):

(15)

$$Var \left[\log \left(\hat{HR}_{MH} \right) \right] \cong \frac{\sum E_{1,j} \cdot E_{2,j}}{\left(\sum_{(1)} E_{2,j} \right) \cdot \left(\sum_{(2)} E_{1,j} \right)}$$

Confidence interval for HR_{MH} may be estimated applying the asymptotic normal assumption for the Hazard Ratio under the null hypothesis of similar risks between the two groups under study, similarly to the procedure previously illustrated for case-control (equation 6) and cohort (equation 10) studies:

(16)

$$\hat{HR}_{MH} \exp \left(\pm z_{\alpha/2} \sqrt{Var \left[\log \left(\hat{HR}_{MH} \right) \right]} \right)$$

When applied to an open cohort, i.e. in the presence of censored data, the MH procedure provides an unbiased estimate of the Hazard Ratio only under the assumption of a “not informative” censoring process, which means that the risk for the subjects lost to follow-up (corresponding to the censored times) is assumed to be similar to that of the remaining subjects in the same sub-cohort. Accordingly, the same assumption is also applied to the log-rank test.

Table 7a reports simulated data regarding the survival experience of two groups of 15 patients treated with a standard therapy (group 1) and with a new drug (group 2). Excluding censored follow up time, data may be arranged as in Table 7b, where expected values $E_{2,j}$ and $E_{1,j}$ are computed.

Applying equation (14), HR_{MH} is easily estimated from data in Table 7b:

$$\hat{HR}_{MH} = \frac{\sum_{(1)} E_{2,j}}{\sum_{(2)} E_{1,j}} = \frac{0.5 + 0.517 + 0.520 + 0.522 + 0.6 + 0.611 + 0.643 + 0.700}{0.444 + 0.458 + 0.313} = 3.8$$

(15): An estimate of the variance of $\log(\text{HR}_{\text{MH}})$ is easily obtained from equation

$$\hat{\text{Var}}\left[\log\left(\hat{\text{HR}}_{\text{MH}}\right)\right] \cong \frac{0.5 \cdot 0.5 + 0.483 \cdot 0.517 + 0.444 \cdot 0.556 + \dots + 0.357 \cdot 0.643 + 0.3 \cdot 0.7}{(0.5 + 0.517 + \dots + 643 + 0.700) \cdot (0.444 + 0.458 + 0.313)} = 0.4687$$

and the 95% confidence interval for HR_{MH} may be obtained from equation 15:

$$\left[3.8 \cdot e^{\left(\pm 1.96 \sqrt{0.4687}\right)} \right] \rightarrow [1.0; 14.5]$$

The log-rank test statistic, according to equation (12), is:

$$\chi^2_{\text{MH}} = \frac{[8 - 4.602]^2}{\frac{15 \cdot 15}{30^2} + \frac{14 \cdot 15}{29^2} + \frac{12 \cdot 15}{27^2} + \frac{12 \cdot 13}{25^2} + \frac{11 \cdot 13}{24^2} + \frac{11 \cdot 12}{23^2} + \frac{8 \cdot 12}{20^2} + \frac{7 \cdot 11}{18^2} + \frac{5 \cdot 11}{16^2} + \frac{5 \cdot 9}{14^2} + \frac{3 \cdot 7}{10^2} + \frac{0 \cdot 5}{5^2}} = 4.398$$

which exceeds the critical value of 3.84 for the χ^2 test with 1 degree of freedom at the conventional 0.05 α level, thus indicating that there is a moderate evidence of a difference between the survival probability in the two groups under study ($p < 0.05$) and that the new treatment is more effective than the previous one.

Table 7a. Comparison of survival between two groups of patients (simulated data). Group 1 was treated with a standard pharmacologic treatment, while group 2 was treated with a new drug.

Follow up time (years)	Group 1			Group 2		
	Lost	Death	At Risk	Lost	Death	At Risk
0.118	0	1	15	0	0	15
0.203	0	1	14	0	0	15
0.208	1	0	13	0	0	15
0.879	0	0	12	0	1	15
0.912	0	0	12	1	0	14
1.257	0	1	12	0	0	13
1.509	0	0	11	0	1	13
1.925	0	1	11	0	0	12
2.037	1	0	10	0	0	12
2.541	1	0	9	0	0	12
2.854	0	1	8	0	0	12
2.914	0	0	7	1	0	12
3.321	0	1	7	0	0	11
4.079	1	0	6	0	0	11
4.512	0	0	5	0	1	11
4.772	0	0	5	1	0	10
5.514	0	1	5	0	0	9
5.555	0	0	4	1	0	9
6.001	0	0	4	1	0	8
6.231	1	0	4	0	0	7

³ The p value obtained by a statistical software (Stata for Windows release 9.2) is 0.036.

6.348	0	1	3	0	0	7
6.398	0	0	2	1	0	7
6.404	0	0	2	1	0	6
6.787	1	0	2	0	0	5
6.798	1	0	1	0	0	5
6.821	0	0	0	0	1	5
6.940	0	0	0	1	0	4
7.251	0	0	0	1	0	3
7.310	0	0	0	1	0	2
7.521	0	0	0	1	0	1

Table 7b. Data of Table 7a, after exclusion of censored times. Expected values $E_{1,j}$ and $E_{2,j}$ are computed to obtain MH estimate and log-rank test.

Follow up time (years)	Death	Group 1		Death	Group 2		Total
		At Risk	$E_{1,j}$		At Risk	$E_{2,j}$	
0.118	1	15	0.500	0	15	0.500	30
0.203	1	14	0.483	0	15	0.517	29
0.879	0	12	0.444	1	15	0.556	27
1.257	1	12	0.480	0	13	0.520	25
1.509	0	11	0.458	1	13	0.542	24
1.925	1	11	0.478	0	12	0.522	23
2.854	1	8	0.400	0	12	0.600	20
3.321	1	7	0.389	0	11	0.611	18
4.512	0	5	0.313	1	11	0.688	16
5.514	1	5	0.357	0	9	0.643	14
6.348	1	3	0.300	0	7	0.700	10
6.821	0	0	0.000	1	5	1.000	5
Total	8	-	4.602	4	-	7.399	-

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was partly supported by a grant from the Italian Neuroblastoma Foundation (Fondazione Italiana Neuroblastoma).

REFERENCES

- 1) Bland J.M., Altman DG (2004) The logrank test. *BMJ.* 1;328:1073.
- 2) Breslow N.E., Day N.E. (1980) *Statistical Methods in Cancer Research – Volume 1 – The analysis of case-control studies.* IARC Scientific Publications N. 32, Lyon.
- 3) Clayton D., Hills M. (1993). *Statistical models in Epidemiology.* Oxford University Press, Oxford (UK).
- 4) Grassi M. Combinazione di Tabelle 2x2. In Grassi M. (1994) *Statistica in Medicina – Un approccio basato sull verosimiglianza.* McGraw-Hill Libri Italia srl, Milano, Italy; p.415-455.

- 5) Greenland S., Robins J.M. (1985) Estimation of a common effect parameter from sparse follow-up data. *Biometrics*, 41:55-68.
- 6) Kleinbaum D.G., Kupper L.L., Morgenstern H. (1982) *Epidemiologic research: principles and quantitative methods*. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- 7) Kuritz S.J., Landis J.R., Koch G.G. (1988) A general overview of Mantel-Haenszel methods: applications and recent developments. *Ann Rev Public Health*, 9:123-60.
- 8) Mantel N., Haenszel W. (1959) Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. *J Natl. Cancer Inst.*, 22: 719-748.
- 9) McCullagh P., Nelder J.A. (1989) *Generalized Linear Models*. Chapman and Hall, 2nd edition, New York.
- 10) Parodi S., Bottarelli E. (2004) Introduzione allo studio caso-controllo in Epidemiologia. *Ann. Fac. Med. Vet. Parma*, 24:209-236.
- 11) Parodi S., Bottarelli E. (2005) Controlling for confounding in case-control studies. *Ann. Fac. Med. Vet. Parma*, 25:19-46.
- 12) Robins J., Breslow N., Greenland S. (1986) Estimators of the Mantel-Haenszel variance consistent in both sparse data and large-strata limiting models. *Biometrics*, 42:311-323.
- 13) Rothman K.J., Boice J.D. (1982) *Epidemiologic analysis with a programmable calculator*. Brookline, MA: Epidemiology Resources.
- 14) Silcocks P. (2005) An easy approach to the Robins-Breslow-Greenland variance estimator. *Epidemiologic Perspectives & Innovations*, 2:9.
- 15) Woolf B. (1955) On estimating the relationship between blood group and disease. *Ann. Human Genet.*, 19: 251-253.

SURVEY ON ANIMAL WELFARE AND PROTECTION DURING TRANSPORT IN NORTHERN ITALY

Zanardi Emanuela, Mussini Vanessa, Ghidini Sergio, Conter Mauro, Ianieri Adriana

KEY WORDS: animal transport, welfare, regulations, survey, Italy

ABSTRACT

The issue of humane treatment of food animals has received increased attention worldwide in the last years. Evidence suggests that animal stressing may damage meat quality, and lead to more contamination and cross-contamination with pathogens as it may lead to increased microorganisms shedding. The welfare and health of animals can be substantially affected by transport. The loading and unloading represent a source of stress for animals and the conditions of live animals during transport affect carcass and meat quality traits. The EU legislation on animal welfare during transport has been widely modified in the last three decades to improve the protection of animals during transport. The last EU provision is the Council Regulation (EC) n. 1/2005, adopted since 5th January 2007. The Regulation identifies the chain of all those involved in animal transport and related operations and introduces obligations regarding animal welfare extended to any operator concerned with the transport. The Regulation introduces new and more efficient monitoring tools and much stricter rules for long journeys, including a substantial upgrading of vehicle standards. The aim of this study was to assess the enforcement of the Council Regulation (EC) n. 1/2005 in Northern Italy. The research has been carried out by a survey involving 364 animal trucking enterprises, located in the Emilia Romagna region, which were asked to answer a specific questionnaire drawn up for this study. The results show that the animal trucking enterprises comply in good measure with the new European animal welfare Regulation. Road vehicles for long journeys are equipped with adequate ventilation and temperature monitoring and recording systems, connections to water supply during stops, partitions to separate compartments. Systems such as spraying for hydrating pigs are occasionally missing, in particular in small enterprises. The provisions for loading density are always observed whereas loading and unloading operations last too long. The participation to training courses appears very limited or lacking.

RIASSUNTO

Uno degli aspetti di maggiore interesse nella normativa comunitaria in tema di trasporto degli animali riguarda la loro protezione. Durante il trasporto, soprattutto

Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti
Sezione di Sicurezza degli Alimenti
Università degli Studi di Parma, Via del Taglio 8, 43100 Parma, Italia
Tel. +39 0521 032760; Fax +39 0521 032752; e-mail emanuela.zanardi@unipr.it

su strada, gli animali sono sottoposti ad innumerevoli fattori stressanti che vengono riconosciuti come cause del calo del loro benessere e della loro salute. Tali fattori possono provocare, in alcuni casi, morte degli animali e possono indurre effetti negativi sulla qualità della carcassa e delle carni. Il presente studio aveva lo scopo di valutare le condizioni attuali in materia di trasporto degli animali alla luce della recente entrata in vigore del Regolamento (CE) n. 1/2005 sulla protezione degli animali durante il trasporto e le operazioni correlate. Lo studio è stato svolto attraverso una indagine condotta presso aziende di autotrasporto animale, situate principalmente nel territorio modenese. L'elaborazione statistica dei dati ottenuti dall'indagine ha permesso di verificare in quale misura il settore trasporti si è adeguato alle disposizioni in materia.

INTRODUCTION

The transport of cattle, pigs, sheep and goats occurs on a large scale between European and non European countries. The number of transported livestock in the EU countries is not exactly known. It is estimated that at least 25 million cattle, 7 million calves, 171 million pigs, 75 million sheep and lambs and 9 million goats are transported per year within the EU (1).

During road transport livestock animals are exposed to a variety of potential stressors. Stress is defined as a condition in an animal resulting from the action of one or more stressors that may be of either external or internal origin. Whether a stressor can be considered harmful depends on the way an organism is able to cope with a threatening situation as it regains a state of homeostasis. The current biological view is that severe stress invariably implies poor well-being. However, stress itself may not negatively affect well-being, and the well-being of an individual might be impaired even when signs of stress are not immediately visible. The adjustment to stress induces a broad range of physiological and behavioural changes that allow a rapid adaptation to the change. If such adaptation does not occur and the stressors persist, the physiological changes in the animal might lead to a pathological state in the long run and have deleterious effects on health, well-being, performances and, ultimately, product quality (2).

Direct handling, constraint and novel housing environment during transport are short stressful events for animals (3). In particular, the motion of the lorry, noise, vibration, quickly changing light, temperature and humidity conditions, poor air quality, shortage or lack of water and feed are grouped as physical stressors and are recognised as the reasons of reduced welfare and health of the animals which can decrease product quality and may even cause death. Stress can be measured and monitored in terms of behavioural and physiological alterations that may be indicative for the individual's state of well-being following the transport (4).

For the reasons previously mentioned, any operator involved in the transport, the means of transport and transport practices play a pivotal role in the animal welfare and protection during transport. Tarrant and Grandin (5) reported that 80% of the losses of balance of animals on the means of transport are due to sharp braking and too rapid change of speed. Moreover, the microclimate inside animal transport

road vehicles is a critical factor in the transport practices. Temperature, humidity, air velocity and gas levels are the most relevant elements contributing to the microclimate inside the mean of transport. The Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare of European Commission has published a report on the standards for microclimate inside animal transport vehicles for road journeys of more than eight hours for the bovine, porcine, ovine and caprine species (available at http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scah/out35_en.pdf).

Contradictory results have been shown on the effect of the lairage on animal welfare. The effect of lairage duration depends on factors such as environmental temperature and conditions. A lairage time of less than one hour does not allow for sufficient resting and may negatively impact animal welfare and pork quality (6); the slaughtering just after the unloading seems detrimental on bullock and pig carcass quality (7, 8). However, lairage time of six hours and more may increase carcass damage and stress caused by fighting and prolonged periods without feed (9).

In any case, it is widely accepted that the training for any person handling animals, suitable vehicle equipments and good transport practices as well as research activities focused on the protection of animals from breeding to slaughtering, should be the way to improve animal welfare and to assure the quality of meat products (3).

In the last decades the legislation in force on animal welfare during transport has been modified and widened as such aspects have been considered. The “European Convention for the protection of animals during international transport” (CETS n. 065), signed in Paris in 1968 and in force since 20th February 1971, established the first provisions on animal welfare. From then on, the legislation on this matter evolved to improve the conditions of animal transport both for ethical and commercial reasons. The Council Directive 95/29/CE of 29th June 1995 concerning the protection of animals during transport (10) (accepted in Italy as Legislative Decree of Italian Republic n. 388/98 (11)), is one of the regulations now in force. In 2000 a report from the Commission to the Council and European Parliament on the experience acquired by Member States since the implementation of Council Directive 95/29/CE has been draft based on three sources of information: Member State inspection reports, Food and Veterinary Office inspection reports and complaints from non governmental organisations (available at http://ec.europa.eu/food/animal/welfare/transport/report_it.pdf). According to this report the main findings were as follows: inadequate road vehicles; insufficient ventilation on road vehicles, illegal route plans and non-compliance with travelling time limits, negligence and poor handling of animals, overloading, transport of unfit animals, difficulties in checking the approval of transporters for animal transport. Arising from these findings, the Commission concluded that technical amendments to the Directive were necessary and in particular in relation to route plan, definition of animals unfit for transport, health certificates, ventilation standards for road vehicles and Member State inspection reports. These remedial actions have been implemented in the Council Regulation (CE) n. 1/2005 of 22nd December 2004 on the protection of animals during transport and related operations which is in force since 5th January 2007 (12).

This Regulation is an important reform of the legislation in the subject of

animal transport in Europe. In particular, some obligations regarding the welfare of animals have been extended to any operator involved in the transport of animals that is transporters as well as other categories of operators such as farmers, traders, assembly centres and slaughterhouses (the “keeper”). Moreover, the Regulation has established new tools, such as navigation systems, for appropriate checks on a random or targeted basis by the competent authority, and more severe measures for journeys that exceed 8 hours (long journeys).

The aim of this study was to evaluate the current conditions of animal transport in the light of the recent coming into force of the Council Regulation (CE) n. 1/2005 on the protection of animals during transport and related operations (12). This study has been carried out by a survey among the animal trucking enterprises of Northern Italy.

MATERIALS AND METHODS

Survey

The enterprises of farm animal transport located in the Northern Italy were considered; in particular, the enterprises of Modena province, in Emilia Romagna region, were contemplated.

A list of enterprises having animal transport sanitary approval was provided by Local Health Units and led to the discovery of 364 business names. The term “enterprise” has to be intended in the widest meaning because the list included firms of different style (natural person, one-man business, business with employees, company, cooperative society, transporters association), all of them holder of animal transport sanitary approval.

Every enterprise out of 364 was contacted by phone to be informed and invited to participate to the study. Most of them denied their availability as a participant; however, a small number of enterprises (42) enthusiastically attended to this research. The 42 participants provided to fill a questionnaire designed on purpose for this investigation.

Questionnaire

The questionnaire included 42 questions grouped in 5 different sections: identification of the enterprise, characteristics of the enterprise, transporters, means of transport, transport practices.

Statistical analysis

Descriptive statistics were obtained by using SPSS software, ver. 11.5.1. (SPSS Inc, Chicago, Illinois). Raw data produced from questionnaires to animal transport enterprises were coded in observations and variables. The observations corresponded to the enterprises interviewed; the variables corresponded to the whole of the given answers. The variables were distinguished in continuous and nominal. Average, median, standard deviation, minimum and maximum were calculated on continuous variables whereas frequency and percent of frequency were calculated on nominal variables.

RESULTS

The typology of participating enterprises was quite heterogeneous: they ranged from stock farmers and animal traders, carrying out a limited number of transports per year, to animal trucking enterprises, performing daily transports. However, on the whole the enterprises were quite small, often one-man business or family enterprises. The number of employees was between 1 and 5 in 92.9% of the cases, between 6 and 10 in 4.8% of the cases and more than 10 in the remaining 2.3% of the cases. The number of animal transport road vehicles was also limited: 95.2% of the trucking enterprises had from 1 to 5 vehicles and only 2.4% of them had from 6 to 10.

Two main types of animal trucking enterprise were clearly observed: the first working exclusively within the national territory and the second one working at international level, both European and extra EU; 45.2% of the enterprises performed animal transports only in Italy whereas the remaining 54.8% only between Italy and Member States or third countries. Based on the distance in kilometres of the performed journeys, four classes of enterprises were identified. 38% of the enterprises carried out very long journeys (more than 1000km); 17% long journeys (between 200 and 1000km); 26% middle journeys (between 50 and 200km) and 19% short journeys (lower than 50km) (Figure 1). The enterprises belonging to the first two classes worked at international level whereas those belonging to the other two classes were enterprises operating only within national territory.

The different distance in kilometres of the journey affected the transport route: 64% of the journeys was made by motorway whereas the remaining 36% by national or provincial roads (Figure 2). Based on the collected data, the animal transports were performed during the whole of the year. Concerning the transported animal species, 85.7% of the enterprises was dedicated to cattle and swine transport, 7.1% to horse transport, 4.8% to bird and rabbit transport and the remaining 2.4% to sheep and goat transport.

The majority of the interviewed (66.7%) stated they did not follow training courses on animal welfare and propaedeutic to animal transport approval. The remaining 33.3% attended training courses organised by local health authority or trade associations (Figure 3). All the interviewed declared to be qualified to handle animals in case of emergency.

Concerning animal transport road vehicles, 54.8% of them was equipped with temperature monitoring and recording systems. The ventilation was natural or forced in respectively 26.2% and 2.4% of the vehicles; however, most of the road vehicles (71.4%) was equipped with both ventilation systems (Figure 4). These data show that the majority of the vehicles comply with the additional provisions for long journeys established by Annex I, Chapter VI, article 3.1 and 3.2 of the Council Regulation (CE) n. 1/2005 (12) which provide that ventilation systems may be designed, constructed and maintained in such way that, at any time during the journey, whether the mean of transport is stationary or moving, they are capable of maintaining a range of temperature from 5 to 30°C and must be capable of ensuring even distribution of air and of operating for at least 4 hours, independently of the vehicle engine.

Plastic or plywood insulation systems, able to protect against extreme temperatures, were present in 66.7% of the animal transport road vehicles. Half of the vehicles was equipped with devices allowing the connection to water during stops and 54.8% with watering devices appropriately designed and positioned for the categories of animals to be watered on board the vehicle.

Most of the road vehicles (83%) for swine transport had not hydration systems like water nebulization devices. Appropriate bedding was present in 83.3% of road vehicles. The ramps for loading and unloading were made on steel or aluminium and the surfaces were designed to be not slippery; the road vehicles for horse transport had ramps made on rubber or, in one case, on plastic reinforced by incorporated fibreglass.

92.2% of the vehicles was constructed as to provide access to the animals to allow them to be inspected and cared for, according to Annex I, Chapter II, article 1.1, letter f of the Council Regulation (CE) n. 1/2005 (12).

All the road vehicles more than 7.5 tons total weight were equipped with crono-tachograph, as fixed by law, and half of them of Global Positioning System (GPS). According to Annex I, Chapter VI, article 4.1 of the Council Regulation (CE) n. 1/2005 (12), the means of transport by road must be equipped, as from 1st January 2007 for means of transport for the first time in service and as from 1st January 2009 onwards for all means of transport, with Navigation System allowing for recording and providing information equivalent to those mentioned in the journey log and information concerning opening/closing of the loading flap.

Concerning transport practices, 97.6% of the interviewed stated to respect the maximum loading density provided during animal transport. Severe inconvenience and irritation were expressed by the transporters of animals in relation to unloading times at the slaughterhouses: 64.3% of the transporters stated that animal unloading last more than 120 minutes and in that period of time the animals are forced to stop inside the vehicles.

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

The cattle breeding, mainly bovine and swine, and a large number of slaughterhouses and meat processing plants are the main characteristics of the Padana plain in Northern Italy, a traditionally agricultural area. This is the reason why the research has been focused on the enterprises of farm animal transport located in the Northern Italy.

The most important results of this investigation are related to two main aspects: the training and the adaptation of the means of transport.

Poor welfare is often due to lack of education. The improvement of the training of any person handling animals during loading/unloading and transport has been repeatedly recognised as a need to guarantee a high level of animal welfare (13). This need was confirmed by this study because the participation of transporters to training courses resulted very limited or completely lacking. The lack of qualification in animal handling during transport involves ethical, economical as well as hygienic aspects: insufficient cleaning and disinfection procedures of the means of transport can

negatively affect public health due to the spreading of pathogenic microorganisms.

Technical provisions for the means of transport laid down by the Council Regulation (CE) n. 1/2005 (12) are widely satisfied. A high percentage of animal transport road vehicles was equipped with temperature monitoring and recording systems, natural and forced ventilation appliances, devices allowing the connection to water during stops and watering devices appropriately designed and positioned for the categories of animals to be watered on board the vehicle, adequate bedding, free access to the animals to allow them to be inspected and cared for and appropriate navigation system like Global Positioning System (GPS). However, the lack of insulation systems and hydration devices for swine transport road vehicles are two deficient technical aspects.

This study allowed the collection of data related to animal transport as well as the gathering of experiences and evidences of animal transporters. The major complaints of animal trucking enterprises concerned the inadequacy of many roads and motorways which are not suitably equipped in the case of forced stop like accident, traffic jam, obstruction. Moreover, this induces to overrun the time driving. According to animal transporters the unloading operations in the slaughterhouses or in the place of destination last much more than 2 hours with evident consequences on animal welfare. Moreover, the staging points that may be used for long journey are insufficient, not practical, difficult to find and not appropriate from the hygienic point of view.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the participating businesses and would like to thank the Local Health Unit Officers of Modena for their support.

Figure 1. Percent distribution of animal trucking enterprises based on type of journey: very long (> 1000 km), long (200-1000 km), middle (50-200 km) and short (< 50 km) journeys.

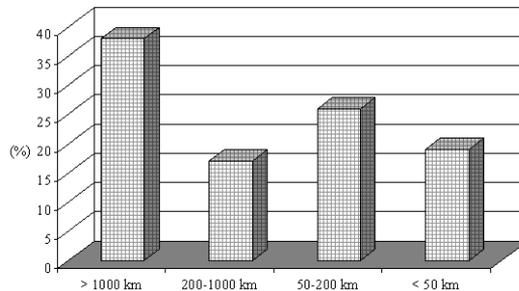


Figure 2. Percent distribution of animal trucking enterprises based on type of road route.

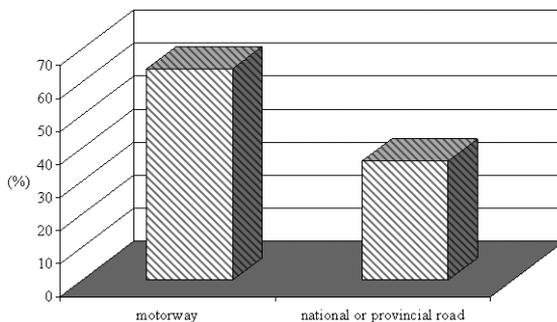


Figure 3. Percent distribution of transporters based on their participation to training courses.

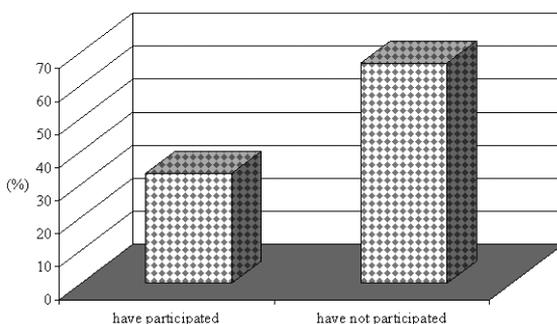
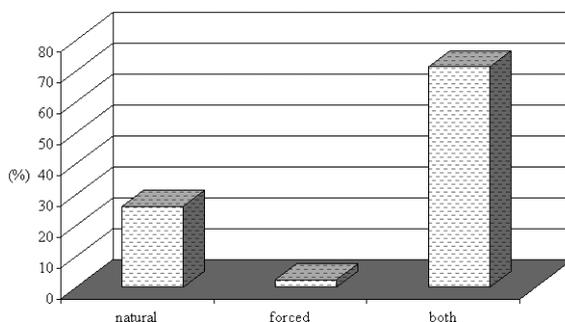


Figure 4. Percent distribution of animal transport road vehicles based on their ventilation system.



BIBLIOGRAFIA

- 1) Nagel R., Hartung J., Böhm R., Degen H. (1994) Umfang von Tiertransporten in Europa: Hygiene und Tierschutz beim tier transport (Hygiene and welfare in animal transportation), Tagung der Fachgruppe Umwelt-und Tierhygiene der

- DVG und AFT, 08-09.03.1994, Hannover, Dtsch. Veterinärmedizinische Ges., Gießen, 1-15.
- 2) von Borell E.H. (2001) The biology of stress and its application to livestock housing and transportation assessment. *J Anim. Sci.*, 79, Suppl. E, E260-E267.
 - 3) Nanni Costa L. (2006) Importanza e conseguenze degli stress acuti: il caso del trasporto e della macellazione. In: *Il benessere degli animali da reddito: quale e come valutarlo*, a cura di Bertoni G., Ed. Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche, Brescia, Italia, 105-115.
 - 4) Knowles, T.G., Warriss P.D. (2000) Stress physiology of animals during transport. In: *Livestock Handling and Transport*, Ed. Gradin T., CABI Publishing, Oxon, UK, 385-407.
 - 5) Tarrant V., Grandin T. (2000) Cattle transport. In: *Livestock Handling and Transport*, 2nd Edition, Ed. Gradin T., CABI Publishing, Wallingford, UK, 151-173.
 - 6) Aaslyng M.D., Gade P.B. (2001) Low stress pre-slaughter handling effect of lairage time on the meat quality of pork. *Meat Sci*, 57, 87-92.
 - 7) Nanni Costa L., Tassone F., Lo Fiego D.P., Russo V. (2005) Study of the relationship between pre-slaughter handling and carcass bruising in calf and bull carcasses. *NJF Seminar n. 361 Transport and handling of animals: a nordic challenge*, Alnarp, Sweden, 21-22 november 2005, 34-40.
 - 8) Russo V., Nanni Costa L., Lo Fiego D.P., Pantano A. (1998) Influence of pre-slaughter resting time on carcass and ham quality in Italian heavy pigs. *Proceedings 44th ICoMST*, Barcelona, Spain, 2, 1062-1064.
 - 9) Warriss P.D. (1998) The welfare of slaughter pigs during transport. *Anim. Welfare*, 7, 365-381.
 - 10) Council Directive 95/29/EC of 29 June 1995 amending Directive 90/628/EEC concerning the protection of animals during transport, *Official Journal of the European Union L 148* of 30 June 1995.
 - 11) Decreto Legislativo 20 ottobre 1998 n. 388, Attuazione della Direttiva 95/29/CE in materia di protezione degli animali durante il trasporto, *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana n. 262* del 9 novembre 1998.
 - 12) Council Regulation (CE) n. 1/2005 del Consiglio of 22 December 2004 on the protection of animals during transport and related operations and amending Directive 64/432/EEC and 93/119/EC and Regulation (EC) n. 1255/97, *Official Journal of the European Union L 3* of 5 January 2005.
 - 13) Credi M. (2005) Il controllo dei trasporti su gomma degli animali da reddito: la formazione, le modalità, l'informazione. *Eurocarni*, 7, 85-91.

WEB SITES

http://ec.europa.eu/food/animal/welfare/transport/report_it.pdf (consulted 22nd October 2007).

http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scah/out35_en.pdf (consulted 14th November 2007).

IL RUOLO DEL SUINO NELL'EPIDEMIOLOGIA DELLA TOSSINFEZIONE ALIMENTARE DA YERSINIA ENTEROCOLITICA

THE ROLE OF PIGS IN THE EPIDEMIOLOGY OF YERSINIA ENTERO- COLITICA FOODBORNE INFECTION

Barbieri Silvia¹, Bonardi Silvia²

Parole chiave: *Y. enterocolitica*, fattori di virulenza, epidemiologia, suino, carne suina

Riassunto

Negli ultimi decenni l'importanza di *Y. enterocolitica*, quale agente di tossinfezioni alimentari, è in costante aumento. Alla specie *Y. enterocolitica* appartengono stipiti caratterizzati da una notevole variabilità negli attributi di virulenza e solo alcuni bio-serotipi sono risultati patogeni per l'uomo e gli animali. Il presente lavoro illustra le caratteristiche dei ceppi patogeni di *Y. enterocolitica* e puntualizza il ruolo della specie suina quale serbatoio naturale di tali microrganismi. La principale fonte d'infezione per l'uomo è, infatti, rappresentata dall'ingestione di alimenti di origine animale, in particolare da carne suina cruda o poco cotta.

Key words: *Y. enterocolitica*, virulence factors, epidemiology, pig, pork meat

Summary

Since the last decades *Y. enterocolitica* foodborne infections have been increasing worldwide. *Y. enterocolitica* species comprises several strains characterised by different virulence properties and, among them, only some bio-serotypes are able to infect humans and animals. In this review the most important features of *Y. enterocolitica* pathogenic strains are described, together with the role of pigs as natural reservoir of the micro-organism. As a matter of fact, human infection is most often acquired by eating contaminated food, particularly raw or undercooked pig meat.

1. Medico Veterinario libero professionista

2. Dipartimento di Salute Animale, Sezione di Ispezione degli alimenti di origine animale, Università di Parma.

Correspondence: Dott. Silvia Barbieri, Via Levi, 9 - 43010 Fontanini - Parma

Tel. 0521-648305 - E-mail address: silvia.ail@libero.it

Introduzione

Al genere *Yersinia* appartengono undici specie, tre delle quali sono patogene per l'uomo e gli animali: *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* e *Y. pestis*. Nei paesi industrializzati, la maggior parte delle infezioni sono sostenute da *Y. enterocolitica*.

Alla specie *Y. enterocolitica* appartiene un'ampia varietà di microrganismi Gram-negativi distribuiti nell'ecosistema acquatico e terrestre, la maggior parte dei quali sono considerati batteri ubiquitari. Solo alcuni stipiti si sono rivelati patogeni per l'uomo, che generalmente contrae l'infezione mediante l'ingestione di acqua e alimenti contaminati, anche se la trasmissione di *Y. enterocolitica* può avvenire anche a seguito di trasfusioni di sangue da donatori infetti.

Gli stipiti patogeni di *Y. enterocolitica* sono dotati di numerosi fattori di virulenza, codificati sia da geni plasmidici, sia da geni a localizzazione cromosomiale, che permettono al batterio di eludere la sorveglianza immunitaria e di diffondere in diversi tessuti dell'ospite. È un batterio enteropatogeno, ma nell'uomo le manifestazioni cliniche dell'infezione sono estremamente eterogenee; variando dall'infezione asintomatica sino alla forma setticemica. Al contrario, negli animali l'infezione da *Y. enterocolitica* ha in genere decorso asintomatico.

L'epidemiologia della yersiniosi umana non è stata ancora del tutto chiarita, in quanto la maggior parte dei casi si manifesta in maniera sporadica e questo rende difficoltoso individuare l'origine dell'infezione. Tuttavia la principale via di trasmissione di *Y. enterocolitica* per l'uomo sembra essere legata al consumo di alimenti, in particolare prodotti a base di carne e latte vaccino. Tale via di infezione è stata ampiamente documentata ed è in costante aumento nel mondo, soprattutto nei paesi in cui viene consumata carne suina. Il suino rappresenta, infatti, l'animale "serbatoio" dal quale più frequentemente vengono isolati stipiti patogeni per l'uomo.

Caratteristiche del microrganismo

Il genere *Yersinia* appartiene alla famiglia delle Enterobacteriaceae, la quale comprende un vastissimo gruppo di batteri correlati dal punto di vista biochimico-metabolico e genetico, ma provvisti di una sostanziale eterogeneità relativamente all'ecologia, allo spettro d'ospite e al potenziale patogeno per l'uomo, i vertebrati domestici e selvatici, gli insetti e le piante (96). *Y. enterocolitica* condivide un'omologia del DNA del 10-30% con gli altri membri della famiglia delle Enterobacteriaceae (68).

Il genere *Yersinia* comprende 11 diverse specie: *Y. enterocolitica* (6, 32), *Y. pseudotuberculosis*, *Y. pestis* (7), *Y. intermedia* (17), *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii* (98), *Y. mollaretii*, *Y. bercovierii* (115), *Y. aldovae* (8), *Y. rhodei* (1) e *Y. ruckeri* (30).

Y. enterocolitica è un batterio Gram-negativo, dotato di spiccato pleomorfismo, potendosi presentare sia in forma bastoncellare che coccobacillare; tale varietà morfologica sembra dipendere dalle caratteristiche del terreno di coltura. Il microrganismo a 25°C ha flagelli distribuiti su tutta la superficie, e tale caratteristica

gli conferisce mobilità, mentre a 37°C si presenta aflagellato e di conseguenza immobile (14). La temperatura ottimale di crescita è compresa tra 28 e 30°C (90), ma essendo un batterio psicrotrofo è in grado di crescere anche a 4°C, a differenza della maggior parte dei batteri enterici.

Y. enterocolitica può crescere in un range di pH compreso tra 4 e 10, con valore ottimale attorno a 7,6 (94) e migliore capacità di sopravvivenza in condizioni alcaline rispetto ad altri batteri Gram-negativi (5). Tollera una concentrazione massima di NaCl del 5% (94, 103) e l'inibizione causata dal NaCl è strettamente legata alla temperatura di crescita: a 2°C una concentrazione di NaCl del 4,5% inibisce completamente la crescita del batterio, ma l'azione è solo parziale a 5°C (78).

La specie è estremamente eterogenea e questo ha permesso di individuare, sulla base di reazioni biochimiche, 6 biotipi di *Y. enterocolitica* (1A, 1B, 2, 3, 4, 5) con diverso significato clinico ed epidemiologico (114).

Al biotipo 1A appartengono ceppi normalmente ritenuti non patogeni, sebbene alcuni di essi siano stati isolati anche da pazienti affetti da gastro-enterite (17). Con molta probabilità si tratta di patogeni opportunisti (14), il cui studio andrebbe approfondito. I restanti biotipi comprendono ceppi patogeni per uomo e animali, in quanto isolati nel corso di manifestazioni gastro-enteriche o loro complicanze. Al biotipo 4 appartengono gli stiptipi di *Y. enterocolitica* ritenuti più virulenti per l'uomo.

Y. enterocolitica può essere ancora suddivisa sulla base delle differenze antigeniche. La sierotipizzazione si basa sull'utilizzo di antisieri allestiti principalmente nei confronti di antigeni somatici (O), più raramente verso antigeni flagellari (H) o fimbriali (K). Dai primi 8 sierogruppi descritti da Winblond (117) la lista è stata molto ampliata, sino agli attuali 76 (116). La maggior parte dei ceppi associati a patologie umane sono compresi nei seguenti bio-sierotipi: 1B/O:8, 2/O:9, 2/O:5,27 e 4/O:3 (14).

Fattori associati alla virulenza di *Y. enterocolitica*

Una caratteristica peculiare di *Y. enterocolitica* è rappresentata dal suo tropismo per il tessuto linfatico. Gli stiptipi patogeni, infatti, sopravvivono e si moltiplicano nelle strutture linfatiche, dove ha inizio la risposta immunitaria verso gli antigeni non-self e dove gli agenti estranei vengono normalmente distrutti. Proprio per questo *Y. enterocolitica* necessita di un'ampia gamma di fattori di virulenza che le permettano di modulare la risposta immunitaria a livello cellulare, interferendo con la fagocitosi, riducendo l'azione ossidativa dei leucociti, distruggendo i fagociti inducendone l'apoptosi e, più in generale, alterando la produzione di citochine pro-infiammatorie (75, 95).

Dal punto di vista molecolare tali fattori di virulenza possono essere espressi da geni a localizzazione plasmidica (50, 99) o cromosomiale (49, 51).

Il plasmide di virulenza è denominato pYV (*plasmid for Yersinia virulence*) (86) e la sua presenza caratterizza gli stiptipi realmente patogeni, vale a dire in grado di infettare l'ospite; al contrario, stiptipi privi del plasmide vengono rapidamente eliminati nei follicoli linfatici intestinali ad opera delle cellule fagocitarie (48).

Accanto ai geni plasmidici, numerosi geni cromosomiali sono stati individuati come indispensabili per l'evoluzione del processo infettivo.

Di seguito vengono elencati i principali fattori di virulenza di *Y. enterocolitica*.

Proteina YadA: il gene plasmidico *yadA* codifica la principale proteina di membrana esterna di *Y. enterocolitica*, denominata YadA (*Yersinia adhesin A*) (24). Si tratta di una proteina di natura fibrillare che ricopre la superficie di batterica (59), espressa a 37°C ma non a 25°C (87). La proteina YadA ha numerose funzioni, promuovendo il legame del batterio a diversi tipi di cellule: cellule epiteliali della mucosa intestinale (59, 70, 82), fagociti (95), infine a numerose proteine della matrice extracellulare, come fibronectina, collagene e laminina, attraverso il legame con il recettore $\beta 1$ integrina, favorendo così la colonizzazione di diversi tessuti (23, 65). Inoltre, la proteina YadA svolge un ruolo protettivo nei confronti del batterio: si deve ad essa, infatti, la resistenza al siero, per l'inibizione del sistema del complemento, sia a livello C3b che C9, con interruzione della reazione a cascata che porterebbe alla lisi batterica (21; 85).

Invasina: rappresenta il fattore invasivo principale di *Y. enterocolitica*. Codificata dal gene cromosomiale *inv*, è rappresentata da una proteina di membrana di 92 kDa denominata "Invasina" (72). Anche questa proteina di membrana si lega alle $\beta 1$ integrine, espresse sulla superficie delle cellule dell'ospite (56), ed in particolare dalle cellule M che rivestono le placche del Peyer (23). Il legame dell'invasina alle cellule M, assieme alla fisiologica attività fagocitaria di queste ultime, promuovono la colonizzazione delle placche del Peyer dalle quali, per via linfo-ematogena, il batterio può raggiungere i vari distretti dell'organismo.

L'espressione del gene *inv* è regolata da segnali ambientali, come temperatura e pH: in vitro *inv* è massivamente espresso a 26°C e a pH neutro, mentre lo è solo debolmente a 37°C e a pH neutro. Se il pH del terreno di crescita viene abbassato ad un valore simile a quello riscontrabile nel piccolo intestino, cioè 6,0, e la temperatura viene mantenuta a 37°C, vi è un aumento dell'espressione del gene *inv* simile a quella riscontrata a 26°C e a pH neutro (83).

Proteina Ail: un altro gene cromosomiale coinvolto nella fase iniziale di colonizzazione e penetrazione dell'intestino è *ail* (*attachement invasion locus*), che codifica una proteina di membrana denominata "Ail". Questo fattore di virulenza viene prodotto a 37°C (74) e, assieme a invasina e YadA, consente al batterio di raggiungere e penetrare le cellule M (44). Sembra che la proteina Ail sia in grado di legarsi ai leucociti circolanti facilitando così la diffusione del batterio ai linfonodi regionali, fegato e milza (55), oltre a coadiuvare i fattori plasmidici nell'aumentare la resistenza all'attività battericida del siero (10). In particolare, Ail agisce proteggendo la membrana esterna del batterio interferendo nella formazione del MAC (*Membrane Attack Complex*), evitandone così l'inserzione sulla superficie batterica e la conseguente lisi (84). Il gene *ail* è presente solo negli stiptipi di *Y. enterocolitica* associati a processi infettivi (73).

Enterotossina: tra i fattori di virulenza si annovera l'enterotossina termostabile "Yst" (*Yersinia stable toxin*), codificata dal gene cromosomico *yst* (28). Questa proteina facilita l'invasione del microrganismo nei tessuti danneggiando l'epitelio

intestinale (54, 90, 91, 92).

Sino ad alcuni anni fa si presumeva che *Y. enterocolitica* sintetizzasse un solo tipo di enterotossina, ma in seguito si è osservato che gli stipti patogeni producono l'enterotossina YstA, mentre gli stipti appartenenti al biotipo 1A, considerato non patogeno, producono le varianti YstB o YstC (71, 90, 100). Yst agisce stimolando la produzione di guanilato-ciclastasi nelle cellule dell'epitelio intestinale, incrementando il livello intracellulare di c-GMP, con conseguente accumulo di fluidi nel lume intestinale. Tuttavia il ruolo della tossina Yst nella patogenesi della diarrea nell'uomo e negli animali è tuttora controverso (93).

Yersiniabactina: alcuni stipti di *Y. enterocolitica* elaborano un sideroforo endogeno, la cosiddetta Yersiniabactina (91), un fattore di virulenza essenziale in grado di captare il ferro presente nei liquidi corporei dell'ospite e, di conseguenza, di favorire la diffusione sistemica del microrganismo. Si tratta di un composto chelante il ferro, che, grazie alla stretta affinità con il metallo, riesce a solubilizzarlo e captarlo dalle proteine dell'ospite, per poi legarlo e trasportarlo all'interno del batterio, dove viene rilasciato ed utilizzato per i diversi processi metabolici (20). Nel genere *Yersinia* il meccanismo di sintesi, trasporto e regolazione del sideroforo è localizzato in un'ampia frazione cromosomiale (46) definita "high pathogenicity island" o HPI (19). Il complesso HPI non è stato riscontrato né negli stipti a bassa patogenicità, né negli stipti avirulenti, ma solo in quelli che appartengono al bio-sierotipo 1B/O:8, gli unici capaci di causare nell'uomo gravi forme sistemiche di yersinosi e pertanto definiti stipti ad "elevata patogenicità" (25).

Lipopolisaccaride: la componente lipopolisaccaridica di membrana (LPS) sembra avere un ruolo nella difesa del batterio inibendo l'azione litica del complemento (110). Più precisamente, è stato dimostrato che l'antigene O agisca in simbiosi con YadA inibendo la via alternativa di attivazione del complemento (9).

Ureasi: l'enzima è codificato dal complesso di geni *ure* a localizzazione cromosomiale (26) e catalizza l'idrolisi dell'urea in una molecola di acido carbonico e due molecole di ammoniaca, favorendo l'innalzamento del pH. L'attività dell'ureasi contribuisce alla virulenza di *Y. enterocolitica*, conferendole acido-tolleranza e permettendo così la sopravvivenza del batterio nell'ambiente acido dello stomaco o all'interno dei fagosomi dei leucociti polimorfonucleati e dei macrofagi (27).

Fosfolipasi A: il fattore di virulenza chiamato "Yp1A" (*Yersinia phospholipase A*) è codificato dal gene *yplA* (99). La fosfolipasi A interviene nella patogenesi dell'infezione promuovendo la diffusione batterica a livello delle placche del Peyer, distruggendo la membrana citoplasmatica delle cellule dell'ospite; alcuni ricercatori ipotizzano che agisca anche stimolando la crescita batterica procurando nutrimento, sottoforma di acidi grassi essenziali per la biosintesi e il metabolismo batterico (99). La fosfolipasi A viene normalmente espressa a 26°C e secreta a livello extracellulare dal sistema di secrezione flagellare (120).

Sistemi di secrezione del III tipo: molti batteri Gram-negativi possiedono i meccanismi di secrezione necessari per liberare, a livello extracellulare, numerose proteine essenziali per la virulenza (52). Il trasporto di macromolecole attraverso le membrane biologiche può avvenire tramite il cosiddetto "sistema di secrezione del III tipo" o TTSS (Type-Three Secretion System), strutturalmente costituito da una

base, una porzione a forma di ago e un apparato di traslocazione che permette lo spostamento polarizzato di molecole proteiche. Le proteine secrete dal TTSS hanno diverse funzioni: azione citotossica, emolitica, proteolitica, fosfatase e defosfatase (118).

Y. enterocolitica possiede tre differenti sistemi di secrezione del III tipo, ognuno dei quali entra in funzione in condizioni diverse, facendo supporre che ogni TTSS sia necessario per secernere un distinto gruppo di proteine che intervengono in diverse fasi dell'infezione (119).

Nel genere *Yersinia* il TTSS maggiormente studiato è codificato dal gene *ysc*, localizzato nel plasmide pYV. È definito "Ysc TTSS" (*Yersinia secretion-TTSS*) e secerne numerose proteine chiamate Yops (*Yersinia outer proteins*), che agiscono prevalentemente interferendo con la risposta immunitaria dell'ospite (55).

Il secondo sistema di secrezione viene codificato dal locus *ysa* a localizzazione cromosomiale (47). "Ysa TTSS" (*Yersinia secretion apparatus - TTSS*) è responsabile della traslocazione di proteine definite Ysps (*Yersinia secreted proteins*), recentemente ritenute corresponsabili nel processo di colonizzazione del tratto gastrointestinale (115) e proprie solo degli stipiti ad alta patogenicità, appartenenti al biotipo 1B (31).

Il terzo sistema di secrezione, l'apparato di secrezione flagellare (Flagellum Transport Machinery), è indispensabile per la sintesi dei flagelli batterici; agisce trasportando, dal citoplasma alla superficie cellulare, le subunità proteiche che andranno a costituire l'organo di movimento (69). Oltre alla biosintesi flagellare, questo sistema secerne diverse proteine associate alla virulenza di *Y. enterocolitica*, definite Fops (*flagellar outer proteins*) (118).

Il suino: fonte d'infezione per l'uomo

Y. enterocolitica è un importante agente di zoonosi e, come tale, citato dalla Direttiva 2003/99 CE ("Misure di sorveglianza delle zoonosi e degli agenti zoonotici"), recepita in Italia con il Decreto Legislativo 2006/191. Anche se la maggior parte dei casi di yersiniosi umana si manifesta in maniera sporadica, rendendo difficoltoso individuare l'origine dell'infezione, la via di trasmissione principale per l'uomo sembra essere quella alimentare.

Il suino rappresenta l'animale "serbatoio" dal quale più frequentemente vengono isolati stipiti patogeni per l'uomo (15). Quanto affermato viene confermato dalla maggiore prevalenza di casi di yersiniosi, sia sporadici che epidemici, nelle aree dove l'allevamento del suino, ed il consumo di prodotti a base di carne suina, sono più diffusi: Europa (105) e America del nord (61, 65).

Il legame tra l'animale serbatoio e l'infezione umana è principalmente dovuto all'ingestione di carne suina cruda o poco cotta (15, 37, 38, 43, 58, 88). Nel suino gli stipiti di *Y. enterocolitica* capaci di infettare l'uomo vengono isolati prevalentemente a livello tonsillare (76), nel contenuto intestinale e nei linfonodi ileo-cecali (79, 107). Tra le parti edibili, *Y. enterocolitica* viene isolata soprattutto dalla lingua e dalle frattaglie e, solo raramente, dalle carni (34). Il bio-serotipo patogeno 4/O:3 è lo stipite più frequentemente isolato dalla popolazione suina a livello mondiale (2) ed è

stato riscontrato anche in suini allevati e macellati in Italia (12). Nel suino l'infezione prende origine dalla contaminazione dei locali di allevamento, nei quali il batterio può sopravvivere circa tre settimane (96), e la trasmissione fra i suini si realizza probabilmente per contaminazione fecale sia degli stessi locali, sia dell'acqua e dei mangimi. La malattia in forma clinica conclamata, sebbene rara, si manifesta prevalentemente nei soggetti giovani (53, 121) nei quali è caratterizzata da anoressia, diarrea emorragica, edema delle palpebre, della testa e delle parti declivi del corpo (96).

La prevalenza di soggetti portatori di *Y. enterocolitica* negli allevamenti suini è estremamente variabile, anche nell'ambito dello stesso paese. I controlli in allevamento vengono effettuati soprattutto nei paesi del nord Europa (Danimarca, Finlandia, Norvegia), dove è maggiore l'attenzione sanitaria nei confronti del batterio quale agente di tossinfezioni alimentari (3, 4, 67). Da un'indagine svolta in Norvegia si è osservato che la prevalenza di capi infetti si può mettere in relazione al tipo di allevamento. L'86% degli allevamenti a ciclo aperto, a causa della continua introduzione di nuovi animali, presentava capi positivi per *Y. enterocolitica* O:3, contro il 53,1% delle aziende dove veniva praticato il sistema a ciclo chiuso (101). Inoltre la prevalenza dell'infezione sembra variare in base alle differenti fasi produttive: la maggior parte degli isolamenti viene effettuata dal suino pesante (16, 45, 62), forse come conseguenza degli spostamenti in diversi box o recinti, contaminati da materiale fecale, durante le varie fasi dell'accrescimento (40).

La rilevante presenza di portatori asintomatici, sommata all'ampia diffusione ambientale del microrganismo, attualmente non lascia intravedere una facile soluzione per ridurre il numero di suini portatori all'interno delle singole aziende (76). Di conseguenza, in sede di macellazione, *Y. enterocolitica* si isola frequentemente dal suino (41) ed in particolare, in Europa, si riscontra con elevata frequenza il biosierotipo patogeno 4/O:3 (94), a sostegno dell'importanza epidemiologica che riveste il suino nei casi di infezione umana (63).

I suini sono particolarmente vulnerabili nelle ore immediatamente precedenti la macellazione, in quanto, nelle stalle di sosta, lo stress, il sovraffollamento, la fame e la successiva coprofagia faciliterebbero l'infezione. È stato infatti dimostrato sperimentalmente che *Y. enterocolitica* può essere isolata a livello tonsillare già trenta minuti dopo l'inoculazione per via orale (107).

Dato che il suino alberga il batterio soprattutto a livello di tonsille palatine, considerate la vera nicchia ecologica di *Y. enterocolitica* (97, 112), e in misura minore nel contenuto intestinale, le tonsille rappresentano la principale fonte di contaminazione per le carcasse (12, 13, 33, 36, 44, 63, 81, 107). Le fasi critiche del processo di macellazione per la diffusione di *Y. enterocolitica* sono rappresentate dall'eviscerazione, escissione della lingua e delle tonsille, incisione dei linfonodi mandibolari e disossamento della testa (57).

Quando le tonsille palatine non vengono completamente rimosse dalla cavità faringea, per errata o frettolosa manualità da parte degli operatori, *Y. enterocolitica* può contaminare i tessuti muscolari limitrofi o le attrezzature utilizzate durante le

operazioni di sezionamento (13). Nel caso in cui le tonsille vengano asportate dalla carcassa unitamente alle frattaglie, che comprendono lingua, esofago, polmoni, cuore, diaframma, fegato e reni, può verificarsi la contaminazione di queste ultime (33).

Come è noto, la corretta incisione circumanale del retto e l'adeguata rimozione del tratto intestinale possono prevenire la contaminazione delle carni da parte di microrganismi presenti nel tubo gastro-enterico (80). La diffusione di *Y. enterocolitica* alla superficie della carcassa può essere considerevolmente ridotta mediante la chiusura del retto e dell'ano prima dell'asportazione dell'intestino, utilizzando un'apposita "plastic bag" (3, 77). Nei paesi in cui questo metodo viene già utilizzato, quali Danimarca, Norvegia e Svezia, si è osservata una riduzione dell'incidenza di yersiniosi umana. In ogni caso, al fine di ridurre al minimo i rischi per la salute pubblica, vanno adottate misure preventive durante l'intero processo di macellazione, basate principalmente sull'attuazione delle cosiddette GMP (Good Hygienic Practices) (102).

Tra i prodotti di origine suina più a rischio si annoverano la lingua, le carni macinate ottenute da muscoli della testa, in cui possono essere presenti frammenti linfonodali della regione cranio-facciale (3, 36, 106), le salsiccie fresche (11) e le frattaglie edibili (fegato, cuore), che vengono raccolte in bacinelle unitamente alle tonsille (33).

Il piccolo intestino, utilizzato in alcuni paesi degli Stati Uniti meridionali per la preparazione di un tipico piatto natalizio chiamato "chitterlings", si è reso responsabile di diverse epidemie di yersiniosi presso le comunità che ne fanno uso (58, 64, 104). La pericolosità dell'intestino di suino è dovuta alla localizzazione di *Y. enterocolitica* nel tessuto linfoide della mucosa.

Diverse indagini svolte presso punti vendita al dettaglio (42, 105) hanno dimostrato che *Y. enterocolitica* sierogruppo O:3 viene rinvenuta prevalentemente dalla lingua e dalle frattaglie (102, 111), e solo raramente dalle carni suine. Il batterio è stato isolato soprattutto dai prodotti carnei commercializzati in piccole macellerie a conduzione familiare, piuttosto che da macellerie annesse alle grandi catene di distribuzione, forse per il sovrannumero di carcasse da stoccare, unitamente alle frattaglie, in celle frigorifere di modeste dimensioni (22). Nei punti vendita è quindi importante evitare il contatto tra carcasse e frattaglie, che devono essere maneggiate e conservate separatamente, ed è inoltre fondamentale osservare le buone pratiche di lavorazione (Good Manufacturing Practices, GMP) per limitare il rischio di contaminazione crociata tra le attrezzature, le carni e il personale addetto (39).

Conclusioni

Le infezioni di origine alimentare rappresentano un importante problema di sanità pubblica, la maggior parte dei patogeni responsabili di tossinfezioni alimentari ha origine zoonotica. Negli ultimi decenni, come è noto, sono intervenute profonde modificazioni sia nella filiera produttiva e nella distribuzione dei prodotti di origine animale, sia, come conseguenza, nell'epidemiologia delle malattie infettive di origine alimentare.

Negli ultimi due decenni si è registrato un aumento nell'incidenza della yersiniosi in diversi paesi, probabilmente in relazione alla crescente diffusione dell'allevamento intensivo ed ai sistemi di produzione ad esso correlati. A livello europeo, sulla base dei dati raccolti dall'EFSA nell'anno 2005, si evince che la yersiniosi si colloca al terzo posto tra le zoonosi più frequentemente notificate (2,6 casi/100.000 abitanti), dopo la campilobatteriosi (51,7/100.000) e la salmonellosi (38,1/100.000) (29).

In linea generale l'identificazione delle modalità di infezione dei serbatoi animali e di contaminazione della filiera alimentare rappresentano un punto chiave per impostare adeguate strategie di prevenzione. In particolare, il suino appare l'animale più importante dal punto di vista epidemiologico, fungendo da portatore faringeo e intestinale di stipiti patogeni per l'uomo. Tuttavia, a discapito dei numerosi studi che sottolineano il ruolo del suino nell'epidemiologia della yersiniosi umana, molto deve essere ancora fatto per accertare il ruolo di altre specie animali, quali bovini e ovicapri, e dei loro prodotti derivati.

Bibliografia

- 1) Aleksić S., Steigerwalt A., Bockemühl J., Huntley-Carter G. P., Brenner D. J. (1987). *Yersinia rhodei* sp. nov. isolated from human and dog feces and surface water. Int. J. Syst. Bacteriol. 37, 327-332.
- 2) Aleksić S., Bockemühl J. (1990). Microbiology and epidemiology of *Yersinia* infections. Immun. Infekt. 18, 178-185.
- 3) Andersen J. K., Sørensen R., Glensbjerg M. (1991). Aspects of the epidemiology of *Yersinia enterocolitica*: a review. Int. J. Food Microbiol. 13, 231-237.
- 4) Asplund K., Tuovinen V., Veijalainen P., Hirn J. (1990). The prevalence of *Yersinia enterocolitica* O:3 in Finnish pigs and pork. Acta Vet. Scand. 31, 39-43.
- 5) Aulisio C. C., Mehlman I. J., Sanders A. C. (1980). Alkali method for rapid recovery of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* from foods. Appl. Environ. Microbiol. 39, 135-140.
- 6) Bercovier H., Brenner D. J., Ursing J., Steigerwalt A. G., Fanning G. R., Alonso J. M., Carter G. P., Mollaret H. H. (1980). Characterisation of *Yersinia enterocolitica* sensu stricto. Curr. Microbiol. 4, 201-206.
- 7) Bercovier H., Mollaret H. H. (1984). Genus XIV. *Yersinia*. In: Krieg, N. R. (Ed.). Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 1. Williams and Wilkins Company, pp. 498- 506.
- 8) Bercovier H., Steigerwald A. G., Guiyoule A., Huntley-Carter G., Brenner D. J. (1984). *Yersinia aldovae* (formerly *Yersinia enterocolitica*-like group X2) a new species of *Enterobacteriaceae* isolated from aquatic ecosystems. Int. J. Syst. Bacteriol. 34, 166-172.
- 9) Biedzka-Sarek M., Venho R., Skurnik M. (2005). Role of YadA, Ail, and Lipopolysaccharide in Serum Resistance of *Yersinia enterocolitica* Serotype O:3. Infect. Immun. 2232-2244.
- 10) Bliska J. B., Falkow S. (1992). Bacterial resistance to complement killing

- mediated by the Ail protein of *Yersinia enterocolitica*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 89:3561–3565.
- 11) Bonardi S., Brindani F., Pizzin G., Bacci C., Cenci. A., D’Incau M., Liebana E. (2002). Rischio microbiologico associato alla produzione di salsicce suine: risultati di un’indagine annuale. Ind. Alim. XLI, 782-788.
 - 12) Bonardi S., Brindani F., Pizzin G., Lucidi L., D’Incau M., Liebana E., Morabito S. (2003). Detection of *Salmonella* spp., *Yersinia enterocolitica* and verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in pigs at slaughter in Italy. Int. J. Food Microbiol. 85, 101–110.
 - 13) Borch E., Nesbakken T., Christensen H. (1996). Hazard identification in swine slaughter with respect to foodborne bacteria. Int. J. Food Microbiol. 30, 9-25.
 - 14) Bottone E. J. (1997). *Yersinia enterocolitica*: the charisma continues. Clin. Microbiol. Rev. 10, 257-276.
 - 15) Bottone E. J. (1999). *Yersinia enterocolitica*: overview and epidemiologic correlates. Microbes Infect. 1, 323-333.
 - 16) Bowman A. S, Glendening C, Wittum T. E, LeJeune J. T, Stich R. W, Funk J. A. (2007). Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in different phases of production on swine farms. J. Food Prot. 70, 11-16.
 - 17) Brenner D. J., Bercovier H., Ursing J., Alonso J. M., Steigerwalt A. G., Fanning G. R., Carter G. P., Mollaret H. H. (1980). *Yersinia intermedia*: a new species of *Enterobacteriaceae* composed of rhamnose-positive, melibiose-positive, raffinose-positive strains (formerly called atypical *Yersinia enterocolitica* or *Yersinia enterocolitica*-like). Curr. Microbiol., 4, 207-212.
 - 18) Burnens A. P., Frey A., Nicolet J. (1996). Association between clinical presentation, biogroups and virulence attributes of *Yersinia enterocolitica* strains in human diarrhoeal disease. Epidemiol. Infect. 116, 27-34.
 - 19) Carniel E., Guilvout I., Prentice M. (1996). Characterization of a large chromosomal “high-pathogenicity island” in biotype 1B *Yersinia enterocolitica*. J. Bacteriol. 178, 6743–6751.
 - 20) Carniel E. (2001). The *Yersinia* high-pathogenicity island: an iron-uptake island. Microbes Infect. 3, 561–569.
 - 21) China B., Sory M. P., N’Guyen B. T., De Bruyere M., Cornelis G. R. (1993). Role of the YadA protein in prevention of opsonization of *Yersinia enterocolitica* by C3b molecules. Infect. Immun. 61, 3129–3136.
 - 22) Christensen S. G. (1987). Co-ordination of a nationwide survey on the presence of *Yersinia enterocolitica* O:3 in the environment of butcher shops. Contrib. Microbiol. Immunol. 9, 26-29.
 - 23) Clark M. A., Hirst B. H., Jepson M. A. (1998). M-cell surface β 1 integrin expression and invasion-mediated targeting of *Yersinia pseudotuberculosis* to mouse Peyer’s patch M cells Infect. Immun. 66, 1237–1243.
 - 24) Cornelis G. R., Boland A., Boyd A. P., Geuijen C., Iriarte M., Neyt C., Sory M. P., Stainier I. (1998). The virulence plasmid of *Yersinia*, an antihost genome. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 62, 1315-1352.
 - 25) de Almeida A. M. P., Guiyoule A., Guilvout I., Iteman I., Baranton G., Carniel E. (1993). Chromosomal *irp2* gene in *Yersinia*: distribution, expression,

- deletion and impact on virulence. *Microb. Pathog.* 14, 9–21.
- 26) deKoning-Ward T.F., Ward A. C., Robins-Browne R.M. (1994). Characterisation of the urease-encoding gene complex of *Yersinia enterocolitica*. *Gene.* 145, 25-32.
 - 27) De Koning-Ward T. F., Robins-Browne R. M. (1995). Contribution of urease to acid tolerance in *Yersinia enterocolitica*. *Infect. Immun.* 63, 3790-3795.
 - 28) Delor I., Kaeckenbeeck A., Wauters G., Cornelis G. R. (1990). Nucleotide sequence of *yst*, the *Yersinia enterocolitica* gene encoding the heat-stable enterotoxin, and prevalence of the gene among pathogenic and non-pathogenic *Yersinia*e. *Infect. Immun.* 58, 2983-2988.
 - 29) European Food Safety Authority. (2006). *Yersinia*. In: Trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and antimicrobial resistance in the European Union in 2005. EFSA (Ed.). Parma, pp. 160-167.
 - 30) Ewing W.H., Ross A.J., Brenner D.J., Fanning G.R. (1978). *Yersinia ruckeri* sp. nov., the redmouth (RM) bacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 28, 37-44.
 - 31) Foultier B., Troisfontaines P., Muller S., Opperdoes F. R., Cornelis G. R. (2002). Characterization of the *ysa* pathogenicity locus in the chromosome of *Yersinia enterocolitica* and phylogeny analysis of type III secretion systems. *J. Mol. Evol.* 55, 37–51.
 - 32) Frederiksen W. (1963). A study of some *Yersinia pseudotuberculosis*-like bacteria, “*Bacterium enterocoliticum*” and “*Pasteurella X*”. *Proc. XIV Scad. Congr. Pathol. Microbiol.* pp.103-104.
 - 33) Fredriksson-Ahomaa M., Korte T., Korkeala H. (2000). Contamination of carcasses, offals, and the environment with *yadA*-positive *Yersinia enterocolitica* in a pig slaughterhouse. *J. Food Prot.* 63, 31-35.
 - 34) Fredriksson-Ahomaa M. (2001). Molecular epidemiology of *YadA*-positive *Yersinia enterocolitica*. University of Helsinki, Academic dissertation (ISBN 951-45-9988-8)
 - 35) Fredriksson-Ahomaa M., Hallanvuori S., Korte T., Siitonen A., Korkeala H. (2001). Correspondence of genotypes of sporadic *Yersinia enterocolitica* bioserotype 4/O:3 strains from human and porcine sources. *Epidemiol. Infect.* 127, 37–47.
 - 36) Fredriksson-Ahomaa M., Bucher M., Hank C., Stolle A., Korkeala H. (2001). High prevalence of *Yersinia enterocolitica* 4:O3 on pig offal in southern Germany: a slaughtering technique problem. *Syst. Appl. Microbiol.* 24, 457-463.
 - 37) Fredriksson-Ahomaa M., Korkeala H. (2003). Low occurrence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in clinical, food, and environmental samples: a methodological problem. *Clin. Microbiol. Rev.* 16, 220–229.
 - 38) Fredriksson-Ahomaa M., Korkeala H. (2003). Molecular epidemiology of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3. *Adv. Exp. Med. Biol.* 529, 295–302.
 - 39) Fredriksson-Ahomaa M., Koch U., Klemm C., Bucher M., Stolle A. (2004). Different genotypes of *Y. enterocolitica* 4/O:3 strains widely distributed in butcher shops in Munich area. *Int. J. Food Microbiol.* 95, 89-94.
 - 40) Fukushima H., Nakamura R., Ito Y., Saito K., Tsubokura M., Otsuki K.

- (1983). Ecological studies of *Yersinia enterocolitica*. I. Dissemination of *Y. enterocolitica* in pigs. *Vet. Microbiol.* 8, 469-483.
- 41) Fukushima H., Maruyama K., Omori I., Ito K., Iorihara M. (1990). Contamination of pigs with *Yersinia* at the slaughterhouse. *Fleischwirtschaft* 70, 1300-1302.
- 42) Fukushima H., Hoshina K., Itogawa H., Gomyoda M. (1997). Introduction into Japan of pathogenic *Yersinia* through imported pork, beef and fowl. *Int. J. Food Microbiol.* 35, 205-212.
- 43) Gourdon F., Beytout J., Reynaud A., Romaszko J.P., Perre D., Theodore P., Soubelet H., Sirot J. (1999). Human and animal epidemic of *Yersinia enterocolitica* O:9, 1989–1997, Auvergne, France. *Emerg. Infect. Dis.* 5, 719–721.
- 44) Grützkau A., Hanski C., Naumann M. (1993). Comparative study of histopathological alterations during intestinal infection of mice with pathogenic and non-pathogenic strains of *Yersinia enterocolitica* serotype O:8. *Virchows Arch. A Pathol. Anat. Histopathol.* 423, 97-103.
- 45) Gürtler M., Alter T., Kasimir S., Linnebur M., Fehlhaber K. (2005). Prevalence of *Yersinia enterocolitica* in fattening pigs. *J. Food Prot.* 68, 850-854.
- 46) Hacker J., Blum-Oehler G., Mühldorfer I., Tschäpe H. (1997). Pathogenicity islands of virulent bacteria: structure, function and impact on microbial evolution. *Mol. Microbiol.* 23, 1089–1097.
- 47) Haller J. C., Carlson S., Pederson K. J., Pierson D. E. (2000). A chromosomally encoded type III secretion pathway in *Yersinia enterocolitica* is important in virulence. *Mol. Microbiol.* 36, 1436-1446.
- 48) Hanski C., Naumann M., Grützkau A., Pluschke G., Friedrich B., Hahn H., Riecken E. O. (1991). Humoral and cellular defense against intestinal murine infection with *Yersinia enterocolitica*. *Infect. Immun.* 59, 1106-1111.
- 49) Heesmann J., Laufs R. (1983). Construction of a mobilizable *Yersinia enterocolitica* virulence plasmid. *J. Bacteriol.* 155, 761-767.
- 50) Heesmann J., Keller C., Morawa R., Schmidt N., Siemens H. J., Laufs R. (1983). Plasmids of human strains of *Yersinia enterocolitica*: molecular relatedness and possible importance for pathogenesis. *J. Infect. Dis.* 147, 107-115.
- 51) Heesmann J., Algermissen B., Laufs R. (1984). Genetically manipulated virulence of *Yersinia enterocolitica*. *Infect. Immun.* 46, 105-110.
- 52) Hueck C. J. (1998). Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62, 379-433.
- 53) Hurvell B. (1981). Zoonotic *Yersinia enterocolitica* infection: host range, clinical manifestations, and transmission between animals and man. In: *Yersinia enterocolitica*. Bottone E. J. (Ed.). CRS press, Boca Raton, FL, pp. 145-159.
- 54) Ibrahim A., Liesack W., Griffiths M. W., Robins-Browne R. M. (1997). Development of a highly specific assay for rapid identification of pathogenic strains of *Yersinia enterocolitica* based on PCR amplification of the *Yersinia* heat-stable enterotoxin gene (yst). *J. Clin. Microbiol.* 35, 1636–1638.

- 55) Iriarte M., Cornelis G. R. (1999). The 70-kilobase virulence plasmid of *Yersinia*. In: Pathogenicity islands and other mobile genetic elements. J. B. Kaper and J. Hacker (Eds.). American Society for Microbiology, Washington, D.C. pp. 91-126.
- 56) Isberg R. R. (1990). Pathways for the penetration of enteroinvasive *Yersinia* into mammalian cells. *Mol. Biol. Med.* 7, 73-82.
- 57) Isberg R. R., Leong J. M. (1990). Multiple beta 1 chain integrins are receptors for invasin, a protein that promotes bacterial penetration into mammalian cells. *Cell.* 60, 861-871.
- 58) Jones T. F. (2003). From pig to pacifier: chitterling-associated yersiniosis outbreak among black infants. *Emerg. Infect. Dis.* 9, 1007-1009.
- 59) Kapperud G., Namork E., Skurnik, M., Nesbakken T. (1987). Plasmid-mediated surface fibrillae of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica*: relationship to the outer membrane protein YOP1 and possible importance for pathogenesis. *Infect. Immun.* 55, 2247-2254.
- 60) Kapperud G. (1991). *Yersinia enterocolitica* in food hygiene. *Int. J. Food Microb.* 12, 53-65.
- 61) Kellogg C. M., Tarakji E. A., Smith M., Brown P. D. (1995). Bacteremia and suppurative lymphadenitis due to *Yersinia enterocolitica* in a neutropenic patient who prepared chitterlings. *Clin. Infect. Dis.* 21, 236-237.
- 62) Korte T., Fredriksson-Ahomaa M., Niskanen T., Korkeala H. (2004). Low prevalence of yadA-positive *Yersinia enterocolitica* in sows. *Foodborne Pathog. Dis.* 1, 45-52.
- 63) Kot B., Trafny E. A., Jakubczak A. (2007). Application of multiplex PCR for monitoring colonization of pig tonsils by *Yersinia enterocolitica*, including biotype 1A, and *Yersinia pseudotuberculosis*. *J Food Prot.* 70, 1110-1115.
- 64) Kotula A.W., Sharar A.K. (1993). Presence of *Yersinia enterocolitica* serotype O:5, 27 in slaughter pigs. *J. Food Prot.* 56, 215- 218.
- 65) Lee L. A., Gerber A. R., Lonsway D. R., Smith J. D., Carter G. P., Puhr N. D., Parrish C. M., Sikes R. K., Finton R. J., Tauxe R. W. (1990). *Yersinia enterocolitica* O:3 infections in infants and children associated with the household preparation of chitterlings. *N. Engl. J. Med.* 322, 984-987.
- 66) Leong J. M., Fournier R. S., Isberg R. R. (1990). Identification of the integrin binding domain of the *Yersinia pseudotuberculosis* invasin protein. *EMBO J.* 9, 1979-1989.
- 67) Letellier A., Messier S., Quessy S. (1999). Prevalence of *Salmonella* spp. and *Yersinia enterocolitica* in finishing swine at Canadian abattoir. *J. Food Prot.* 62, 22-25.
- 68) Luzzi I. (2005). *Yersinia* spp. e *Shigella* spp. In: Trattato sulle infezioni e tossinfezioni alimentari. Rondanelli E. G., Fabbi M., Marone P. (Eds.). Selecta Medica, Pavia, pp. 319-331.
- 69) MacNab R. M. (1996). In: *Escherichia coli and Salmonella: Cellular and Molecular Biology*, Neidhardt F. C. (Ed.). Am. Soc. Microbiol., Washington, DC, Vol. 1, pp. 123-145.
- 70) Mantle M., Basaraba L., Peacock S.C., Gall D.G. (1989). Binding of *Yersinia*

- enterocolitica* to rabbit intestinal brush border membranes, mucus, and mucin. *Infect. Immun.* 57, 3292-3299.
- 71) Mikulskis A. V., Delor I., Thi V. H., Cornelis G. R. (1994). Regulation of the *Yersinia enterocolitica* enterotoxin *yst* gene. Influence of growth phase, temperature, osmolarity, pH and bacterial host factors. *Mol. Microbiol.* 14, 905-915.
 - 72) Miller V. L., Falkow S. (1988). Evidence for two genetic loci in *Yersinia enterocolitica* that can promote invasion of epithelial cells. *Infect. Immun.* 56, 1242-1248.
 - 73) Miller V. L., Farmer J. J. III, Hill W. E., Falkow S. (1989). The *ail* locus is found uniquely in *Yersinia enterocolitica* serotypes commonly associated with disease. *Infect. Immun.* 57, 121-131.
 - 74) Miller V. L., Bliska J. B., Falkow S. (1990). Nucleotide sequence of the *Yersinia enterocolitica* *ail* gene and characterisation of the Ail protein product. *J. Bacteriol.* 172, 1062-1069.
 - 75) Mills S. D., Boland A., Sory M. P., Van Der Smissen P., Kerbouch C., Finley B. B., Cornelis G. R. (1997). *Yersinia enterocolitica* induces apoptosis in macrophages by a process requiring functional type III secretion and translocation mechanisms and involving YopP, presumably acting as an effector protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 12638-12643.
 - 76) Nesbakken T. (1992). Epidemiological and food hygienic aspects of *Yersinia enterocolitica* with special reference to the pig as a suspected source of infection. *Thesis*. Norwegian College of Veterinary Medicine, Oslo, Norway.
 - 77) Nesbakken T., Nerbrink E., Røtterud O. J., Borch E. (1994). Reduction of *Yersinia enterocolitica* and *Listeria* spp. on pig carcasses by enclosure of the rectum during slaughter. *Int. J. Food Microbiol.* 23, 197-208.
 - 78) Nielson H. J. S., Zeuthen P. (1985). Sodium chloride and pathogenic bacteria in vacuum-packed minced-meat product. *J. Food Prot.* 48, 150-155.
 - 79) Nielsen B., Heisel C., Wingstrand A. (1996). Time course of the serological response to *Yersinia enterocolitica* O:3 in experimentally infected pigs. *Vet. Microbiol.* 48, 293-303.
 - 80) Nielsen B., Wegener H. C. (1997). Public health and pork and pork products: regional perspectives of Denmark. *Rev. Sci. Tech.* 16, 513-524.
 - 81) Nowak B., Mueffling T.V., Caspari K., Hartung J. (2006). Validation of a method for the detection of virulent *Yersinia enterocolitica* and their distribution in slaughter pigs from conventional and alternative housing systems. *Vet. Microbiol.* 117, 219-228.
 - 82) Paerregaard A., Espersen F., Jensen O.M., Skurnik M. (1991). Interactions between *Yersinia enterocolitica* and rabbit ileal mucus: growth, adhesion, penetration, and subsequent changes in surface hydrophobicity and ability to adhere to ileal brush border membrane vesicles. *Infect. Immun.*, 59, 253-260.
 - 83) Pepe J.C., Badger J.L., Miller V.L. (1994). Growth phase and low pH affect the thermal regulation of the *Yersinia enterocolitica* *inv* gene. *Mol. Microbiol.* 11, 123-135.
 - 84) Pierson D. E., Falkow S. (1993). The *ail* gene of *Yersinia enterocolitica* has a

- role in the ability of the organism to survive serum killing. *Infect. Immun.* 61, 1846–1852.
- 85) Pilz D., Vocke T., Heesemann J., Brade V. (1992). Mechanism of YadA-mediated serum resistance of *Yersinia enterocolitica* serotype O3. *Infect. Immun.* 60, 189–195.
- 86) Portnoy D. A., Falkow S. (1981). Virulence-associated plasmids from *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pestis*. *J. Bacteriol.* 148, 877-883.
- 87) Portnoy D. A., Martinez R. J. (1985). Role of a plasmid in the pathogenicity of *Yersinia* species. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 118, 29-51.
- 88) Prentice M. B., Cope D., Swann R.A. (1991). The epidemiology of *Yersinia enterocolitica* infection in the British Isles 1983–1988. *Contrib. Microbiol. Immunol.* 12, 17–25.
- 89) Rakin A., Noelting C., Schubert, S., Heesemann J. (1999). Common and specific characteristics of the high-pathogenicity islands of *Yersinia enterocolitica*. *Infect. Immun.* 67, 5265-5274.
- 90) Ramamurthy T., Yoshino K., Huang X., Balakrish Nair G., Carniel E., Maruyama T., Fukushima H., Takeda T. (1997). The novel heat-stable enterotoxin subtype gene (ystB) of *Yersinia enterocolitica*: nucleotide sequence and distribution of the yst genes. *Microb. Pathog.* 23, 189–200.
- 91) Revell P. A., V. L. Miller (2001). *Yersinia* virulence: more than a plasmid. *FEMS Microbiol. Lett.* 205, 159–164.
- 92) Robins-Browne R. M., Still C. S., Miliotis M. D., Koornhof H. J. (1979). Mechanism of action of *Yersinia enterocolitica* enterotoxin. *Infect. Immun.* 25, 680–684.
- 93) Robins-Browne R.M., Takeda T., Fasano A., Bordun A.M., Dohi S., Kasuga H., Fang G., Prado V., Guerrant R.L., Morris J.G. (1993). Assessment of enterotoxin production by *Yersinia enterocolitica* and identification of a novel heat-stable enterotoxin produced by a noninvasive *Y. enterocolitica* strain isolated from clinical material. *Infect. Immun.* 61, 764-767.
- 94) Robins-Browne R. M. (1997). *Yersinia enterocolitica*. In: *Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers*. Doyle M. P., Beuchat L. R., Montville T. J. (Eds.). ASM Press, Washington D.C, pp. 192-215.
- 95) Ruckdeschel K., Roggenkamp A., Schubert S., Heesemann J. (1996). Differential contribution of *Yersinia enterocolitica* virulence factors to evasion of microbicidal action of neutrophils. *Infect. Immun.* 64, 724-733.
- 96) Ruffo G. (1998). Enterobatteri. In: *Trattato di malattie infettive degli animali*. Farina R., Scatozza F.(Eds.). UTET, Torino, pp 115-134.
- 97) Schiemann D. A. (1980). Isolation of toxigenic *Yersinia enterocolitica* from retail pork products. *J. Food Prot.* 43, 360-365.
- 98) Schiemann D.A.(1989). *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. In: *Foodborne Bacterial Pathogens*. Doyle, M. P. (Ed.). Marcel Dekker, New York, pp.601-672.
- 99) Schmiel D. H., Wagar E., Karamanou L., Weeks D., Miller V. L. (1998). Phospholipase A of *Yersinia enterocolitica* contributes to pathogenesis in a mouse model. *Infect. Immun.* 66, 3941-3951.

- 100) Singh I., Viridi J. S. (2004). Production of *Yersinia* stable toxin (YST) and distribution of *yst* genes in biotype 1A strains of *Yersinia enterocolitica*. *J. Med. Microb.* **53**, 1065–1068.
- 101) Skjerve E., Lium B., Nielsen B., Nesbakken T. (1998). Control of *Yersinia enterocolitica* in pigs at herd level. *Int. J. Food Microbiol.* **45**, 195-203.
- 102) Sorensen L.L., Thomsen L.K., Pedersen J.V., Nielsen B. (1999). Different ways of handling the bung (rectum) during pig slaughter dressing related to *Salmonella* sero-positivity in slaughter pigs and the number of *Salmonella* positive meat samples. Proceedings of the 3rd International Symposium on the Epidemiology and Control of *Salmonella* in Pork, August 5 – 7, 1999, Washington, DC, USA. University of Illinois, Urbana, Champaign, pp. 287–288.
- 103) Stern N. J., Pierson M. D., Kotula A. W. (1980). Effects of pH and sodium chloride on *Yersinia enterocolitica* growth at room and refrigeration temperatures. *J. Food Sci.* **45**, 64-67.
- 104) Stoddard J. J., Wechsler D. S., Nataro J. P., Casella J. F. (1994). *Yersinia enterocolitica* infection in a patient with sickle cell disease after exposure to chitterlings. *Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.* **16**, 153–155.
- 105) Szabo E. A., Scurrah K. J., Burrows J. M. (2000). Survey for psychrotrophic bacterial pathogens in minimally processed lettuce. *Let. Appl. Microbiol.* **30**, 456-460.
- 106) Tauxe R. V., Vandepitte J., Wauters G., Martin S. M., Goossens V., van Noyen R., de Moel P., Thiers G. (1987). *Yersinia enterocolitica* infections and pork: the missing link. *Lancet.* **16**, 1129-1132.
- 107) Thibodeau V., Frost E. H., Chénier S., Quessy S. (1999). Presence of *Yersinia enterocolitica* in tissues of orally-inoculated pigs and the tonsils and faeces of pigs at slaughter. *Can. J. Vet. Res.* **63**, 96-100.
- 108) Ursing J., Don Brenner J., Bercovier H., Fannin G.R., Steigerwalt A.G., Brault J., Mollaret H.H. (1980). *Yersinia frederiksenii*: a new species of *Enterobacteriaceae* composed of rhamnose-positive strains (formely called atypical *Yersinia enterocolitica* or *Yersinia enterocolitica*-like). *Curr. Microbiol.*, **4**, 213-217.
- 109) Venecia K., Young G. M. (2005). Environmental Regulation and Virulence Attributes of the Ysa Type III Secretion System of *Yersinia enterocolitica* Biovar 1B. *Infect. Immun.* **73**, 5961–5977.
- 110) Vesikari T., Nurmi T., Mäki M., Skurnik M., Sundqvist C., Granfors K., Grönroos P. (1981). Plasmids in *Yersinia enterocolitica* serotypes O:3 and O:9 correlation with epithelial cell adherence in vitro. *Infect. Immun.* **33**, 870-876.
- 111) Wachter E., Brade V. (1989). Influence of surface modulations by enzymes and monoclonal antibodies on alternative complement pathway activation by *Yersinia enterocolitica*. *Infect. Immun.* **57**, 1984–1989.
- 112) Wauters G. (1973). Improved methods for the isolation and the recognition of *Yersinia enterocolitica*. *Contr. Microbiol. Immunol.* **2**, 68-70.
- 113) Wauters G. (1979). Carriage of *Yersinia enterocolitica* serotype 3 by pigs as a

- source of human infection. *Contrib. Microbiol. Immunol.* 5, 249-252.
- 114) Wauters G., Kandolo K., Janssens M. (1987). Revised biogrouping scheme of *Yersinia enterocolitica*. *Contrib. Microbiol. Immunol.* 9, 14-21.
 - 115) Wauters G., Janssens M., Steigerwalt A. G., Brenner D. J. (1988). *Yersinia mollaretii* sp. nov. and *Yersinia bercovierii* sp. nov., formerly called *Yersinia enterocolitica* biogroups 3A and 3B. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 38, 424-429.
 - 116) Wauters G., Aleksić S., Charlier J., Schulze G. (1991). Somatic and flagellar antigens of *Yersinia enterocolitica* and related species. *Contrib. Microbiol. Immunol.* 12, 239-243.
 - 117) Winblad S. (1967). Studies on serological typing of *Yersinia enterocolitica*. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl.* 187, 115.
 - 118) Young, G. M., Schmiel D. H., Miller V. L. (1999). A new pathway for the secretion of virulence factors by bacteria: the flagellar export apparatus functions as a protein-secretion system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96, 6456-6461.
 - 119) Young, B. M., Young G. M. (2002). Evidence for targeting of Yop effectors by the chromosomally encoded Ysa type III secretion system of *Yersinia enterocolitica*. *J. Bacteriol.* 184, 5563–5571.
 - 120) Young, B. M., Young G. M. (2002). YplA is exported by the Ysc, Ysa, and flagellar type III secretion systems of *Yersinia enterocolitica*. *J. Bacteriol.* 184, 1324–1334.
 - 121) Zheng X. B. (1987). Isolation of *Yersinia enterocolitica* from the faeces of diarrhoeic swine. *J. Appl. Bacteriol.* 62, 521-525.

PRODUZIONI DI ORIGINE ANIMALE. GESTIONE DEI RISCHI FARMACOTOSSICOLOGICI A LIVELLO DI ALLEVAMENTO. COMPETENZE E RESPONSABILITÀ DEI SERVIZI VETERINARI.

Signorini G.¹, Biagi G.², Nannipieri S.³, Marzotto G.³, Morini C.⁴, Pandolci C.⁵

Introduzione

Il binomio “allevamento e gestione dei rischi correlati” è divenuto, dal 2000 in poi, argomento sempre più pressante a seguito della pubblicazione da parte della Commissione Europea del Libro Bianco sulla sicurezza alimentare, finalizzato a perseguire standard produttivi sempre più elevati. In tale contesto divengono protagonisti gli alimenti destinati agli animali ed i trattamenti farmacologici cui questi vengono o possono venir sottoposti in quanto sono due anelli fondamentali della catena alimentare che destano, se non adeguatamente gestiti, notevole preoccupazione: immediata conseguenza di tale preoccupazione è stata l’emanazione annuale da parte del legislatore dei Piani Nazionali per la Ricerca dei Residui (PNR) e dei Piani Nazionali concernenti gli Alimenti destinati agli Animali (PNAA).

Inoltre, essendo noti gli stretti rapporti tra sicurezza dei prodotti di origine animale (o.a.) e stato di salute degli animali, il legislatore, ha ridisegnato l’impianto normativo comunitario in materia di sicurezza alimentare prima di tutto emanando il Regolamento (CE) n. 178/2002 (“General Food Law”) (GUCE L 31, 01/02/2002), che introduce il principio fondamentale di un approccio integrato di filiera che comporta la responsabilizzazione di tutti gli operatori della filiera alimentare, dalla produzione agricola primaria alla distribuzione finale al consumatore, ristorazione compresa. Dal 1° gennaio 2006 una delle principali componenti del nuovo quadro normativo europeo è rappresentata dal così detto “Pacchetto Igiene”, che comprende quattro testi legislativi (Regolamento (CE) n. 852/2004 sull’igiene dei prodotti alimentari, Regolamento (CE) n. 853/2004 che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale, Regolamento (CE) n. 854/2004 che stabilisce norme specifiche per l’organizzazione di controlli ufficiali su prodotti di origine animale destinati al consumo umano, tutti pubblicati sulla GUCE n. L 139, 30/04/2004, rettificati poi sulla GUCE L 226 del 25 giugno 2004), ai quali si affianca il Regolamento (CE) n. 183/2005 che stabilisce i requisiti per l’igiene dei mangimi (GUCE n. L 35, 08/02/2005), complessivamente destinati a razionalizzare e unificare la normativa comunitaria in materia di igiene dei prodotti alimentari e di controlli ufficiali, precedentemente dispersa in diciassette direttive: con l’emanazione di queste

1 Scuola di Specializzazione in “Ispezione Alimenti Origine Animale” – Università Studi Parma

2 Dipartimento di Clinica Veterinaria – Università Studi Pisa

3 Veterinario Dirigente – ASL 6 Zona Livorno

4 Veterinario Dirigente – ASL Mantova

5 Veterinario libero professionista - Ancona

specifiche normative il legislatore ha inteso corrispondere alle esigenze dei consumatori giustamente preoccupati nel richiedere ed ottenere prodotti di origine zootecnica ineccepibili dal punto di vista sanitario e qualitativo.

Con l'emanazione della normativa riguardante i medicinali per uso veterinario, riteniamo di poter affermare che in Italia il legislatore, a supporto del "Pacchetto Igiene", ha promulgato quello che potremmo definire il "Pacchetto Farmaco" che comprende il Decreto del Ministero (DM) della salute 4 marzo 2005 relativo alla "revisione dei medicinali per uso veterinario" (GURI n. 113, 17/05/2005), il Decreto Legislativo (D. L.gs) 16 marzo 2006 n. 158 di "attuazione della direttiva 2003/74/CE, concernente il divieto di utilizzazione di talune sostanze ad azione ormonica, tireostatica e delle sostanze beta-agoniste nelle produzioni animali" (GURI n. 98, 28/04/2006) e il Decreto Legislativo 6 aprile 2006 n 193 di "attuazione della direttiva 2004/28/CE recante codice comunitario dei medicinali veterinari" (GURI n. 121, 26/05/2006, SO n. 127).

Trattamenti farmacologici e tempi di sospensione cautelativi

Preso atto che il Regolamento n. 2377/90/CEE del Consiglio del 26/06/1990 "definisce una procedura comunitaria per la determinazione dei limiti massimi di residui (MRL) dei medicinali veterinari negli alimenti di origine animale" (GUCE n. L 224, 18/08/1990), considerato che negli ultimi anni la Commissione europea ha definito gli MRL per i principi attivi utilizzati nei medicinali per uso veterinario destinati alle specie da reddito al fine di consentire il monitoraggio dei residui nei tessuti ed organi degli animali trattati e la definizione di adeguati tempi di sospensione, considerato anche che per i medicinali per uso veterinario autorizzati prima dell'entrata in vigore degli MRL definitivi, i tempi di sospensione potrebbero non essere adeguati, il Ministero della salute con l'emanazione del DM 4 marzo 2005 ha disposto di procedere alla revisione di tutti i medicinali per uso veterinario attualmente autorizzati per le specie allevate per la produzione di alimenti per il consumo umano o comunque immessi in commercio alla data del 1° gennaio 2000. Tuttavia, sono esclusi dall'applicazione del DM 4 marzo 2005 i medicinali per uso veterinario per i quali sono già stati autorizzati i relativi tempi di sospensione a seguito della presentazione di studi di deplezione residuale, condotti tenendo conto dei limiti massimi residuali definitivi previsti per il principio attivo o i principi attivi presenti nella composizione, stabiliti dal Regolamento (CE) n. 2377/90 del Consiglio ed effettuati secondo le linee guida comunitarie attualmente in vigore.

In analogia con quanto previsto dal Regolamento (CE) n. 178/2002 (GUCE n. L 031, 01/02/2002) con il quale è introdotto il "principio di precauzione", anche per i medicinali veterinari per i quali non siano stati effettuati o che non abbiano in corso studi di deplezione residuali, il DM 4 marzo 2005 all'art. 4, fissa tempi di sospensione cautelativi (Tabella n. 1).

Tabella n. 1. Tempi di sospensione cautelativi

Carni		
Tempi di Sospensione autorizzati (TSA)	Tempi di Sospensione cautelativi	
	Giorni da aggiungere	Esempio
0-5 giorni	+ 5 giorni	TSA = 3 ? 3 + 5 = 8
6-14 giorni	Raddoppiare numero di giorni	TSA = 11 ? 11 + 11 = 22
Oltre 14 giorni	+ 14 giorni	TSA = 30 ? 30 + 14 = 44
Latte, carni avicole, conigli, uova e miele		
Tempi di Sospensione autorizzati (TSA)	Tempi di Sospensione cautelativi	
	Giorni da aggiungere	Esempio
0-6 giorni	+ 3 giorni	TSA = 5 ? 5 + 3 = 8
7-8 giorni	+ 4 giorni	TSA = 7 ? 7 + 4 = 11
9-10 giorni	+ 5 giorni	TSA = 9 ? 9 + 5 = 14
11-12 giorni	+ 6 giorni	TSA = 12 ? 12 + 6 = 18
Oltre 12 giorni	+ 7 giorni	TSA = 16 ? 16 + 7 = 23

È compito delle ditte titolari delle autorizzazioni all'immissione in commercio (AIC) dei medicinali per uso veterinario, entro sei mesi dalla data di pubblicazione del DM 4 marzo 2005, modificare quanto riportato negli stampati illustrativi autorizzati, aggiornando il materiale di confezionamento e l'eventuale foglietto illustrativo con i tempi di sospensione cautelativi ed assicurare che siano intraprese tutte le misure necessarie affinché non entrino nel circuito commerciale, alla scadenza dei sei mesi previsti, medicinali per uso veterinario non conformi a quanto stabilito.

Inoltre, entro sessanta giorni dalla pubblicazione del DM 4 marzo 2005 è pubblicato nella Gazzetta Ufficiale della Repubblica italiana l'elenco dei medicinali per uso veterinario per i quali sono definiti, per ciascuna specie di destinazione produttrice di alimenti di origine animale autorizzata, i tempi di sospensione cautelativi che devono essere applicati dai medici veterinari prescrittori a partire dal quindicesimo giorno dalla pubblicazione dell'elenco.

Codice comunitario dei medicinali veterinari.

La seconda norma da considerare in quello che abbiamo definito "Pacchetto Farmaco" è il D. L.gs 6 aprile 2006, n. 193 "Attuazione della direttiva 2004/28/CE recante codice comunitario dei medicinali veterinari" (GURI n. 121, 26/05/2006, S.O. n. 127). Questa norma costituita da 121 articoli e tre Allegati, entrato in vigore il 10 giugno 2006, reca la nuova disciplina dei medicinali veterinari e può considerarsi il "manuale" completo di riferimento per soddisfare le attuali esigenze di sicurezza per il trattamento degli animali produttori di alimenti per l'uomo. Con la sua entrata in vigore sono stati abrogati il D. L.gs 27 gennaio 1992, n. 119 (GURI n. 40, 18/02/1992, SO n. 33) e successive modificazioni; il DM della sanità 16 maggio 2001, n. 306 (GURI n. 173, 27/07/2001); il D. L.gs 24 febbraio 1997, n. 47 (GURI n. 54, 06/03/1997, SO n. 49); il D. L.gs 4 febbraio 1993, n. 66 (GURI n. 64, 18/03/1993, SO n. 2) e successive modificazioni; il D. L.gs 17 marzo 1995, n. 110 (GURI n. 86, 12/04/1995). Restano immutate le norme in vigore che disciplinano le buone prassi di fabbricazione dei medicinali veterinari, adottate a norma dell'art. 11, comma 3 del D. L.gs n. 119/92, nonché le norme in vigore che disciplinano la produzione e l'impiego dei medicinali veterinari ad azione immunologia, adottate a norma dell'art. 4 del D. L.gs n. 66/93. Le predette normative possono essere modificate con successivi decreti del Ministero della salute.

Nel Titolo I del D. L.gs n. 193/2006, vengono date delle “definizioni” che il medico veterinario deve conoscere per poter svolgere al meglio la propria attività di medico prescrittore di medicinali. Nel titolo II, riguardante il campo di applicazione, il legislatore specifica che questa norma si applica ai medicinali veterinari, incluse le premiscele per alimenti medicamentosi, destinati ad essere immessi in commercio e preparati industrialmente, compresi anche i medicinali omeopatici. Sono esclusi gli alimenti medicamentosi normati dal D. L.gs n. 66/93 e successive modificazioni e i medicinali preparati in farmacia in base ad una prescrizione veterinaria (che comunque prevede sempre la ricetta in triplice copia) destinata ad un determinato animale o a un ristretto numero di animali. Ricordiamo che per medicinale veterinario si deve intendere “ogni sostanza o associazione di sostanze che può essere somministrata all’animale allo scopo di ripristinare, correggere o modificare funzioni fisiologiche mediante un’azione farmacologia, immunologia o metabolica, oppure stabilire una diagnosi medica”. Questa ampia accezione sottintende tuttavia che l’impiego del medicinale deve essere sempre eseguito in modo corretto, secondo indicazioni del medico veterinario, sulle specie animali indicate nell’autorizzazione all’immissione in commercio. In caso contrario si realizzerebbero situazioni di uso improprio, di abuso o addirittura di illecito.

Nell’Allegato I sono stati fissati norme e protocolli analitici di innocuità, preclinici e clinici in materia di prove da effettuare sui medicinali veterinari: il medicinale deve essere identificato secondo una precisa denominazione della o delle sostanze attive, la concentrazione, la forma farmaceutica, il metodo, la via di somministrazione e la presentazione finale, compresa la confezione. Per quanto attiene l’AIC, nel fascicolo analitico, fra le prove richieste, indipendentemente da quelle tossicofarmacologiche, devono figurare i controlli di innocuità relativi a sterilità, assenza di endotossine batteriche, pirogenicità e tolleranza locale sull’animale e prove di stabilità. Di particolare interesse lo studio dei residui per quanto riguarda il metabolismo, la cinetica e l’eliminazione dei residui allo scopo di conoscere la velocità di deplezione dei residui nell’animale di destinazione in seguito alla somministrazione dell’ultima dose del medicinale per determinare i tempi di sospensione. Nella parte quarta dell’Allegato I sono elencati, ai fini della AIC, i requisiti preclinici interessanti l’attività farmacologica e la tolleranza del prodotto ed infine le prove di efficacia.

L’Allegato II contiene la “scheda di segnalazione alle Autorità competenti di casi di sospetta reazione avversa (SRA)”, recuperando così l’istituto della Farmacovigilanza già previsto dal D. L.gs n. 119/92, art. 23 e ripreso dagli artt. 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 del D. L.gs n. 193/2006. Obiettivo della farmacovigilanza è la raccolta, la trasmissione, la valutazione e la segnalazione relative alle reazioni avverse, nonché la segnalazione della presunta mancanza di efficacia dei medicinali veterinari utilizzati. Le fonti di informazioni sono medici veterinari, operatori professionali sul territorio, farmacisti, università, aziende titolari di informazioni alla immissione in commercio. Si tratta quindi del coinvolgimento “istituzionalizzato” delle professioni sanitarie nel Sistema Sanitario Nazionale (SSN).

L’Allegato III infine riporta il modello di Ricetta medico veterinaria, sostanzialmente identico a quello già in uso, da utilizzare per la prescrizione di cui all’art. 11 (Uso in deroga per animali destinati alla produzione di alimenti) e all’art.

76 (Prescrizione di medicinali veterinari) commi 3, 5 e 7. Il modello di ricetta veterinario è anche utilizzato per acquistare le scorte di medicinali veterinari per i titolari di impianti autorizzati in cui vengono curati, allevati e custoditi professionalmente animali. In tal caso il medico veterinario evidenzia, alla voce “medicinali da fornire”, la dicitura “Rifornimento per scorta dell’impianto”, oppure la dicitura “Rifornimento per scorta propria”.

Il modello di ricetta è composto di fogli sovrapposti, autocopianti di cui:

- l’originale di color rosa per il farmacista,
- la prima copia di color giallo per l’utilizzatore finale,
- la seconda copia di color azzurro, destinata alla ASL,
- la terza copia di color bianco per il veterinario prescrittore.

Detto modello dev’essere utilizzato anche per le prescrizioni di medicinali veterinari contenenti sostanze ad azione estrogena, androgena e gestagena nonché altre sostanze ad azione anabolizzante.

I medici veterinari nel prescrivere i medicinali veterinari devono limitarne la quantità al minimo necessario per il trattamento o la terapia. La vendita di medicinali veterinari ad azione immunologia, di premiscele medicate, nonché di medicinali veterinari contenenti chemioterapici, antibiotici, antiparassitari, corticosteroidi, ormoni antinfiammatori, sostanze psicotrope, tranquillanti e beta-agonisti, prescritti per la terapia di animali destinati alla produzione di alimenti per l’uomo è effettuata esclusivamente dietro prescrizione medico-veterinaria non ripetibile in triplice copia. La prescrizione in triplice copia di medicinali veterinari destinati ai soli animali da compagnia è prevista quando le categorie di medicinali prescritti sono presentate in confezioni autorizzate anche per animali destinati alla produzione di alimenti per l’uomo.

La ricetta non ripetibile in triplice copia ha una validità massima di dieci giorni lavorativi dalla data di emissione.

La ricetta ripetibile ha la validità di tre mesi dalla data di rilascio e può essere riutilizzata per un massimo di cinque volte. Scaduto il termine il farmacista ritira la prescrizione.

Tra le parti di spiccato interesse per il medico veterinario segnaliamo quanto statuito dall’art. 11, “Uso in deroga per animali destinati alla produzione di alimenti”, in base al quale è stabilito che ove non esistano medicinali autorizzati per trattare una determinata affezione di specie animali destinati alla produzione di alimenti, il veterinario curante può, in via eccezionale, sotto la propria responsabilità e al fine di evitare all’animale evidenti stati di sofferenza, trattare l’animale interessato in uno specifico allevamento:

- con un medicinale veterinario autorizzato in Italia per l’uso su un’altra specie animale o per un’altra affezione sulla stessa specie;
- in mancanza di un medicinale veterinario si può ricorrere: a) a un medicinale autorizzato per l’uso umano, b) a un medicinale veterinario autorizzato in un altro Stato membro per l’uso sulla stessa specie o su un’altra specie destinata alla produzione di alimenti per l’affezione di cui trattasi o per un’altra affezione; c) in mancanza di un medicinale dei due casi sopra ricordati, il medico veterinario potrà prescrivere un medicinale veterinario preparato estemporaneamente da un farmacista ricordando di fare uso di molecole comprese negli Allegati I, II e III del Regolamento

n. 2377/90/CEE stabilendo altresì responsabilmente un appropriato tempo di attesa.

Il medico veterinario responsabile della prescrizione tiene un registro numerato in cui annota tutte le opportune informazioni concernenti i trattamenti in deroga quali l'identificazione del proprietario e gli animali trattati, diagnosi, data dei trattamenti, medicinali prescritti, dosi somministrate, durata del trattamento ed eventuali tempi di attesa raccomandati.

In base all'art. 79, "Registro dei trattamenti di animali destinati alla produzione di alimenti", si stabilisce che è fatto obbligo ai proprietari e ai responsabili di animali destinati alla produzione di alimenti di tenere un registro a pagine prenumerate e vidimato dalla ASL unitamente alle copie delle prescrizioni medico-veterinarie ed alla documentazione di acquisto. Sul registro dovranno riportare relativamente all'acquisto, alla detenzione e alla somministrazione di medicinali veterinari, le seguenti indicazioni: data, identificazione del medicinale veterinario, numero di lotto e quantità, nome e indirizzo del fornitore dei medicinali, identificazione degli animali sottoposti a trattamento, data di inizio e di fine trattamento. Registro e copie delle ricette devono essere conservati per cinque anni dall'ultima registrazione anche in caso di abbattimento degli animali prima della scadenza di tale periodo.

Per quanto attiene la tenuta di adeguate scorte di medicinali veterinari, questa può essere autorizzata dalla ASL purché sussistano valide motivazioni e ne sia responsabile un medico veterinario che le custodisce in idonei locali chiusi e tiene un registro di carico e scarico (potrebbe essere utilizzato anche quello precedentemente descritto) da conservarsi per tre anni dalla data dell'ultima registrazione o cinque anni nel caso in cui gli animali siano destinati alla produzione di alimenti per l'uomo.

Per quanto riguarda il sistema sanzionatorio, questo è stabilito nel Capo II, Sanzioni, all'art. 108 ed in ogni caso, salvo che il fatto non costituisca reato, chiunque viola gli articoli del D. L.gs n. 193/2006 espressamente citati, è soggetto al pagamento di sanzioni amministrative pecuniarie di importo variabile. Riportiamo schematicamente nella Tabella n. 2 cosa viene sanzionato al Veterinario nell'esercizio della professione e quanto.

Tabella n. 2. Violazioni e relative sanzioni amministrative pecuniarie comminabili al Veterinario

Tipo di Violazione	Sanzione amministrativa pecuniaria
Somministrazione agli animali di medicinali non autorizzati	da € 10.329,00 a € 81.974,00
Somministrazione di medicinali in deroga non ottemperando a quanto stabilito agli articoli 10 e 11	da € 1.549,00 a € 9.295,00
Destinare al consumo umano prodotti alimentari provenienti da animali sottoposti alla sperimentazione di medicinali senza la prescritta autorizzazione	da € 10.329,00 a € 81.974,00
Mancata segnalazione di reazioni avverse in base agli articoli 91 e 96	da € 2.600,00 a € 15.500,00
Non ottemperare alle modalità di scorte di medicinali in base all'articolo 80 ed agli articoli 81 e 82.	da € 2.065,00 a € 12.394,00

Divieto di utilizzazione di talune sostanze ad azione ormonica.

La terza norma di quello che abbiamo definito "Pacchetto Farmaco" è il D. L.gs del 16 marzo 2006 n. 158 "concernente il divieto di utilizzazione di talune so-

stanze ad azione ormonica, tireostatica e delle sostanze beta-agoniste nelle produzioni animali” (GURI n. 98, 28/04/2006), che abrogando il D. L.gs 4 agosto 1999, n. 336 e la legge 3 febbraio 1961 n. 4, pone con 39 articoli e quattro Allegati le nuove basi riguardanti il divieto di utilizzazione di talune sostanze ad azione ormonica, tireostatica e delle sostanze beta-agoniste nelle produzioni animali, nonché le misure di controllo su talune sostanze e sui loro residui negli animali vivi e nei loro prodotti.

Per la verità gran parte delle norme riguardanti il campo di applicazione ed i divieti già erano state fissate dal D. L.gs n. 336/99, tuttavia alcune novità sono state introdotte dall’art. 4 che in deroga ai divieti dell’art. 3 consente la somministrazione ad animali d’azienda, a scopo terapeutico, rispettivamente di:

- medicinali veterinari contenenti testosterone, progesterone per il trattamento di una disfunzione ovarica;
- sostanze beta-agoniste, alle vacche al momento del parto, per via parenterale per l’induzione della tocolisi;
- estradiolo-17 beta e i suoi derivati per il trattamento di macerazione o mummificazione fetale dei bovini o della piometra per i bovini.

La somministrazione di questi medicinali dev’essere effettuata da un veterinario e registrata dal veterinario che ha in cura gli animali su un registro vidimato dal servizio veterinario dalla ASL competente per territorio. Detta registrazione dovrà riportare numero progressivo della ricetta di riferimento, natura del trattamento, denominazione del medicinale veterinario, data di inizio e fine trattamento, identificazione degli animali trattati e la data prima della quale tali animali non possono essere inviati allo stabilimento di macellazione. Rimane severamente vietato il trattamento terapeutico in animali da produzione nonché in quelli da riproduzione a fine carriera.

Altre deroghe al divieto di somministrazione sono previste dall’art. 5 a fini di trattamento zootecnico mediante l’impiego, effettuato sempre da un veterinario, di medicinali veterinari contenenti sostanze ad azione estrogena diverse dall’estradiolo-17 beta e dai suoi derivati sotto forma di esteri, androgena o gestagena, per il trattamento di avannotti d’acquacoltura a scopo di inversione sessuale durante i primi mesi di vita con medicinali veterinari contenenti sostanze ad azione androgena. Il medicinale utilizzato in deroga dev’essere prescritto dal veterinario mediante ricetta in triplice copia non ripetibile in cui venga precisato il trattamento zootecnico previsto e la quantità di prodotto necessario, procedendo alla registrazione su apposito registro come sopra riportato. Tali trattamenti devono essere comunicati da parte del veterinario che li ha effettuati entro tre giorni alla ASL competente per territorio con la indicazione della ubicazione dell’azienda, del detentore degli animali, del numero identificativo degli animali sottoposti a trattamento, del medicinale veterinario impiegato e del relativo tempo di sospensione, della data e del tipo di intervento eseguito.

La somministrazione ad animali d’azienda di medicinali veterinari contenenti estradiolo-17 beta o suoi derivati sotto forma di esteri per l’induzione dell’estro nei bovini, negli equini, negli ovini e nei caprini è stata ammessa solo fino al 14 ottobre 2006 e quindi ormai è vietata.

Animali da produzione e animali da riproduzione a fine carriera durante il periodo di ingrasso sono tassativamente esclusi dal trattamento zootecnico. Gli ani-

mali sottoposti al trattamento non possono essere macellati prima che sia trascorso il tempo di sospensione previsto. In caso di macellazione d'urgenza e se non è trascorso il prescritto tempo di sospensione, detti animali verranno avviati a stabilimenti di trasformazione di cui al Regolamento (CE) n. 1774/2002 (GUCE n. L 273, 10/10/2002).

L'art. 6, "Divieto di autorizzazione all'immissione in commercio", ribadisce il divieto di AIC di medicinali veterinari destinati ad animali d'azienda contenenti:

a) sostanze ormonali che agiscono mediante un effetto deposito oppure il cui tempo di sospensione è superiore a 15 giorni dalla fine del trattamento nonché per prodotti autorizzati in base a norme antecedenti alla modifica apportata dal regolamento (CEE) n. 2309/1993, le cui condizioni d'uso non sono note e per i quali non esistono reagenti e neppure materiale necessario per i metodi di analisi per l'individuazione dei residui eccedenti i limiti consentiti;

b) sostanze beta-agoniste, il cui tempo di sospensione è superiore a 28 giorni.

Rispettati i tempi di sospensione minimi previsti nella AIC del medicinale veterinario di cui all'art. 4 ("Somministrazione agli animali d'azienda di medicinali veterinari") e all'art. 5 ("Deroghe al divieto di somministrazione"), per l'art. 7 ("Immissione sul mercato di animali e bollatura delle relative carni") è consentito:

a) immettere sul mercato gli animali destinati alla riproduzione o gli animali riproduttori che sono stati sottoposti ad uno dei trattamenti di cui agli art. 4 e 5, ad eccezione di quelli a fine carriera;

b) apporre sulle carni degli stessi la bollatura sanitaria comunitari;

c) le carni o i prodotti provenienti da animali cui sono stati somministrati medicinali veterinari contenenti sostanze ad azione estrogena, androgena o gestagena ovvero sostanze beta-agoniste, in conformità alle disposizioni derogatorie di cui agli articoli 4 e 5.

Tali animali ed i prodotti da essi derivati possono essere immessi sul mercato per il consumo umano solo se è stato rispettato, prima della macellazione, il tempo di sospensione previsto nella AIC del medicinale veterinario utilizzato e il trattamento risulti dagli appositi registri e siano stati rispettati gli altri requisiti previsti dalla vigente legislazione. Quanto previsto dal dettato dell'art.7 costituisce una fondamentale innovazione rispetto al D. L.gs n. 336/99.

L'art. 14, "Autocontrollo", prevede l'istituto dell'autocontrollo per i titolari di azienda (per i quali esiste l'obbligo di essere registrati presso il servizio veterinario dell'ASL competente per territorio) e per il responsabile dello stabilimento di macellazione e di prima trasformazione di prodotti di origine animale con l'obbligo di adottare un piano di autocontrollo aziendale al fine di:

a) accettare soltanto animali per i quali l'allevatore abbia garantito il rispetto dei tempi di sospensione,

b) accertare che gli animali di ingrasso introdotti nello stabilimento non contengano residui superiori ai limiti massimi consentiti e non presentano alcuna traccia di sostanze o di prodotti non autorizzati.

L'art. 4, "Somministrazione agli animali d'azienda di medicinali veterinari", prescrive l'obbligo per il veterinario che ha in cura e somministra agli animali d'azienda a scopo terapeutico medicinali veterinari contenenti testosterone, proge-

sterone o derivati oppure sostanze beta-agoniste oppure estradiolo-17 beta e suoi derivati di:

- registrare su un registro vidimato dal servizio veterinario i trattamenti eseguiti con le relative informazioni richieste,
- annotare su un registro tenuto in azienda (diverso da quello precedente) la data, la natura dei trattamenti terapeutici prescritti o eseguiti, l'identificazione degli animali trattati e i tempi di sospensione corrispondenti. Anche l'allevatore annota sullo stesso registro la data e la natura dei trattamenti eseguiti entro le 24 ore dall'inizio e dalla fine del trattamento. Tale registro è detenuto in azienda e conservato, a cura del titolare dell'azienda, con le relative ricette per almeno 5 anni. Il veterinario ufficiale competente, nel corso della vigilanza veterinaria permanente sugli allevamenti, controlla anche le condizioni degli allevamenti e dei trattamenti segnando la data delle verifiche effettuate.

Gli animali introdotti negli stabilimenti di macellazione, pubblici e privati, a scopo di macellazione debbono essere scortati da una dichiarazione del titolare dell'allevamento di origine che dev'essere conservata per un periodo non inferiore ad un anno nella quale devono essere indicati:

- a) numero, specie e categoria degli animali,
- b) ubicazione dell'allevamento di provenienza,
- c) che gli animali non sono stati trattati o alimentati con sostanze vietate,
- d) nel caso che agli animali siano stati effettuati trattamenti medicamentosi negli ultimi 90 giorni, la dichiarazione deve essere controfirmata anche dal veterinario che ha prescritto i predetti trattamenti,
- e) che sono stati osservati i previsti tempi di sospensioni.

Per quanto riguarda il sistema sanzionatorio, salvo che il fatto costituisca reato, sono previste dall'art. 32, "Sanzioni", sanzioni amministrative pecuniarie; in Tabella n. 3 sono riportati schematicamente i casi di violazione con i relativi importi.

Valutazioni conclusive.

Premettiamo che avendo affrontato in questa nota argomenti di tale rilevanza, per ovvi motivi di spazio, abbiamo dovuto sintetizzare molto; pur tuttavia, la seppur breve disamina delle normative citate riteniamo sia sufficiente ad illustrare compiutamente la gestione dei rischi farmacotossicologici a livello di allevamento e le competenze e responsabilità del veterinario.

In questi ultimi anni si stanno susseguendo incontri e tavole rotonde finalizzati a garantire accettabilità, qualità e sicurezza sanitaria dei prodotti di o.a. come richiesto dai consumatori. Il legislatore con il Libro Verde prima, con il Libro Bianco poi e successivamente con il Regolamento (CE) n. 178/2002, che stabilisce i principi ed i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare, ha posto le basi per rispondere a queste richieste.

Non va dimenticato inoltre che il problema rappresenta una priorità assoluta nel contesto del SSN per cui leggi, regolamenti e disposizioni amministrative riguardanti gli alimenti in generale e la sicurezza degli alimenti di o.a. in particolare

costituiscono una peculiarità prioritaria. In questa ottica, consci anche dei rischi inerenti gli allevamenti degli animali da reddito per la produzione di alimenti di o.a. destinati alla umana alimentazione, sono stati individuati diversi settori della filiera produttiva con nuovi fattori di rischio valutandone i diversi momenti su base scientifica per poterli gestire. Per tali motivi si sono introdotti nuovi obblighi che riguardano la rintracciabilità dei prodotti e nuove competenze interferenti con il benessere e la salute degli animali, due condizioni strettamente correlate alla sicurezza dei prodotti di o.a. A questo proposito, non può essere dimenticata quella che sta diventando una vera e propria criticità nella farmacovigilanza: la destinazione al consumo umano della carne equina proveniente da animali non allevati a questo scopo specifico. Pur non volendo, in questa sede, entrare nel merito di questo argomento, talmente vasto e complesso da meritare una apposita trattazione, non si può ignorare che l'effettuazione di una corretta farmacovigilanza finalizzata alla tutela del consumatore finale è messa a dura prova dalle lacune di quello che è, a tutti gli effetti, un caposaldo di qualunque normativa: la certa identificazione dell'animale.

Tabella n. 3. Violazioni e relative sanzioni amministrative pecuniarie

Tipo di Violazione	Sanzione amministrativa pecuniaria
per chi immette sul mercato tireostatici e stilbeni derivati dallo stilbene e loro sali, estradiolo-17 beta ai fini della loro somministrazione a tutte le specie animali, per chi non ottempera al divieto di detenzione in azienda e immissione sul mercato di carni di animali trattati con tireostatici, stilbeni e derivati dallo stilbene e loro sali ed ester, sostanze beta agoniste, per chi macella animali trattati prima che sia trascorso il tempo di sospensione, per chi esegue trattamenti zootecnici vietati ad animali da produzione nonché ad animali da riproduzione a fine carriera durante il periodo da ingrasso; per chi importa, anche da paesi terzi inseriti negli elenchi comunitari, animali da azienda o da acquicoltura cui siano stati somministrati medicinali veterinari contenenti sostanze tireostatiche, stilbeni e prodotti contenenti tali sostanze, per chi importa carni o prodotti ottenuti da animali la cui importazione è vietata, per i responsabili di aziende e degli stabilimenti che commercializzano animali cui siano stati somministrati sostanze o prodotti non autorizzati o che siano stati sottoposti ad un trattamento illecito;	da € 10.329,00 a € 61.974,00
per chi difende nelle aziende in cui si allevano animali da produzione medicinali contenenti sostanze tireostatiche, stilbeni e loro sali, estradiolo-17 beta, per chi non attua programmi di autocontrollo negli stabilimenti di macellazione e di prima trasformazione di prodotti di o.a.;	da € 5.164,00 a € 30.987,00
per il veterinario che somministra agli animali d'azienda senza annotare sul registro vidimato dal servizio veterinario dell'ASL che deve essere conservato in azienda a cura del titolare, unitamente a copia delle ricette rilasciate dal veterinario per almeno cinque anni, per il medico veterinario che esegue trattamenti zootecnici con medicinali veterinari contenenti sostanze ad azione estrogena diverse dall'estradiolo-17 beta, androgena o gestagena senza comunicare entro tre giorni al servizio veterinario dell'ASL competente per territorio con l'indicazione dell'ubicazione dell'azienda, del detentore degli animali, del numero identificativo degli animali sottoposti al trattamento, del medicinale veterinario impiegato e del relativo tempo di sospensione, della data e del tipo di intervento eseguito, per il veterinario che cura gli animali senza annotare su un registro tenuto in azienda, per l'allevatore che sullo stesso registro deve segnare data e natura dei trattamenti eseguiti entro le 24 ore dall'inizio e dalla fine del trattamento;	da € 2.037,00 a € 12.394,00
per il personale, il responsabile dello stabilimento di macellazione, nonché del proprietario o il detentore degli animali che nel corso di ispezioni e dei prelievi necessari non cooperano o adottano comportamenti ostruzionistici	da € 1.018 a € 6.197,00

Infatti, senza una sicura ed incontrovertibile identificazione dell'animale qualunque corpus normativo perde molta della sua efficacia, in quanto non viene garantita la "tracciabilità" dell'animale stesso. La Banca dati dell'anagrafe equina, una volta a regime, consentirà di affrontare questo annoso problema, ma, a nostro avviso, la soluzione più sicura per il consumatore, e che spazzerebbe via le molte incertezze interpretative della normativa, sarebbe quella di destinare al consumo umano soltanto la carne equina proveniente da allevamenti da ingrasso, soggetti quindi in tutto e per tutto a quanto stabilito dalla legislazione vigente.

In tale contesto i servizi veterinari sono coinvolti in prima persona e per questo motivo abbiamo ritenuto di affrontare l'argomento farmacotossicologico alla luce della vigente normativa ritenendolo nell'insieme un ulteriore, valido "pacchetto" a supporto del "pacchetto igiene". A tal fine ci preme sottolineare la indispensabile collaborazione tra i Servizi Veterinari Ufficiali, i Veterinari liberi professionisti e gli Imprenditori del settore. Sarà per tutti un grosso vantaggio, soprattutto per l'immagine e la sicurezza delle produzioni.

RIASSUNTO

Gli autori prendono in considerazione e valutano le disposizioni legislative in quello che hanno definito il "Pacchetto Farmaco": il Decreto del Ministero della salute 4 marzo 2005 relativo alla "revisione dei medicinali per uso veterinario", il Decreto Legislativo 16 marzo 2006 n. 158 di "attuazione della direttiva 2003/74/CE, concernente il divieto di utilizzazione di talune sostanze ad azione ormonica, tireostatica e delle sostanze beta-agoniste nelle produzioni animali" e il Decreto Legislativo 6 aprile 2006 n. 193 di "attuazione della direttiva 2004/28/CE recante codice comunitario dei medicinali veterinari".

SUMMARY

The authors take into consideration the rules regarding the so called "management of the Veterinary-drugs": the Decree of the Italian minister of health dated March, 4 2005 regarding the new rules on the management of the veterinary drugs, the Decree n 158 of the Italian parliament dated March, 16 2006 the , which take into force the directive 2003/74/CE regarding the ban on production and importation of meat derived from animals treated with growth-promoting hormones or similar substances, and the decree n 193 of the Italian parliament dated April, 6 2006 which take into force the directive 2004/28/CE reporting the European veterinary drugs codes.

BEHAVIOURAL PROFILE OF THE AGGRESSIVE DOG: A REVIEW

Barbieri M.¹, Gandolfo A.¹, Bracchi P.G.²

INTRODUCTION

Aggression in dogs is the most serious behaviour problem that pet owner and the entire society must deal with. Within the population the sensitivity to aggressive behaviour in dogs has increased.

The authorities are confronted with a problem: if any incident occurs it is their task to decide whether the dogs involved constitute a real threat to other people and what are the causes and men's responsibilities(1).

Rarely a dog is aggressive of its nature, what brings it to an anomalous and dangerous behaviour for the society is a complicated course of experiences; humans often worsen this behaviour with inexperience, incapability of management or cruelty. We will explain how deviant behaviours in the owners are associated with deviant behaviours in dogs.

It is important to notice that the dog has a complex personality that is the resultant of the temperament (the innate abilities) and of the character (given by the experience). The two components lead up to a wide variability of expression not easy to appreciate.

During last years, the matter is becoming more and more up to date and of interest not only for the insiders, but also for the owners. Finally we start to realize how and how many are men's responsibilities on events.

INTRODUZIONE

L'aggressività nel cane rappresenta un grave problema sociale che non riguarda solo i possessori, ma l'intera comunità; ogni anno sono sempre di più le aggressioni verso l'uomo, ma sappiamo che solo una parte di queste sono denunciate.

Le autorità sono di fronte ad un problema e se si verifica un incidente il loro compito è di valutare se il cane coinvolto costituisce una reale minaccia sociale.

Bisogna cercare di capire quali sono le cause scatenanti e valutare le responsabilità dell'uomo e del cane (1).

Difficilmente un cane è aggressivo di natura e ciò che lo porta ad un comportamento anomalo e pericoloso per la società è un complicato percorso d'esperienze che lo trasformano, in questo incide l'uomo con la sua inesperienza, incapacità di gestione o crudeltà.

1 Medico Veterinario Libero Professionista, e-mail: mary.barbieri@yahoo.it

1 Medico Veterinario Libero Professionista, e-mail: aacisuan@virgilio.itt

2 Dipartimento di Produzioni Animale, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e sicurezza degli Alimenti.
Facoltà di Medicina Veterinaria di Parma, e-mail: pg.bracchi@unipr.it

E' importante spiegare che il cane ha una personalità complessa che è la risultante del temperamento (insieme delle capacità innate) e del carattere (dato dall'esperienza). L'intreccio delle due componenti porta ad una variabilità d'espressione alquanto ampia e non certo facile da valutare.

Recentemente l'argomento sta diventando sempre più attuale e d'interesse non solo per gli addetti al settore, ma anche per i proprietari e finalmente si comincia a comprendere quante e quali sono le responsabilità dell'uomo sugli eventi.

Definition of aggression

Canine aggression is the most common behavioural problem in dogs and it is the most dangerous one in pet dogs. It is important to understand the social context in which aggression is shown, it could be an appropriate response in certain context or a completely out of context response. This manifestation is classified as aggressive behaviour that allows the animal to modify the environment.

It is important to notice in what circumstances the aggressive behaviour occurred and which internal or external stimuli caused the animal to fight.

From a biological point of view, environmental and learning effects are always superimposed upon genetic influences(3).

Aggressive behaviour could be divided in a behavioural cycle composed of three phases:

1.Appetitive phase (intimidation phase): (growling, hackles raised, tail and ears erect, teeth bared) raised from a strong stimulus. It comes from experience, sensitive homeostasis and motivations at the same time; all this leads to a reaction(2).

2.Consummatory phase (attack phase): the dog charges its adversary and attempts to grab him.

3.Refractory phase (appeasement phase): voluntary cessation of the consummatory response.

A dog that has behavioural problems shows the entire sequence even if the other side submits.

Considering the motivations the following categories of aggression are recognized(2):

1.Dominance aggression: related to social hierarchies. When this behaviour is associated with people the targets are: arms, shoulders, neck and head (face).

2.Irritable aggression: caused by pain, privation and frustration. The hierarchical status is not influential. The behavioural cycle is complete.

3.Territorial and maternal aggression: in the first one the dog protects properties and boundaries and shows aggression when a stranger approaches its territory. In the second case it is a type of aggression related to pups and it's more weak. The behavioural cycle may be complete or not.

4.Fear aggression: it is associated with intermittent anxiety. The dog will look for an escape route and it becomes dangerous if cornered. The intimidation phase is missing, the attack is unexpected, the only premonitory signal is mydriasis.

Causes of the aggressive behaviour

The origin of the aggressive behaviour must be evaluated considering all the outbreaking factors, single causes or the complex conditions in which aggressive behaviour occurs.

First of all we have to distinguish anatomical-physiological diseases from personality diseases that we will discuss(4).

Anatomical and physiological diseases are: neurological disorders, masses, infectious disease, nutritional causes, toxins, encephalopathies, congenital disease, hormones, traumatic disease and genetic factors.

Considering personality it is the resultant of the interaction of the instincts and the environment, concerning the totality of traits and the habitual mode of behaviour with social connotations. Personality is becoming relevant these last years capturing the attention of scientists and also pets owners.

Assessing undesirable behaviours it must be considered age, sex, reproductive status and breed(5).

Factors contributing to the likelihood of development of dog aggression include:

- 1 Lack of socialization.
- 2 Strayness.
- 3 Traumatic experiences (abandonment, abuse from owners)
- 4 Anxiety, fear or phobia.
- 5 Dominance territorial behaviour.
- 6 Breeding and genetic predisposition.

Definition of personality

In human psychology personality is the totality of two components: temperament and character (6).

Temperament means all natural aspects genetically determined that lead to a certain reaction to a stimulus (intensity, frequency and stimulus response); whereas character comes from experience. So personality traits can be thought of as aggregated summary trends in behaviour capturing an individual's characteristic patterns of behaviour that persist across time and situations (7).

In literature there are disparate work on canine temperament to identify specific patterns, proposing several frameworks also considering the breeds and physiological characteristics to know the structure and biology of basic processes (8,9,10).

- A study observed the behaviour of dog puppies and wolf pups hand raised and intensively socialized in a identical way at age 3, 4, and 5 weeks demonstrating that already at this early age there are specific behavioural differences between wolves and dogs mostly with regard to their interactions with humans(11).

- A comparison of the behavioural profiles of purebred dogs in different geographic context suggested that the genetic basis of breed-specific temperamental traits is manifested irrespective of the cultural or regional identities of the owners(12).

- A research evaluating behaviour and temperament in guide dogs considering eight stable and interpretable common factors confirmed that such method can provide useful and accurate means of predicting the suitability of dogs for guiding work(13).

- Personality tests for dogs can assess a dog's personality improving pet matching and enhancing animal welfare.

- Another research made on dogs in rescue shelters studied behavioural differences between individuals and tried to predict the affinity between the dog and the potential owner (14,15,16,17). It was based on the observation in different situations of some dogs in the kennels comparing their reactions. They deduced that individual variability is very ample and this depends on the variety of the origin of the animals. The subjects of stray origin resulted to be likely independent - dominant and not aggressive. The group originally coming from a family and then ended in the kennel has shown a more playful and sociable temperament with humans.



Do dogs suffer from dual personalities?

It seems clear that personality is the resultant of genetic and environmental factors. An enormous variability not only exists within the breeds themselves, but also inside the same breed; not all the Retrievers are affectionate and not all Dobermanns are aggressive.

What has been said till now let us understand the complexity of the bases and the events that form the personality of a dog and how humans weigh on personality development (18).

The individual abilities of a subject and the experience that it acquires above all during the first months of life are important for the development of a social behaviour that allows him to relate interspecies and extra-species.

Definition of socialization

Socialization is the process whereby the pups learn to get along with and behave similarly to other dogs and to deal with people in a social context through teaching and imitation.

The knowledge of the first moments of the life of an animal can help to understand how the aggressiveness develops and how to correct it.

Socialization began at 3 weeks of age when the dog starts to interact with other dogs; between week 5 and week 7-12 dogs do best learning how to interact with people. The dog should be brought home at week 7 or week 8 so that the dog can socialize with the family; but there is not any reason to wait to expose dogs to people until week 7: the exposure should be done before, in that way the dog can socialize with humans and learn about the environment in which is going to live. At 12 weeks of age socialization period ends. Sexual maturity is reached at 12-15 months of age when the dog is considered an adult.



Socializzazione Interspecifica, Extraspecific Socialization

Inter and extra-specific socialization is essential for the acquisition of the fundamental elements that bring to the construction of the social structure of an individual, without that he could not relate to others(2).

During this tortuous and complex period starts the acquisition of:

- The self-control, if stimulated it has a reaction and then a phase of arrest;
- The communication, inter and extra-species;
- The hierarchical status, a social animal must learn some rules that allow him to relate and to integrate with the others(2).

The tight correlation between man and animal affects the development of the personality of the dog and its possible undesired behaviour(19).

To face this stiff matter comparative studies have been made adding new and interesting theories, enriching more and more the term of personality and feeding the debate about the most correct terms to define personality focusing on objectivity(20).

Aggressive dog identity

There are determined symptoms that should be never ignored or underestimated, they are those that put us in alarm: excessive barking, excitability, frequent attempts to pursue objects in movement as bicycles, cars and trucks, having fear in

presence of extraneous or new situations, possessive temperament; releasing to protect the food, growling when given commands; attempting to mount on the owner's leg, excessive predatory activity, destructive temperament; attacking other dogs and inter and extra specific attacks.

In various studies, the presence of one or more of these attitudes, is a source of statistic elaborations that helps to classify races and single subjects that are at a high risk of aggression(21, 22).

When in presence of one or more of these situations it is strictly recommended to contact the veterinarian or a behaviourist that will help us to understand where we failed in our animal training. Greatest part of the biting problems, even directed to the owner, is shown when the dog has been raised as a spoiled child and it reaches the sexual maturity

When they reach sexual maturity they become adults and they are not prepared to lose what they have conquered, it would be a sign of demotion on the inside of its own group and in its mind this is not conceivable. Another frequent error is to maintain the animal separated by the others not allowing itself to socialize with others: isolation brings not to recognize its similar and leads the isolated one to feel superior.

The familiar environment (stress, nervousness) and the equilibrium of its components influence the mental state of the dog.

Victims of the aggressions

A dominant person on the dog has a great control on it in comparison to others: who doesn't have the necessary authority or it is fearful it is to consider the first category at risk.

Inside this category there are old people, children, handicapped and women; above all in presence of a male dog.

The categories at risk can be classified by 1 to 5 in the following increasing order(23, 24):

1. Adult men;
2. Adult women, people with little-middle handicap;
3. 6 year-old children or older, old people, people with middle handicap;
4. Children from 3 to 6 year-old, people with serious handicap;
5. Up to 3 year-old children, people with serious handicap.

A study made on boys up to 18 year-old victims of aggressions reported that the most hurt are children younger than 6 year-old and that the causes were food and territoriality.

Besides it comes out that the majority of the dogs had never bitten children or human beings before(25).

Prevention and behavioural treatment

We often believe to be good owners, that have the situation under control, but our inexperience and idleness cause many problems in our dog.

There have been born some apposite schools for dogs and owners, where it is taught to the owner how to communicate with his pet.

It is easy to understand that we are the actual problem: the dog learns from us, if communication lacks, information doesn't reach the final destination (the dog) and the consequences are often serious.

It is essential to contact an expert that mediate between us and the dog and teaches us how to understand and to deal with it.

People in this circumstances normally consult a trainer; in our experience we have known a very excellent and skilled one capable to re-educate desperate cases that no one trusted to improve. He is Aldo Taietti from "Arma dei Carabinieri", known for his great experience on training. People turn to him to simply educate his own pup and both to train the ones with the problems until now discussed.

The training is the military one, it provides education and socialization. The phases of the training are: socialization, obedience, establishing a hierarchy inside the group and imposing some basic orders.

During these meetings among the owner and animal is established a strong and balanced relationship that continues to develop eliminating the adverse attitudes.

Different factors influence the therapeutic success and the evaluation of the improvement is usually subjective(26).

The elements to be considered are: the owner's collaboration, age of onset of the symptoms and prediction, duration and intensity of the attacks.

In the treatment of the behavioural problems there are three fields that we can manage(27):

- 1.The physical environment: if it is rich of negative stimuli that can instigate aggressiveness they must be decreased or eliminated.

- 2.The desensitization decreases the answer produced by a gradual exposure to the stimulus that provokes the reaction. The backward-conditioning is a method where a negative attitude is controlled or eliminated. You teach the execution of another behaviour (divergent, pleasant) that interferes competitively with the execution of what is wanted to eliminate; it is often associated to the desensitization. Flooding is carried out by exposing the subject longer to the stimulus so that to provoke the reaction, up to the disappearance of the same reaction. The punishment helps decreasing the probability that a wrong behaviour will be happening in the future, it must be applied within 60 seconds from the inconvenient expression. Timeliness, constancy, suitable intensity and conditioned answer are essential

- 3.The pharmacological intervention can be endogenous or exogenous, the first one refers to castration, while the second to drug administration.

CONCLUSION

In the last few years the domestic dog aggressiveness, and the search of the causes, begin to arouse more and more interest not only in the specialists of the sector, but in the whole public opinion; that led to the study of the behavioural profile of the aggressive dog with particular attention for personality. It is the combination

between genetic factors (temperament) and environmental factors (character); it is easy to realize how many variables must be considered and how difficult it is to reach the right conclusions; for this reason many studies have been made on this subject.

Rarely a dog is aggressive of its nature, what brings it to an anomalous and dangerous behaviour for the society is a complicated course of experiences: in fact not all the Retrievers are affectionate and not all Dobermanns are aggressive.

Often the only possibility to solve the problem is to address to a behaviourist that explains what mistakes have been done, how to find a remedy for them and can advice on the type of dog to choose, not only evaluating the race, but on the ground of his experience.

CONCLUSIONI

Negli ultimi anni l'aggressività del cane domestico e la ricerca della causa scatenante interessano sempre di più non solo gli specialisti del settore, ma l'intera opinione pubblica; ciò ha portato allo studio del profilo comportamentale del cane aggressivo con particolare attenzione per la personalità; essa è la risultante del fitto intreccio tra fattori genetici (temperamento) ed ambientali (carattere); è facile capire quante sono le variabili da prendere in considerazione e quanto è difficile trarre le giuste conclusioni, per questo motivo si fanno molti studi sull'argomento.

L'argomento è ampiamente studiato.

Spesso l'unica possibilità di risolvere il problema è rivolgersi ad un comportamentalista che spieghi quali errori sono stati commessi, come porvi rimedio e ci indirizzi sul tipo di cane da scegliere, non solo in base alla razza, ma in base alla nostra esperienza.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Schalke E., Hackbarth H. (2006) Recognizing and assessing aggressive behaviour in dogs. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 113(3):98-100.
- 2) Pageat P. (1999) Patologia comportamentale del cane. *Point Veterinarie Italie*, (3):138, (1):18-21, (3):138-144, (1):18-21, (1):31-33.
- 3) Feddersen-Petersen DU. (2001) Biology of aggression in dogs. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 108(3):94-101.
- 4) Dodman N.H., Shuster L. (2000) *Farmacologia comportamentale*. Edizioni Veterinarie Masson.
- 5) Bamberger M. e Houpt K.A. (2006) Signalment factors, comorbidity, and trends in behavior diagnoses in dogs: 1.644 cases (1991-2001). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 15:229
- 6) De Palma C., Viaggiano E., Bacillari E., Palme R., Dufour A.B., Fantini C., Natoli E. (2004) Osservazioni etologiche per determinare il temperamento di cani residenti nel pubblico canile e ospedale veterinario. *Progresso veterinario*.
- 7) Gosling S.D. (1998) Personality dimension in spotted hyenas (*Crocuta crocuta*). *Journal of Comparative Psychology*, 112:107-118.
- 8) Jones A.C., Gosling S.D. (2005) Temperament and personality in dogs (*Canis*

- Familiaris): A revive and evaluation of past research. *Applied Animal Behaviour Science*, 95:1-53.
- 9) Mackenzie S.A., Oltenacu E.A.B., Houpt K.A., (1986) Canin Behavioral genetics-a review. *Applied Animal Behaviour Science*.
 - 10) Corr P.J., Perkins A.M. (2006) The role of theory in the psychophysiology of personality: from Ivan Pavlov to Jeffrey Gray. *Int. J. Psychophysiol.*, 62(3):367-376.
 - 11) Gacsi M., Gyori B., Miklòsi A., Virányi Z., Kubinyi E., Topál J., Csányi V. (2005) Species-specific differences and similarities in the behavioural of hand-raised dog and wolf pups in social situations with humans. *Dev. Psychobiol.*, 47(2):111-122.
 - 12) Takeuchi Y., Mori Y. (2006) A comparison of the behavioral profiles of purebred dogs in Japan to profiles of those in the United States and the United Kingdom. *J. Vet. Med. Sci.*, 68(8):789-796.
 - 13) Serpell J.A., Hus Y. (Jun. 2001) Development and validation of a novel method for evaluating behavior and temperament in guide dogs. *Appl. Anim. Behav. Science*, 72(4):347-364.
 - 14) Blackshaw J.K. (1996) Developments in the study of human-animal relationships. *Applied An. Behav. Science*.
 - 15) Blackshaw J.K.S., Goodwin D. (1998) Determination of behavioural traits of pure-breed dogs using factor analysis a comparison of studies in the USA and UK. *Research in Vet. Science*.
 - 16) Endenburg N., Knol B.W. (1994) Behavioural, household, and social problems associated with companion animals: non-owners. *Veterinary Quarterly* 16: 130-134.
 - 17) Van De Borg J.A.M., Netto W.J., Planta D.J.U. (1991) Behavioural testing of dogs in animal shelter to predict probability. *Animal Behaviour Science*, 32:237-251.
 - 18) Gosling S.D., Kwan V.S.Y., John O.P. (2003) A dog's got personality: A cross-species comparative approach to evaluating personality judgments. *Journal of Personality and Social Psychology*, 85: 1161-1169.
 - 19) Gosling S.D., John O.P. (1999) Personality dimension in non-human animals: A cross-species review. *Current Directions in Psychological Science*, 8: 69-75.
 - 20) Gosling S.D., Vazire S. (2002) Are we barking up the right tree? Evaluating a comparative approach to personality. *Journal of Research in Personality*, 36: 607-614.
 - 21) Overall K.L. (2001) La clinica comportamentale del cane e del gatto, E.G. Edizioni Medico Scientifiche, (6):144-184.
 - 22) Stur I., Kreiner M., MayrHofer C. (1989) Investigation in to judging temperament parameters in dogs. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*, 76:290-294.
 - 23) Dehasse J. (2002) L'enfant et l'animal. Zoopsy, Bordeaux.
 - 24) Bertani C., Bracchi P.G. (1999) Dog's aggressiveness towards man. Diagnostic methods and preventive suggestions. *Annali di Facoltà di Medicina Veterinaria di Parma Vol. XIX*, (57 - 80).
 - 25) Reisner I.R., Shofer F.S., Nance M.L. (2007) Behavioral assessment of child-

- directed canine aggression. *Inj. Prev.*, 13(5):348-351.
- 26) Beraver B.V. (1983) Clinical Classification of canine aggression. *Appl. Anim. Ethol.*, 10:35-43.
- 27) Osella M.C. (1998) *Terapia dei problemi comportamentali*. Edizioni Scivac.

TEMPI DI CICATRIZZAZIONE DEL CORDONE OMBELICALE NEI VITELLI DI RAZZA FRISONA

DRIYNG AND CICATRIZATION TIMES OF UMBILICAL CORD OF CALVES OF BREED FRISIAN

BURSI ELEONORA¹, ZANNETTI GIUSEPPE², PALESE ALESSANDRO³

PAROLE CHIAVE:

cicatrizzazione, cordone ombelicale, vitello

KEY WORDS:

cicatriziation, umbilical cords, calf

RIASSUNTO:

Gli AA. riferiscono le modalità ed i tempi di formazione della cicatrice ombelicale dei vitelli di razza Frisona anche alla luce della normativa comunitaria.

Gli animali oggetto dello studio hanno presentato tempi medi di cicatrizzazione di 30,4 giorni (range 12-64, mediana 30), con ulteriori differenze secondo il sesso e alcune pratiche di allevamento, come la medicazione del moncone ombelicale con antibiotici.

Perciò, la movimentazione dei vitelli prima della cicatrizzazione dell'ombelico contrasta con le norme inerenti il benessere e la protezione di questi animali, in particolare il Regolamento (CE) n. 1/2005 del Consiglio, del 22 dicembre 2004, sulla protezione degli animali durante il trasporto e le operazioni correlate, che modifica le direttive 64/432/CEE e 93/119/CE e il Regolamento (CE) n.1255/97.

SUMMARY:

The AA. report about the cicatrization times in Frisian calfs, also in the perspective of UE laws and regolaments.

The animals observed in this study had middle cicatrisation time of 30,4 days (range 12-64, median 30) and there are some differences between the sex and the practice of antibiotal treatment of umbilical stump.

The calfs transport for commercial purposes before these times of complete cicatrization of umbilical wound, therefore, violate the laws concerning welfare

1 DOTTORANDA DI RICERCA IN "SCIENZE MEDICHE VETERINARIE", CURRICULUM "NORMATIVE DEI PAESI DELLA UE RELATIVE AL BENESSERE E PROTEZIONE ANIMALE" ALL'UNIVERSITA' DI MESSINA

2 PROFESSORE ORDINARIO DI PATOLOGIA MEDICA VETERINARIA ALL'UNIVERSITA' DI PARMA

3 MEDICO VETERINARIO LIBERO PROFESSIONISTA PARMA

and protection of this animals, particularly the Council Regulation (EC) NO 1/2005 of December 2004 on the protection of animals during transport and related operations and amending Directives 64/432/CEE and 93/119/CE and Regulation (EC) NO 1255/97.

PREMESSA

La normativa inerente la protezione ed il benessere degli animali d'interesse zootecnico è costituita da un corpus legislativo che considera separatamente le diverse fasi della carriera degli animali da reddito: allevamento, trasporto e macellazione, anche con indicazioni inerenti alle singole specie.

Tali norme si sono recentemente arricchite del Reg. 1/2005/CE che tratta, in particolare, del benessere degli animali durante il trasporto effettuato con finalità commerciali.

Per quanto attiene specificamente ai vitelli, la formazione della cicatrice ombelicale è uno dei requisiti d'idoneità al trasporto richiesti appunto dal Reg. 1/2005/CE per tutelarne il benessere. L'allegato I, capo I, art. 2, lettera d ed e, di questo Regolamento, infatti, considera come inidonei al trasporto "i mammiferi neonati il cui ombelico non è ancora completamente cicatrizzato" e, ancora più precisamente "i vitelli di meno di dieci giorni, a meno che non siano trasportati per percorsi inferiori a 100 Km".

In realtà, nella pratica dell'allevamento del vitello da carne, la vendita e il relativo trasporto dall'allevamento di origine a quello di ingrasso si compie di norma dopo lo scostramento, sicuramente dopo il decimo di vita, ma senza considerare il grado di cicatrizzazione dell'ombelico, peraltro richiesto esplicitamente dalla normativa comunitaria sopra citata.

Per portare un contributo a chiarire questo aspetto non secondario dell'allevamento del vitello, nella presente ricerca si sono studiati con osservazioni in campo i tempi e le modalità della cicatrizzazione dell'ombelico in condizioni reali di produzione del vitello di razza Frisona italiana. Questi animali, in effetti, nascono come prodotto "collaterale" degli allevamenti di vacche da latte della pianura emiliana, da dove vengono avviati in tempi brevissimi a impianti zootecnici per la produzione di carne, spesso distanti molte decine di chilometri dall'azienda di origine.

RICHIAMI ANATOMO-FISIOLOGICI

Il cordone o funicolo ombelicale, derivante dal peduncolo ventrale dell'embrione, ha la funzione di connettere lo stesso agli annessi embrionali e alla placenta e contiene i vasi che garantiscono gli scambi vitali del feto.

Inizialmente sono presenti due peduncoli: il peduncolo vitellino contenente i vasi vitellini e quello allantoideo, contenente i vasi allantoidei o vasi ombelicali.

Nella fase di delimitazione, l'embrione si ripiega cranialmente e caudalmente, determinando la fusione del peduncolo allantoideo con quello vitellino e la formazione del cordone ombelicale (5).

Nel bovino, il cordone ombelicale è lungo 20-40 cm e ha uno spessore di

2-2,5 cm ed è costituito dalla sola parte amniotica, che si estende dall'ombelico fetale all'amnios, dove i vasi si suddividono per raggiungere le varie regioni della placenta. Esternamente il cordone ombelicale è rivestito dall'amnios ed ha un aspetto liscio, eccetto che nella zona dell'anello ombelicale, punto d'inserzione prossimale del cordone sull'ectoderma cutaneo del feto, dove si presenta più ispessito (4).

Inizialmente all'interno del cordone ombelicale si distinguono l'uraco o peduncolo allantoideo, i vasi ombelicali, rappresentati da due vene ombelicali e due arterie ombelicali, i vasi vitellini ed il peduncolo vitellino (5) ma, in tempi successivi, i vasi e il peduncolo vitellino si obliterano, determinando la formazione del cordone ombelicale definitivo.

L'uraco origina dalla vescica del feto e si porta al sacco allantoideo.

Le due arterie ombelicali nascono dall'aorta, si portano lateralmente alla vescica, raggiungono l'ombelico e decorrono all'interno del cordone ombelicale. All'inizio della vita embrionale ci sono anche due vene ombelicali, delle quali la destra regredisce e persiste solo la sinistra, derivante da due radici che si uniscono all'interno del cordone (1).

A seguito dello strappamento del cordone alla nascita, le due arterie ombelicali grazie alla loro tunica muscolare si contraggono, ritraendosi all'interno della cavità addominale.

La vena ombelicale, invece, rimane adesa all'anello cutaneo e il trombo che si forma può costituire il punto di partenza per eventuali processi infiammatori-infettivi (4).

Tutte le strutture vascolari del cordone ombelicale sono immerse in uno stroma di tessuto connettivo non vascolarizzato e non innervato, che prende il nome di "gelatina di Wharton" (tela mucoidea connectens) (1), costituita da fibre sottili e lasse con cellule connettivali stellate.

All'inizio della gestazione, questo materiale è mucoso e parzialmente scavato dal celoma extraombelicale, dove è impegnata un'ansa intestinale su cui è inserito il peduncolo vitellino. Quando detta ansa intestinale rientra in cavità addominale, il cordone diventa pieno e la gelatina appare più densa e ricca di cellule ma, al termine della gravidanza, si ha una rarefazione del numero delle cellule ed il tessuto acquisisce una struttura lamellare attorno ai vasi ed aureolare in periferia (1).

Alla nascita, il moncone del cordone ombelicale del vitello si presenta umido, flessibile, luccicante e di colore roseo-rossastro, lungo circa 10 cm. Dopo poche ore inizia il processo di disidratazione e la parte distale del cordone tende ad assumere un aspetto raggrinzito e di colore marrone scuro. Trascorso un tempo massimo di 72 ore, il cordone presenta per tutta la sua estensione un aspetto disseccato, anelastico, raggrinzito e nerastro. Durante i mesi più caldi, le modificazioni sopradescritte si sviluppano in tempi più rapidi. Anche il testo europeo di riferimento in materia, il trattato di Mornet, Espinasse e coll. (1987), conferma che i tempi di involuzione ed essiccamento del cordone ombelicale sono compresi fra 7-8 giorni per quanto riguarda proprio l'essiccamento, mentre il conseguente distacco del residuo stesso si verifica verso il 14° giorno dalla nascita.

A seguito del distacco del moncone del cordone si verifica la formazione di una crosta, dopo la cui caduta si apprezza la presenza di un fine tessuto di granulazio-

ne di colore roseo, che persiste fino alla formazione della cicatrice ombelicale definitiva. In effetti, nel punto in cui il cordone essiccato si stacca, ancora secondo Mornet e coll. (1987), residua una crosta che persiste, con una lenta involuzione, fino a tutto il primo mese di vita, quando si realizza la cicatrizzazione completa e definitiva dell'ombelico, ovviamente salvo complicazioni da infezione locale. Solo da questo periodo in poi (comunque oltre 30 giorni dalla nascita!), l'ombelico appare "del tutto cicatrizzato" e, quindi, "in linea" con quanto prescrive testualmente la normativa in vigore sopra citata per il riconoscimento dell'idoneità dei vitelli al trasporto.

MATERIALI E METODI

Le nostre osservazioni sono state eseguite fra il 18/02/2006 ed il 30/11/2006, periodo in cui è stato rilevato il tempo di formazione della cicatrice ombelicale di 194 vitelli da latte di razza Frisona di nove aziende zootecniche di vacche allevate per la produzione di formaggio Parmigiano-Reggiano, di cui quattro ubicate nella provincia di Parma e cinque nella provincia di Reggio Emilia. Di ogni azienda sono state rilevate le condizioni igieniche ambientali, il tipo di gestione dei vitelli e di ricoveri destinati agli stessi, nonché le pratiche in uso nelle singole aziende per la gestione del moncone ombelicale, con particolare riguardo alla sua disinfezione sistematica con spray medicati.

Dei 194 vitelli, 159 (82.0%) erano femmine e 35 (18.0%) maschi di cui 2 gemelli.

La sproporzione fra il numero dei vitelli maschi ed il numero dei vitelli femmine è dovuta proprio al fatto che i vitelli che sono stati seguiti in tutta la sequenza delle osservazioni previste nella ricerca erano i "superstiti" di una precoce cessione dei vitelli, soprattutto i maschi, agli allevamenti specializzati per la produzione di carne.

MODALITA' DI ALLEVAMENTO DEI VITELLI

I vitelli erano alimentati con latte artificiale ricostituito somministrato dal personale tramite biberon o con "balia" meccanica.

La lettiera costituita da paglia e truciolo è stata sostituita ad ogni rimonta.

Dei nove allevamenti in cui sono state eseguite le nostre osservazioni, sette erano a stabulazione libera e due con stabulazione alla posta, quattro erano di dimensioni medio-grandi con 200-260 vacche in lattazione; gli altri erano di dimensioni più ridotte (circa 50 capi).

In quattro allevamenti i vitelli erano tenuti accanto alla madre per il tempo necessario a consentire la suzione del moncone di cordone ombelicale, secondo una pratica tradizionale in uso in queste zone; nei rimanenti allevamenti i vitelli erano allontanati dalle madri subito dopo la nascita.

In tutti gli allevamenti considerati, infine, i vitelli ancora non ceduti per il ristallo dopo il 15° giorno di vita erano trasferiti in recinti esterni con fondo in grigliato.

Solo in cinque allevamenti le condizioni igieniche erano da considerare

buone; in due aziende il moncone del cordone ombelicale era medicato alla nascita con spray a base di tetracicline.

RISULTATI

I risultati della presente ricerca sono riportati nella tabella n. 1 e nel grafico n. 1.

DISCUSSIONE

Alla luce dei dati emersi nel corso della presente ricerca, l'identificazione dei diversi momenti del processo riparativo che si sviluppa dopo la nascita a carico della breccia ombelicale nel vitello di razza Frisona italiana non è priva di significato se si considera che sia l'involutione del moncone ombelicale, sia la presenza della crosta ombelicale costituiscono altrettante breccie anatomo-funzionali e, comunque, importanti punti di minore resistenza nei confronti di aggressioni microbiche; da queste insorgono, infatti, complicazioni onfalitiche e onfalovascolitiche che costituiscono per se stesse una parte consistente della patologia neonatale del vitello.

Queste breccie, dunque, non possono considerarsi definitivamente chiuse fino a quando non si sia completato il processo cicatriziale e sia definitivamente caduta la crosta che "protegge" il sottostante tessuto di granulazione.

Quest'ultimo risultato è stato conseguito in tempi significativamente più lunghi nelle femmine in media 31,30 giorni (range 16-48, mediana 30), in quanto nei vitelli maschi è stata riscontrata una media di 26,4 giorni (range 12-44, mediana 26). Detta differenza ha consistente significatività statistica ($R = -0.2417$, $R\text{-quadrato} = 0.0584$, $P = 0.0007$), ma non coincide con quella risultante dai dati emersi dalle ricerche di Hides e coll. (2005) in Australia, le sole eseguite di recente sullo stesso argomento. In effetti, questi AA. hanno rilevato tempi di cicatrizzazione della ferita ombelicale più lunghi per i maschi, anche se le condizioni di allevamento e gli stessi animali, ancorché definiti di razza Frisona, sembrano presentare differenze consistenti, in quanto nel Paese in questione dominano caratteristiche da allevamento semi-brado.

Di particolare interesse sono i dati inerenti agli effetti della medicazione del cordone ombelicale alla nascita con spray a base di tetracicline. I soggetti così trattati hanno presentato tempi di formazione della cicatrice ombelicale più lunghi rispetto ai vitelli il cui cordone non è stato medicato: infatti la media di detti tempi nel gruppo dei vitelli trattati è stata di 31 giorni (range 12-64, mediana 31), mentre nei vitelli non trattati è stata di 28 giorni (range 18-53, mediana 27), come conferma alla regressione logistica il confronto fra i tempi di cicatrizzazione, che è risultato significativamente più rapido nei vitelli il cui moncone del cordone ombelicale non è stato medicato ($R = -0.2115$, $R\text{-quadrato} = 0.0447$, $P = 0.0031$).

* * * *

Per quanto attiene alle implicazioni normative e medico-legali delle osservazioni sopra discusse, si mette in evidenza il confronto fra queste e la normativa UE più recente sull'argomento, in particolare quanto disposto dal Reg. 1/2005/CE sulla protezione degli animali durante il trasporto.

Dai dati sopra discussi risulta chiaramente che la cicatrizzazione completa della breccia ombelicale può essere obiettivamente molti giorni dopo il termine indicato dalla norma sopraccitata e, perciò, qualunque movimentazione di vitelli, almeno quelle motivate da finalità commerciali e che si sviluppano fuori dell'azienda di origine prima dei tempi riportati nel presente studio, si realizza in spregio della suddetta normativa.

E' evidente, dunque, che il Regolamento 1/2005/CE, attuativo della norma in questione, è stato discusso e approvato senza tenere conto di una pratica largamente diffusa nel nostro Paese, quella dell'allevamento del vitello da carne proveniente da allevamenti di bovini da latte, dai quali i vitelli devono essere allontanati il più rapidamente possibile dopo lo scolostramento, sia perchè sono privi di strutture e di procedure aziendali specifiche per i vitelli che non siano quelli da rimonta, sia per soddisfare esigenze di costi di acquisto da parte degli "ingrassatori" di vitelli.

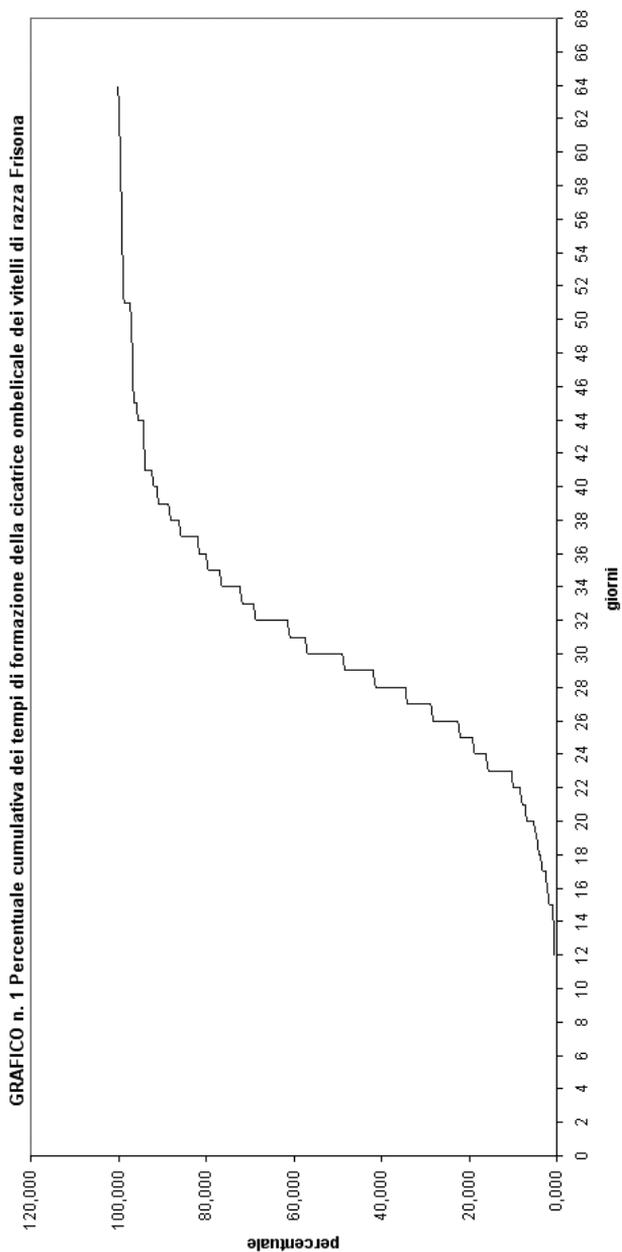
Si tratta di un problema che merita l'attenzione dei tecnici e dei legislatori, prima che possa alimentare lo sviluppo di un contenzioso fra Sanità Pubblica e allevatori di cui la realtà zootecnica di questi tempi non ha alcun bisogno.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Barone R. (1893): Annessi fetali e placenta – in: Anatomia comparata dei mammiferi domestici - 4, Ed agricole, Bologna.
- 2) Hides Sj., Hannah Mc. (2005): Drying times of umbilical cords of dairy calves - Australian Veterinary Journal, 83, 6, 371-375.
- 3) Monnet P., Espinasse J. (1979): Il vitello - Marrapese, Roma.
- 4) Richter J., Gotze R. (1994): Sviluppo del feto - in: Ostetricia veterinaria- Ambrosiana, Milano.
- 5) Soana S. (1990): Evoluzione degli annessi embrionali nei mammiferi - in: Argomenti di embriologia veterinaria - 2° ed, Cusl, Parma.

TABELLA 1. TEMPI DI FORMAZIONE (giorni) DELLA CICATRICE OMBELICALE DEI VITELLI DI RAZZA FRISONA						
	Media	Minimo	25° Percentile	Mediana	75° Percentile	Massimo
TOTALE ANIMALI N 194	30,4	12	26	30	34	64
FEMMINE N 159	31,30	16	27	30	34	48
MASCHI N 35	26,4	12	22	26	30	44
AMMALATI N 15	35,5	18	29	31	44	59
TRATTATI CON SPRAY A BASE DI TETRACICLINA N 146	31	12	27	31	35	64
NON TRATTATI CON SPRAY A BASE DI TETRACICLINE N 48	28	18	23	27	29	53

Didascalia del grafico n.1. Il 100% dei vitelli esaminati presenta la formazione della cicatrice ombelicale a 64 giorni di vita, il 50% a 30 giorni di vita, lo 0,51% a 12 giorni di vita. Nessun vitello presenta la formazione della cicatrice ombelicale al 10 giorno di vita.



THE BRONCHOALVEOLAR LAVAGE (BAL) IN METASTATIC LUNG CANCER INVESTIGATION IN DOGS AND CATS: A RETROSPECTIVE STUDY

Danielski Alan¹, Medina Angel Diaz Otero², Quintavalla Fausto³

RIASSUNTO:

Le metastasi polmonari nella pratica clinica sono rilevate più frequentemente rispetto ai tumori polmonari primari. L'approccio diagnostico si basa tradizionalmente sulla radiografia toracica e sulle indagini citologiche ed istologiche. E' stato effettuato uno studio retrospettivo sui 806 casi clinici oncologici canini (18,3% di tutti i casi) e 108 felini (13,7% di tutti i casi) presentati presso la Facoltà di Medicina Veterinaria di Zaragoza (Spagna) nel periodo 1990-2003 e nel cui protocollo clinico era compreso il lavaggio broncoalveolare (BAL). Lo studio cellulare del liquido ottenuto con il BAL ha permesso di rilevare che nei cani i carcinomi, i sarcomi ed i carcinosarcomi (rispettivamente 59%, 25% e 6,8%) erano le cellule metastatiche neoplastiche più comuni, mentre nel gatto predominavano i carcinomi (88,4%) ed i sarcomi (11,5%). Lo studio retrospettivo ha permesso di riscontrare inoltre che il BAL è un valido metodo diagnostico precoce di neoplasia polmonare primaria maligna e di neoplasia polmonare secondaria rispetto all'esame radiologico.

PAROLE CHIAVE:

lavaggio broncoalveolare, neoplasie, metastasi, cane, gatto

SUMMARY:

Secondary pulmonary metastases are more frequently detected than primary lung tumours. Diagnosis of pulmonary neoplasia, both primary and metastatic, is conventionally based on thoracic radiography, and on lesion-specific cytological or histological examination. During the period 1990-2003, 806 oncological cases in dogs (18.3% of all 4402 presented cases to the Veterinary College of Zaragoza) and 108 cases in cats (13.7% of all 786 cases) were reviewed. Cell type of pulmonary metastatic neoplastic cells collected by bronchoalveolar lavage (BAL) from canine patients demonstrated carcinoma were most common (59%), followed by sarcomas (25%), carcinosarcomas (6.8%) and other neoplastic types (9%). In the cat carci-

(1) Veterinary Surgeon, Verona (Italy)

(2) Departamento de Patología Animal, Unidad de Patología Quirúrgica y Cirugía – Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza (Spain)

(3) Sezione di Clinica Medica Veterinaria – Dipartimento di Salute Animale, Università degli Studi di Parma (Italy)

nomas were even more common (88.4%), followed by sarcomas (11.5%). In this retrospective clinical study, cytologic study of BAL fluid can be considered a useful diagnostic test for early diagnosis of malignant primary or secondary pulmonary neoplasia particularly in comparison with conventional radiographic studies.

KEY WORDS:

bronchoalveolar lavage, neoplasia, metastasis, dog, cat

INTRODUCTION

In small animals primary pulmonary tumours are rare¹: they represent approximately 1% of all diagnosed tumours in dogs² and between 0.01% and 0.38% in the cat³, with an average age at diagnosis of 10 years in the dog⁴ and 11 years in the cat⁵. No breed or sex predisposition has been demonstrated, although Boxer dogs may be overrepresented^{6,7}.

Secondary pulmonary metastases are more frequently detected than primary lung tumours.

This is proposed to be due to the peculiarities of the pulmonary blood circulation, specifically with regard to the filter-like action of pulmonary capillaries on venous blood from the systemic circulation, resulting in entrapment of abnormal particles and cells including emboli and neoplastic cells^{1,7,8,9}. Rarely, pulmonary metastases are solitary. More frequently, they are recognised as multiple nodular formations of variable dimensions, from microscopic to several centimetres in diameter, and may be diffuse throughout all areas of pulmonary tissue⁸.

Mammary carcinomas, malignant melanomas, thyroid, tonsillar, renal, pancreatic and endocrine gland carcinomas are, along with various sarcoma subcategories (chondrosarcoma, osteosarcoma, hemangiosarcoma, fibrosarcoma), the most common primary lesions associated with secondary pulmonary metastasis^{1,7,8}.

Although pulmonary metastasis may be identified together with metastatic disease affecting other organs, in the majority of dogs and cats, the lungs are typically the first and often the only organs affected by metastasis¹⁰.

Occasionally, pulmonary metastasis may be recognised prior to identification of a primary tumour. Recognition of the primary neoplasia may be challenging, and pulmonary metastasis may be the only lesion with current clinical significance¹⁰.

Diagnosis of pulmonary neoplasia, both primary and metastatic, is conventionally based on thoracic radiography, and on lesion-specific cytological or histological examination. Conventional radiography is recognised to have significant limitations, including low sensitivity for lesions of small dimensions, and low specificity for metastatic neoplasia compared with other subcategories of pathology. Computed Tomography (CT), ultrasonographic examination and Magnetic Resonance Imaging (MRI) can help to detect micrometastasis¹¹, but the availability and financial implications of these tests may preclude their use in some patients.

Bronchoalveolar Lavage (BAL) has been proposed to be an useful diagnostic test for investigation of potential early metastatic disease, and carries the potential benefits of low morbidity, minimally invasive nature and low financial cost¹².

Our objective was to evaluate, by a retrospective study, the efficacy of BAL in identifying pulmonary metastatic neoplasias in dogs and cats, in comparison with conventional radiographic examination.

MATERIALS AND METHODS

This retrospective clinical study was performed within the framework of the Erasmus Project funded by EU. Clinical records of all dogs and cats with an oncological diagnosis at the Veterinary College of Zaragoza (Spain) between 1990 and 2003 were reviewed. Data was recorded on a clinical recording document (Fig.1) and included patient anamnesis, cellular morphology and anatomical location of primary neoplasia, duration of clinical signs, time between the initial presentation and identification of metastasis or occurrence of respiratory symptoms, diagnostic techniques used and outcomes of each test performed and findings of collateral tests such as blood tests, radiography and ultrasonography, cytological and histological reports, post-mortem diagnosis when available.

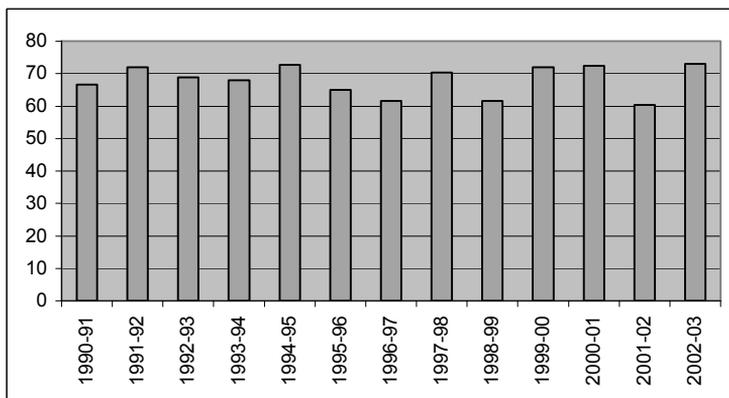
Broncho-alveolar lavage (BAL): BAL was used as a diagnostic test as illustrated in the algorithm in Fig. 2. BAL was performed in dogs and cats under routine general anaesthesia following withdrawal of food for 12-24 hours. Technique involved either visualisation with a flexible, glutaraldehyde-sterilised fiberoptic endoscope or, alternatively, the “blind” method with modified Levin’s tube of variable diameter, depending the animal size¹³ and the availability of an appropriately size bronchoscope. Multiple lungs lobes were lavaged via their main stem bronchi with three boluses of 5-50 ml (depending the size of the animal) of warm saline sterile solution through the biopsy channel of the bronchoscope, after complete bronchoscopic examination, or through the tube. The area most commonly lavaged was the right caudal lung, because passage of the endoscope to the caudal bronchus of this lobe was more easily achieved and because of the gravity-assisted drainage of this lobe due to its anatomical position. After instillation, the fluid was recovered by gentle suction with a 20 ml syringe. The fractions of liquid recovered (BALF) were collected into sterile tubes and put on ice or refrigerated in order to avoid cellular lysis before cytological examination.

RESULTS

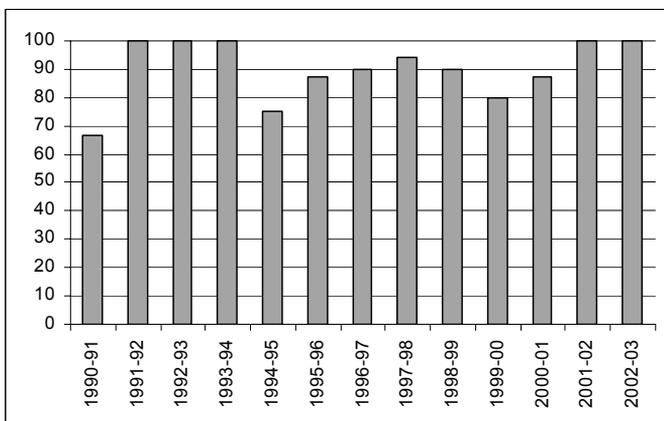
During the period 1990-2003, 806 oncological cases in dogs (18.3% of all 4402 presented cases to the Veterinary College of Zaragoza) and 108 cases in cats (13.7% of all 786 cases) were reviewed. The overall incidence of neoplasia was higher in females (66.4% in dogs and 82.4% in cats) than in males.

Histopathological evaluation revealed an overrepresentation of malignant tumours: in the dog, malignant neoplasias consistently exceeded 60% of total neoplasias identified across all years reviewed, and in cats this ratio was further elevated (Tab. 1 and 2).

Tab.1: Percentage of malignant tumours among oncological dogs from 1990-91 to 2002-03



Tab.2: Percentage of malignant tumours among oncological cats from 1990-91 to 2002-03



Analysis of oncological case histories revealed that 44 dogs (5,5% of the total of oncological cases) and 26 cats (24.1% of the total) had evidence of pulmonary metastatic lesions at initial presentation (after exclusion of primary pulmonary neoplasia), either with identification of primary neoplasia, or without identification of an overt primary source of metastasis (Tab. 3). There was significant variation in incidence according to breed (Tab. 4).

Tab. 3: Clinical findings at initial presentation

	DOGS		CATS	
	No. of cases	%	No. of cases	%
Only primary neoplasia findings	20	45.5%	16	61.5%
Primary neoplasia and metastasis findings	24	54.5%	10	38.5%
Total	44	100%	26	100%

Tab 4: Summary of breeds affected by pulmonary metastasis

Canine Breed	Number	Percentage
Cross breed	13	29.2
Domestic German Shepherd	9	20.5
Poodle	4	9.1
Cocker Spaniel	4	9.1
Pointer	2	4.5
Boxer	2	4.5
Dachshund	2	4.5
Alsatian	1	2.3
Yorkshire Terrier	1	2.3
Epagneul Breton	1	2.3
Siberian Husky	1	2.3
Doberman	1	2.3
Fox terrier	1	2.3
West Highland White Terrier	1	2.3
Bobtail	1	2.3
<i>Total</i>	44	100.00
Feline Breed	Number	Percentage
Siamese and cross	17	65.4
Domestic short hair	7	26.9
Others (Persian, Angora...)	2	7.7
<i>Total</i>	26	100.0

Findings of pulmonary metastatic disease were most common in mature or older animals, with remarkable difference between the two sexes, independent of species: males being affected significantly earlier than females, with a difference in mean age of 3 years (Tab. 5).

Tab 5: Average age of patients affected by pulmonary metastasis

	Mean age \pm S.D. and range of all animals presented	Males	Females
Dogs	10,2 \pm 2,2 (5-13)	7.7 \pm 3.1 (5-13)	10.3 \pm 2.4 (5-13)
Cats	10.0 \pm 2.3 (4.5-15)	7.2 \pm 1.9 (4.5-9)	10.4 \pm 2.0 (7-15)

Cell type of pulmonary metastatic neoplastic cells collected by BAL from canine patients demonstrated carcinoma were most common (59.1%), followed by sarcomas (25.0%), carcinosarcomas (6.8%) and other neoplastic types (9.1%). In the cat carcinomas were even more common (88.5%), followed by sarcomas (11.5%).

Carcinoma (predominantly of mammary glands originated) was the cell type detected most commonly in females, while sarcomas were the predominant cell type observed in males.

In cats, localisation of primary neoplasia was remarkably gender-specific, with all primary neoplasias associated with pulmonary metastasis in females being of mammary origin, and in males being of subcutaneous origin.

In dogs the situation was more complex with a wider range of organs affected by primary tumours resulting in pulmonary metastasis (in females, particularly mammary, but also commonly splenic, subcutaneous and ovarian origin; in males particularly osteoarticular and subcutaneous neoplasias).

Findings of pleural effusion, detected by radiographic examination, were noted in 18.2% of all cases visited, and radiographic lesion distribution was strongly correlated with histologic classification: in dogs with carcinomatous metastases the radiographic pattern was typically alveolar-interstitial (14/26, 53.8%) while dogs with sarcomatous metastases more commonly had nodular interstitial lung patterns (10/11, 90.1%). In cats, carcinomas typically manifested with an interstitial pattern, usually a diffuse alveolar interstitial pattern (8/23, 34.8%).

In contrast, feline sarcomas did not manifest with any single dominant pattern, but pleural effusion was identified in more than 30% of cases.

Analysis of canine cases within our study of 5 dogs with primary tumour diagnosis at the first consult without metastatic findings, minimally invasive tests (BAL, trans-thoracic fine needle aspiration and thoracocentesis) permitted us to identify pulmonary metastasis in the face of negative or ambiguous radiographic studies. In one case, a dog presenting with mammary adenocarcinoma resulted positive on BAL while thoracic radiology remained negative for metastasis. In a second case, three months after mammary adenocarcinoma surgery, a dog resulted BAL-positive while thoracic radiography remained negative until five months after initial surgery. In the other three cases, dogs with mast cell tumour, mammary carcinoma and hepatic carcinoma, the initial radiographic lung patterns were negative or ambiguous, while BAL (subsequently confirmed by transthoracic fine needle aspiration and thoracocentesis) resulted positive.

In the group of dogs with diagnosis of both primary tumour and pulmonary

metastasis, in one case with abdominal mesotelioma, BAL permitted early pulmonary metastasis diagnosis while radiographic study was still negative. In another case affected by mammary carcinosarcoma, auxiliary pulmonary biopsy was necessary to confirm presence of metastasis (in the presence of ambiguous radiographic findings and negative BAL).

In the feline cases reviewed, of 16 cats with diagnosis of primary tumours at initial presentation, 2 cats (12.5%) showed ambiguous radiographic lung patterns, and only BAL permitted early diagnosis of pulmonary metastasis.

In the group of cats (n.= 10) with contemporaneous diagnosis of primary tumour and pulmonary MTS, in 1 case of mammary adenocarcinoma (10.0%) the BAL permitted recognition of pulmonary metastasis in the face of negative radiographic findings.

Global analysis of BAL efficacy showed that in 7 of 44 dogs (15.9%), and in 3 of 24 cats (12.5%) this test permitted us to obtain an early diagnosis of MTS in comparison to the radiographic study.

Comparison of diagnostic efficacy in detecting pulmonary metastasis between BAL and radiographic study and using the Tab. 6.

Tab. 6

Test result	Final diagnosis	
	MTS	NO MTS
NEGATIVE	False Negative(FN)	True Negative(TN)
POSITIVE	True Positive (TP)	False Positive (FP)

We can calculate the sensitivity of each test using the formula:

Sensitivity = True positive / (True positive + False negative) obtaining:

Canine species	n	% (confidence interval 95%)
Rx study	37/44	84,09 (73.28; 94.90)
BAL	9/10	90 (71.41; 100.00)

Feline species	n	% (confidence interval 95%)
Rx study	23/26	88,46 (76.18; 100.00)
BAL	16/16	100

In absence of accurate “True Negative” data we cannot determine the Specificity value of each technique, represented by the formula: $Specificity = True\ negative / (True\ negative + False\ positive)$.

Using radiographic studies as pulmonary MTS diagnostic tests we obtained 5 false-positive (4 dogs and 1 cat).

DISCUSSION

The instillation and retrieval of sterile saline into the lungs (i.e., bronchoalveolar lavage [BAL]) for cytopathological, microbiological, biochemical, and immunological studies has helped to characterize respiratory disorders, including bacterial, viral, fungal, protozoal and parasitic infections, non-infectious inflammatory disease, and neoplasia¹².

Pulmonary metastatic lesions are commonly seen with a range of tumour types. Metastasis can potentially occur via lymphatics, through the airways, hematogenously, or transpleurally. The caudal lung lobes are most commonly affected, particularly the right caudal lobe, presumed to be due to its relatively large size compared to cranial and intermediate lobes^{6,7,15}. Bronchial lymph nodes have been recognised as the most common metastatic site^{16,17}.

More than 50% of undifferentiated adenocarcinomas and more than 90% of squamous cell carcinomas are reported as being likely to metastasize. Feline primary lung tumours may be metastatic in almost 75% of cases². Metastatic lesions are commonly identified at initial presentation in dogs diagnosed with thyroid cell carcinoma, hemangiosarcoma, melanoma, and osteosarcoma¹⁸. Thoracic metastases are more common in dogs with inflammatory mammary carcinoma than with other tumour types⁴, as we detected in this study. Diffuse bronchiolo-alveolar carcinoma in the dog is considered a great imitator, as it can radiographically mimic other interstitial pulmonary disease, leading to possible misdiagnosis¹⁹.

As most pulmonary metastases are located in the interstitial tissue rather than in the alveolar or bronchial tissue of the lung, they rarely produce clinical signs in their early stages. A single nodule must have a minimal diameter of 4 mm to be detectable on radiographs. Smaller nodules are referred to as micronodular or miliary nodules.

Neoplastic pulmonary disease principally affects older animals²⁰, as verified by this study. In dogs there is no apparent sex or breed predilection, while female cats are more commonly affected than male cats².

Once osteosarcoma metastases are clinically or radiographically evident, good response to chemotherapy is rare²¹, therefore early diagnosis may be critical to prognostic outcome.

We recommend use of BAL in all cases with clinical or radiographic suspicion of pulmonary metastasis as a supportive test for confirmation, as well as to achieve an earlier diagnosis in cases with negative or ambiguous radiography studies.

Cytopathological interpretation of BAL fluid has limitations. These limitations include the inability to provide a definitive diagnosis unless infectious agents or neoplastic cells are seen. This can be compromised by variation in cellular yield (especially with cell types that exfoliate poorly or in areas of bronchomalacia where aspiration of lavage fluid is minimal)²², by the presence of inflammation that hinders differentiation between neoplasia and epithelial hyperplasia and by the inability to evaluate architectural changes in the airways, interstitium, or alveoli (e.g., bron-

chiectasis, fibrosis, or emphysema, respectively). In some cases, histopathological examination of tissues may be required for definitive diagnosis¹². Further studies are required to determine if unaspirated BAL fluid could facilitate the pulmonary metastatic process.

In conclusion, cytologic study of BAL fluid can be considered a useful diagnostic test for early diagnosis of malignant primary or secondary pulmonary neoplasia particularly in comparison with conventional radiographic studies.

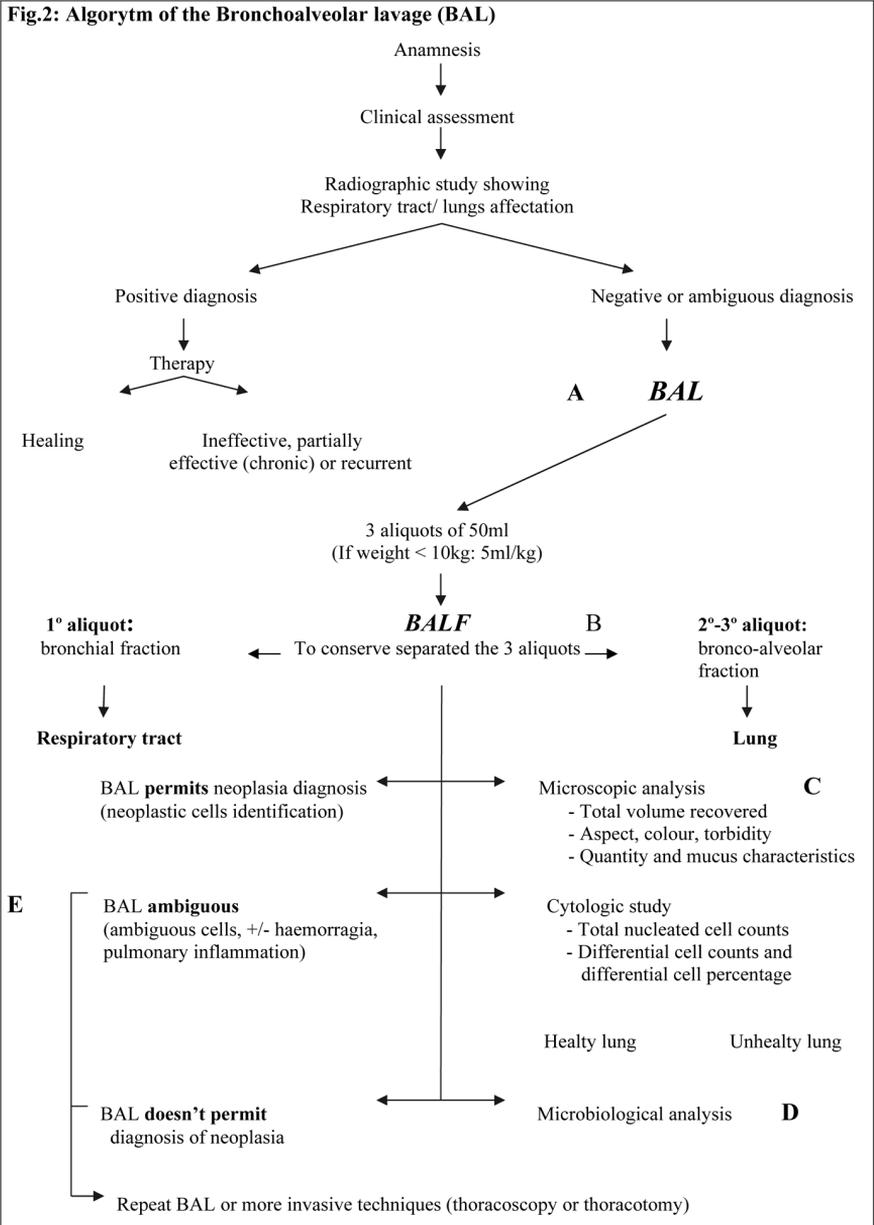
Acknowledgements

The authors would like to acknowledge the *Departamento de Cirugia y Patologia Quirurgica* de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza (Spain) and Russel Yeadon for the help and advice. The authors would like to thank Prof. Ezio Bottarelli for assistance with the statistical analysis.

REFERENCES

- 1) Cadorè J.L. (1992) **Endoscopie traqueo-bronchique chez le chien**. Réc. Méd Vét Spécial Endoscopie, 168 (3/4):187-191
- 2) Withrow S.J., MacEwen E.G. (2001) **Lung cancer**. In Withrow S.J., MacEwen E.G., 3rd ed., 361–370, *Small Animal Clinical Oncology*, Saunders, Philadelphia, PA
- 3) Ballegeer E.A., Forrest L.J., Stepien R.L. (2002) **Radiographic appearance of bronchoalveolar carcinoma in nine cats**. Vet Radiol Ultrasound. 43(3):267-71
- 4) Baumann D., Hauser B., Hubler M., Fluckiger M. (2004) **Signs of metastatic disease on thoracic radiographs of dogs suffering from mammary gland tumors: a retrospective study (1990-1998)**. Schweiz. Arch. Tierheilk 146(9):431-435
- 5) Madewell B.R., Theilen G.H. (1987) **Tumors of the respiratory tract and Thorax**. In Madewell B.R., Theilen G.H 2th ed., 535-565, *Veterinary cancer medicine*, Lea e Febiger, Philadelphia
- 6) Delisle F., Moissonnier P. (1996) **I tumori broncopolmonari nei carnivori domestici**. SUMMA 13(9):191-201
- 7) Suter P.F. (1992) **Neoplasia polmonar**. In Ettinger SJ, 3rd ed., 787-796, *Tratado de medicina interna veterinaria. Enfermedades del perro y del gato*. Ed Inter-Medica, Buenos Aires
- 8) Marcato P.S. (1988) **Neoplasie broncopolmonari**. In Marcato P.S., 189-194, *Patologia respiratoria animale. Testo e atlante*. Ed Agricole, Bologna
- 9) Hawkins E.C. (1992) **Disorders of the pulmonary parenchyma**. In Nelson W.R. e Couto C.G. 214-228, *Essentials of Small Animal Internal Medicine*. Mosby Year Book Inc., St. Louis
- 10) Stann E.S., Bauer T.G. (1985) **Respiratory tract tumors**. Vet Clin North Am./ Symposium on Clinical Veterinary Oncology, 15(3):535-556
- 11) Nemanic S., London C.A., Wisner E.R. (2006) **Comparison of thoracic radiographs and single breath-hold helical CT for detection of pulmonary nodules in dogs with metastatic neoplasia**. J Vet Intern Med. May-Jun;20(3):508-515

- 12) Norris C.R., Griffey S.M., Samii V.F., Christopher M.M., Mellema M.S. (2002) **Thoracic radiography, bronchoalveolar lavage cytopathology, and pulmonary parenchymal histopathology: a comparison of diagnostic results in 11 cats.** J Am Anim Hosp Assoc. Jul-Aug; 38(4):337-345.
- 13) Hawkins E., De Nicola D., Kuhen N. (1990) **Bronchoalveolar lavage in the evaluation of pulmonary disease of dog and cat.** Stat of the Art. J. Vet Inter Med. 4(5):267-274
- 14) Castellà J., Llorente J., Puzo M.C., Sanchis J., Sueiro A., Xaubet A. (1989) **Normativa sobre la practica del Lavado Broncoalveolar** Recomendaciones SEPAR, n° 8, Edic Doyma, Barcelona
- 15) Paoloni M.C., Adams W.M., Dubielzig R.R., Kurzman I., Vail D.M., Hardie R.J. (2006) **Comparison of results of computed tomography and radiography with histopathologic findings in tracheobronchial lymph nodes in dogs with primary lung tumors: 14 cases (1999-2002).** J Am Vet Med Assoc. 228(11):1718-1722
- 16) Buracco P. (1992) **Early clinical diagnosis of neoplastic metastasis.** Congresso Mondiale WSAVA, Roma, 2:1147-1151
- 17) Taylor G.N., Shabestari L., Angus W., Lloyd R.D., Mays C.W. (1979) **Primary pulmonic tumors in Beagles.** American Journal of Veterinary Research 40(9):1316-1318
- 18) Lansdowne J.L., Monnet E., Twedt D.C., Dernell W.S. (2005) **Thoracoscopic lung lobectomy for treatment of lung tumours in dogs.** Veterinary Surgery 34:530-535
- 19) Bertazzolo W., Zuliani D., Pogliani E., Caniatti M., Bussatori C. (2002) **Diffuse bronchiolo-alveolar carcinoma in a dog.** Journal of Small Animal Practice 43:265-268
- 20) McNiel E.A., Ogilvie G.K., Powers B.E., *et al.* (1997) **Evaluation of prognostic factors for dogs with primary lung tumors: 67 cases (1985-1992).** J. Am Vet Med Assoc 211: 1422-1427
- 21) Ogilvie G.K., Moore A.S. (1995) **Managing the veterinary cancer patient: a practice manual.** Veterinary Learning Systems Co., Trenton, New Jersey
- 22) Hawkins E., De Nicola D., Plier M. (1995) **Cytologic analysis of bronchoalveolar lavage fluid in the diagnosis of spontaneous respiratory tract disease in dog: a retrospective study.** J. Vet Inter Med. 9:386-392



- A: Execution of BAL was performed according to the indications of the SEPAR (Sociedad Española De Pneumologia y Cirugia Toracica)¹⁴, with modifications for application in small animals.
- B: With reference to clinical-radiographic findings, interpretation was based on assessment of the different fractions of BALF:
- The bronchial fraction (1st aliquot) was considered to represent processes of the upper respiratory tract
 - The broncho-alveolar fraction (2nd and 3rd aliquot) was considered to represent the distal pulmonary area
- C: Macroscopic assessment of BALF was also performed:
- Under normal conditions approximately 60-70% of clear liquid and supernatant can be recovered
 - In presence of neoplasia, the percentage of recovered liquid can be decreased, or may be haemorrhagic, or may contain macroscopically visible mucus
- D: The microbiologic analysis can be useful in tumour study for individuation of secondary infections
- E: In cases of chronic inflammatory pathology the morphologic changes of the respiratory cells can induce interpretative mistakes

BRAIN AGING IN DOG: MENINGEAL AND CEREBROVASCULAR NON AMYLOIDOTIC FEATURES

INVECCHIAMENTO CEREBRALE DEL CANE: ASPETTI MENINGEI E CEREBRO VASCOLARI NON AMILOIDOTICI

Jottini S., Cantoni A.M., Corradi A.

Parole chiave: cane anziano, lipofuscinosi, fibrosi meningea

Key words: aged dog, lipofuscinosis, menigeal fibrosis.

Abstract

Age-related changes in the brain of dog have been already described in literature [1] [2] [3] [4] [5] [6] [10] [12] [15] [16].

Twenty-eight aged dogs (8 – 20 years old) and 8 young dogs (1–5 years old) were investigated. Necropsies were performed on all dogs euthanized or naturally died. The brains were removed and fixed for at least 5 days in 10% neutral buffered formalin. Coronal sections of frontal cerebral cortex, temporo-parietal cerebral cortex, hippocampus, thalamus, cerebellum, and brain stem were embedded in paraffin, and slides, 5µm thick, were stained with hematoxylin and eosin (HE), periodic acid–Schiff (PAS). Gross and histologic evaluation of meningeal and cerebrovascular lesions were performed: meningeal thickening and fibrosis, vascular hyalinosis and fibrosis were found.

Riassunto

Diverse sono le alterazioni cerebrali descritte nell'encefalo del cane anziano [1] [2] [3] [4] [5] [6] [10] [12] [15] [16].

Per valutare gli effetti dell'invecchiamento a livello cerebrale sono stati esaminati gli encefali di 36 cani. I cani, venuti a morte o sottoposti ad eutanasia, sono stati oggetto d'esame necroscopico durante il quale è stato prelevato l'encefalo, fissato per almeno 5 giorni in formalina tamponata al 10% e sezionato mediante tagli coronali. In seguito sono stati prelevati campioni di corteccia frontale, temporo-parietale, ippocampo, talamo, cervelletto e midollo allungato, successivamente disidratati e inclusi in paraffina. Su ogni campione sono stati eseguiti tagli al microtomo dello spessore di 5 µm in seguito colorati mediante ematossilina-eosina e PAS. Dalle valutazioni macroscopiche e microscopiche sono emerse le alterazioni caratteristiche dell'encefalo senile quali: ispessimento e fibrosi meningea, ialinosi e fibrosi vascolare.

Introduction

Pets live now longer than a few years ago thanks to the increased knowledge in veterinary medicine. Owners take more and more care of to their old animals, for this reason practitioners often face physical and psychical problems related to pets aging.

Aging begins at the moment of conception, involves the differentiation and maturation of the organism and its cells, at some variable point in time leads to the progressive loss of functional capacity characteristic of senescence, and ends in death [11].

Several factors may influence the rapidity of the aging process, such as nutrition, genetics and environment. However, the actual causes of aging are steel poorly understood, although several theories have been proposed. One is the so called cumulative damage theory which suggests that the reasons for aging are the ionizing radiation on DNA and/or organelles lesions due to free radicals. Another hypothesis is based on metabolic waste accumulation within cells. Finally some authors suggest that multiple immunological events, antigenic stimulation, antigen-antibody reactions, immunitary response reduction and mutated cells proliferation may contribute to aging [7].

The main patterns of aging are accumulation of different materials, morphological changes in nucleus and in the cell whole and tissues metaplasia [11]. The aim of this study was to investigate the most frequent cerebrovascular non amyloidotic hallmarks of aged dog.

Material and methods

The brain of 36 dogs, naturally died or euthanized without apparent neurological signs or behavioral dysfunctions, were submitted for necroscopic exams during the years 2006/07 to the Pathology Unit of Department of Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Parma (see tab. 1).

Necropsies were performed on all dogs within 12 hours from death to avoid autolytic phenomenon, particularly of the brain, following King's techniques [9].

The brains were fixed immediately after removal in 10% neutral buffered formalin for 5 days minimum. Formalin was changed after the first 24 hours. The brains were first sectioned on the median line and then coronal samples were cut at different levels (as illustrated in picture 1), paraffin-embedded, sectioned at 5µm, put on polylysinate slides and dried at 37°C for 24 hours or 52°C for 1 hour and finally stained with hematoxylin and eosin, periodic acid-Schiff and Masson's trichromic [1] [9].

Results

The examination of fresh or formalin fixed brains allowed to evaluate gross pathology in old animals. A regressive phenomenon found very often is meningeal fibrosis, this alteration worsens with age, independently from animals breed or sex.

In all the old dogs examined was found a diffuse thickening of leptomeninges especially those of the cerebral sulci that appears white and enhanced. Macroscopically this lesion appears first in the cruciate sulcus and in older animals develops through the parietal and temporal cortex and the rhinencephalon.

The pseudosylvian fissure is another interested area and shows fibrosis in subjects over 8 years old. In the other 3 sulci the meningeal fibrosis is observed in the suprasylvian sulcus in subjects over 10 years old and for the coronalis and ectomarginal sulci over 13 years old.

The meningeal fibrosis is observed not only into the areas mentioned before, but also in all the brain particularly into the median part of cerebral hemispheres.

Histologically different regressive phenomenon associated to old age were found. In all the animals over 8 years the meningeal calcification and cartilaginous metaplasia were rare (observed only in dog n.25), these phenomenon can't be considered normal findings in old dogs brains[1].

The vascular structures of meninges and brain in old and young dogs were compared to reveal degenerative processes such as hyalinosis and fibrosis.

At H&E stain we only evaluated vessels with thicker, strongly eosinophilic and homogeneous structure walls. At PAS stain it is possible to observe positivity in the walls of arteries to identify the amyloid angiopathy it is necessary to use immunohistochemistry techniques.

The fibrosis of choroid plexus is another typical histological finding of the old age. The 80% of the observed dogs show this particular alteration which is characterized by an increase of collagen fibers and low presence of fibroblastic cells.

Hemorrhagic phenomenon and coerced neurons with pycnotic nuclei and strongly eosinophilic cytoplasm (red neurons), typical of an ischemic brain damage were rare [13].

Fig. 1: fixed right emispheres of 8 years old male Dalmatian dog. The pictures show the lines of dissection of the brain.



Tab. 1: essential data of dogs investigated

n.	sex	breed	cause of death - reason of euthanasia	age
1	M	Bernese mountain	septic shock	3 months
2	F - n	mixed-breed	thoracic trauma (e)	10 months
3	M	German shepherd	pulmonary edema	11 months
4	M	Britany	hemorrhagic enteritis (e)	4 years
5	F	mixed-breed	anticoagulant intoxication	4 years
6	M	pointer	septic shock (E. coli)	4 years
7	F	German shepherd	hypovolemic shock internal hemorrhage	5 years
8	M	bloodhound	peritonitis (e)	5 years
9	M	Dalmatian	pancreatitis (e)	8 years
10	F - n	boxer	pulmonary edema	8 years
11	F	husky	cardiac insufficiency (e)	8 years
12	M	mixed-breed	acute kidney failure	8 years
13	M	poodle	hepatic carcinoma (e)	8 years
14	M	English bull dog	testicular neoplasia (e)	8,5 years
15	M	boxer	liposarcoma	9 years
16	M	mixed-breed	cardiac insufficiency	10 years
17	F - n	mixed-breed	hepatic insufficiency	10 years
18	F	mixed-breed	dilatativa cardiomyopathy	10 years
19	F	German shepherd	lymphoma (e)	11 years
20	M	Irish setter	chronic kidney failure	11 years
21	F - n	Mixed-breed	mammary carcinoma (e)	12 years
22	F	bloodhound	mammary carcinoma (e)	12 years
23	M	Samoyed	hindlimbs paralysis for arthrosis (e)	13 years
24	M	mixed-breed	hindlimbs paralysis for arthrosis (e)	13 years
25	M	German shepherd	hindlimbs paralysis for arthrosis (e) *	13 years
26	M	English setter	abdominal neoplasia (e)	14 years
27	M - n	mixed-breed	hepatic carcinoma (e)	14 years
28	M	mixed-breed	hemopericardium (e)	14 years
29	F	mixed-breed	mammary carcinoma (e)	14 years
30	M	mixed-breed	Leydig cells neoplasia (e)	14 years
31	M	mixed-breed	dilatativa cardiomyopathy (e)	15 years
32	F	mixed-breed	pancreatitis	16 years
33	M	mixed-breed	hemangiopericytoma (e)	17 years
34	F	German shepherd	hindlimbs paralysis for arthrosis (e)	17 years
35	F	German shepherd	mammary carcinoma (e)	17 years
36	M	dwarf poodle	Leydig cell neoplasia (e)	20 years

M: male M-c: male neutered (e) euthanized
 F: female F-c: female neutered
 *brain and spinal cord extraction

Fig. 2: rights hemispheres: 1) 3 months male mix-breed; 2) 8 years old male mix-breed; 3) 14 years old male mix-breed; 4) 15 years old female German shepherd. Meninges of dog 3 and 4 are more opaque and whitish for strong fibrosis.

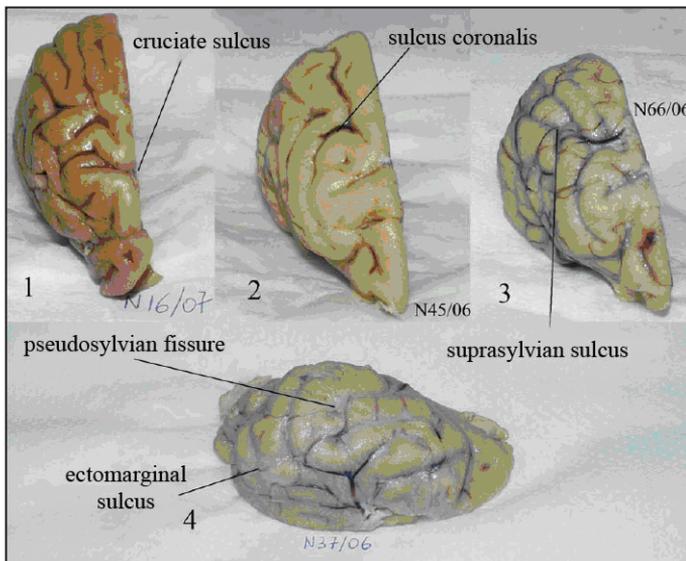


Fig. 7: choroids plexus section of a 20 years old male dwarf poodle. Increasing of collagenous fibres (bleu) within choroids plexus of old dog brain. Masson's Trichromic stain; Bar 5µm.

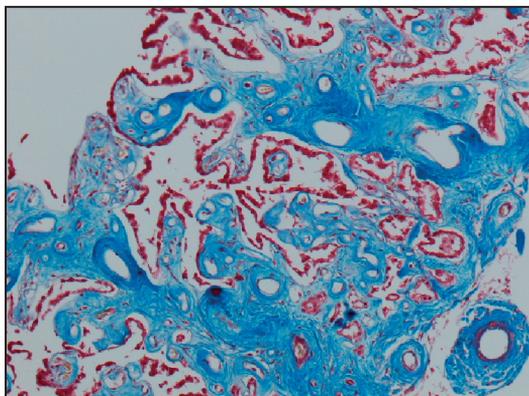
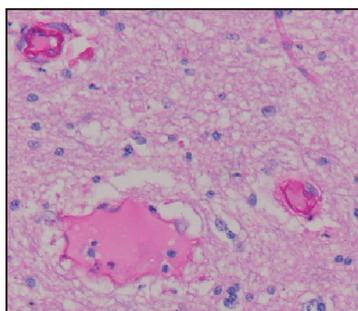


Fig. 8: transversal section of white matter vessels of a 13 years old male Samoyed. It is clear the presence of strongly PAS positive material within vessels wall. PAS stain; Bar 5µm.



Discussion

Age changes in the meninges may develop with collagenous and osseous metaplasia of the cranial dura mater. The ossification, which is observed as small intradural nodules, follows hyalinization of the connective tissues and can or can not be preceded by a mineralization process. This alteration develop from the frontal region and reaches the temporal and occipital areas without involve the basal and cerebellar meninges. Histologically these plaques show a whorled pattern of fibroblastic cell which often include small concretions known as psammoma bodies. Vascular and perivascular changes were a frequent finding. The most evident change was fibrosis of the vessel wall. Adventitial thickening is locally disseminated, affecting both meningeal and parenchymal vessel walls and being more frequent in small-diameter veins than in arteries. Hyalinosis is another vascular abnormality found, this phenomenon affects the tunica media of some arterioles without any other vascular or perivascular lesion [8].

Conclusions

In this study some cerebrovascular lesions due to aging in dogs were investigated. Our results, in accordance with previous studies, show that meningeal thickening and fibrosis and choroid plexus fibrosis are age related conditions histologically detectable in old dogs brains and do not provoke any evident symptoms. We observed that fibrosis process starts from crus cerebri, which were the first interested area, in fact the majority of 8 years old dogs showed this accumulation only in this area as small whitish concretions. Was also found vessels wall fibrosis and hyalinosis of tunica media. Instead others age-related conditions, such as ventricular enlargement, hemorrhage and meningeal calcification, may cause more or less evident symptoms. These lesion are correlated with age but they are not considerable normal findings in aged dog brains [1].

Acknowledgement: The authors wish to thank Mrs. Paola Gianelli, dr. Elena Felloni, dr. Benedetta Passeri and dr. Rosanna Di Lecce for precious technical assistance.

Bibliografia

- 1) Borrás D., Ferrer I., Pumarola M. (1999). Age-related Changes in the brain of the Dog. "Veterinary Pathology"; 36, 202-211.
- 2) Corradi A., Cabassi E., Crafa R., Quintavalla F., Di Lecce R., Cantoni A.M., Borghetti P., Tedeschi F. (1992). The active cerebral amyloid senile plaque (SP) of the dog react against GFAP antibody. IV European meeting of Neuropathology, Berlin, July 14-19. Clinical Neuropathology, 11(4), 223.
- 3) Corradi A., Cantoni A.M., Borghetti P., Cabassi E. (1990). Brain aging in dog: immunohistochemical study of nucleus olivaris. "Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift"; 103(12) 401-436.
- 4) Corradi A., Cantoni A.M., Cabassi E., Quintavalla F. (1991). Contributo allo studio delle placche amiloidi del S.N.C. del cane. "Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie"; volume XLV, 833-837.
- 5) Corradi A., Cantoni A.M., Di Lecce R., Cabassi E. (1995). Brain aging in dog: immunohistochemical study of nucleus olivaris. "Rivista di Patologia e Clinica"; 1, 21-27.
- 6) Czasch S., Paul S., Baumgärtner W. (2006). A comparison of immunohistochemical and Silver staining methods for the detection of diffuse plaques in the aged canine brain. "Neurobiology of Aging"; 27, 293-305.
- 7) Goldston R.T., Hoskins J.D. (1997). "Geriatría & gerontología del perro y el gato"; INTER-medica (Ed.), Buenos Aires, República Argentina.
- 8) Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N. (2007). Pathology of Domestic Animals 5th edition Saunders Ltd. Volume 1 "The Nervous System".
- 9) King J.M., Dodd D.C., Roth L., Newson M.E. (2005). The Necropsy Book 4th Ed. Charles Louis Davis D.V.M. Foundation Publisher; 46-51; 63.
- 10) Lynch G., Bi X. (2003). Lysosomes and Brain Aging in Mammals. "Neurochemical Research"; 28(11) 1725-1734.

- 11) Robbins, Cotran, (2005). "chapter 1, cellular adaptations, cell injury, and cell death" in Pathologic basis of disease, 7/E; Elsevier Saunders ed. 3-46.
- 12) Satou T., Cummings B.J., Head E., Nielson K.A., Hahn F.F., Milgram N.W., Velazques P., Cribbs D.H., Tenner A.J., Cotman C.W. (1997). The progression of β -amyloid in the frontal cortex of aged canine. "Brain Research"; 774, 35-43.
- 13) Sternberg S.S. (1997). Histology for Pathologists 2nd edition. Lippincott – Raven publisher; cap. 11 "Central Nervous System"; 243-311.
- 14) Summers B.A., Cummings J.F., De Lahunta A. (1995). Veterinary Neuropathology, Mosby Inc (Ed).
- 15) Suzuki Y., Akiyama K., Suu S. (1978). Lafora-like Inclusion Bodies in the CNS of Aged Dogs. "Acta Neuropathologica Berlin"; 44, 217-222.
- 16) Suzuki Y., Ohta K., Kamiya S., Suu S. (1980). Topographic Distribution Pattern of Lafora-like Bodies in the Spinal Cord of Some Animals. "Acta Neuropathologica Berlin"; 49, 159-161.

**OSSERVAZIONI ISTOPATOLOGICHE DELLE
GHIANDOLE SURRENALI IN SUINI MACELLATI
O NATURALMENTE DECEDUTI.
COMPARAZIONE CON RILIEVI DEL PERIODO 1996-97**

**HISTOPATHOLOGICAL OBSERVATIONS ON THE
ADRENAL GLANDS OF SWINE SLAUGHTERED AND
NATURALLY DECEASED.
COMPARISON WITH THE PERIOD 1996-97**

Cabassi Enrico¹, Signorini Franco², Bassi Elena², Passeri Benedetta¹,
Cavalli Virna Giuseppina³, Valente Livia⁴, Cantoni Anna Maria¹

PAROLE CHIAVE:

ghiandole surrenali, epinefrite cortico-midollare, disorganizzazione glomerulare surrenale, suino

KEY WORDS:

adrenal glands, cortex-medulla adrenalitis, zona glomerulosa disorganization, swine

Riassunto

Gli AA descrivono le indagini istologiche condotte in corso d'anno sulle ghiandole surrenali di 272 suini regolarmente macellati, appartenenti a diversi allevamenti, nonché su 36 suini deceduti per malattia e le comparano con i reperti microscopici registrati dieci anni prima su 321 suini a fine carriera produttiva provenienti sempre dal comprensorio.

Le lesioni più significative hanno riguardato il riscontro di focolai flogistici aspecifici a carattere linfocitocitario, espressi per lo più in zona fasciolata, meno nella midollare, nel 7, nel 29 e nel 44% dei campioni esaminati, riferiti rispettivamente a soggetti sacrificati dieci anni prima, macellati di recente o naturalmente deceduti per malattia. Gli AA ritengono che tali reperti nei soggetti macellati siano presumibilmente da rapportare a pregresse infezioni virali cronicizzate, maggiormente diffuse in questi ultimi anni negli allevamenti intensivi rispetto a dieci anni prima. La più elevata incidenza di tali riscontri nei soggetti deceduti per malattia e la loro più intensa espressione sono motivabili con i processi morbosi multisistemici rinvenuti. Tra gli altri reperti meritano considerazione i processi regressivi e la tendenza alla disorganizzazione dell'assetto glomerulare, con riduzione degli ammassi cellulari e

1 Dipartimento di Salute Animale - Sezione di Patologia Generale ed Anatomia Patologica Veterinaria
Università degli Studi di Parma

2 Dirigente veterinario AUSL, Mantova

3 Libero Professionista, Specialista in Patologia suina

4 Consulente Servizio Veterinario dell'Ateneo di Parma per il controllo del Benessere Animale
enrico.cabassi@unipr.it

relativa rarefazione della zona, riscontrati nel 14, nel 21 e nel 36% dei campioni di surrenale, rispettivamente appartenenti a suini macellati di recente, a quelli sacrificati dieci anni prima ed a quelli naturalmente deceduti; risultati verosimilmente correlabili al divieto di questi ultimi anni di utilizzare derivati diossichinossalinici come chemioprolattici, divieto non infrequentemente eluso.

Abstract

The authors describe the histological research done over the course of a year on the surrenal glands of 272 slaughtered swine, from different breeders, as well as those from 36 swine deceased from disease and compared their results to ten year old microscopic findings from 321 swine at the end of their productive careers on local farms.

The most significant lesions were aspecific inflammatory breeding-grounds of lymphohistocytic character. The lesions most were frequently expressed in the fascicular zone and less so in the medullar zone in 7% of the swine sacrificed ten years prior, 29% of the swine recently slaughtered and 44% of those deceased from natural causes. The authors think that the values reported in the slaughtered animals are presumably due to preexisting chronic viral infections due to PMWS, PRRS, pseudorabies, and infections which are now more wide-spread in intensive farming with respect to ten years ago. The highest incidence and expression of these findings was in the swine deceased due to disease, likely attributed to multi-system diseases of toxic-infective nature frequently found in these animals. Worthy of consideration were the regressive processes observed at the glomerular level with cellular rarefaction in 14% of recently slaughtered swine, 21% of swine sacrificed ten years prior and 36% of swine deceased from natural causes. These results may correlate with the ban for the last ten years on the use of quinoxaline dioxide derivative as chemoprophylactics. The ban is frequently disregarded by intensive swine breeders so as to prevent and weaken bacterial enteritis.

Introduzione

Nell'ambito della patologia endocrina degli animali di interesse zootecnico, le lesioni delle ghiandole surrenali vanno assumendo sempre maggior importanza man mano che le nostre conoscenze scientifiche si allargano e si completano. Piuttosto trascurate come entità nosologiche in passato, oggi il loro interesse è in continuo aumento, vuoi per le sempre più frequenti segnalazioni di episodi morbosi forniti dall'indagine sperimentale e dall'osservazione clinico-pratica, vuoi perché il loro studio sull'animale offre utili elementi di conoscenza sui meccanismi di tali patologie nell'uomo e nei nostri stessi animali. Va ancora sottolineato che una più approfondita nozione di tali quadri lesivi può consentire una miglior comprensione e soluzione di talune condizioni morbose dei nostri animali conseguenti a ripetuti stimoli stressogeni. (14)

In campo suinicolo, per quanto ci risulta dalla bibliografia consultata finora, alla patologia delle ghiandole surrenali non sempre viene attribuito un posto ben definito nel contesto dottrinale anatomopatologico e solo in questi ultimi anni particolari riscontri morbosi riguardanti l'ipoadrenocorticismo, accidentalmente

indotto da molecole utilizzate come chemioterapici e promotori di crescita, o a seguito di infezioni virali multisistemiche hanno richiamato l'attenzione dei ricercatori.(7, 8)

Diversi studiosi (4,11,15) hanno dimostrato come la somministrazione di derivati 1,4-diossichinossalinici comporti nel suino modificazioni morfologiche e funzionali a carico della zona glomerulare delle ghiandole surrenali con irregolarità nella ripartizione e nell'assetto citologico, zona che non sempre appare ben distinta dall'area fascicolata. A queste modificazioni strutturali si aggiungono altre variazioni funzionali ematochimiche, interessanti il valore dell'ematocrito, il metabolismo idrosalino, nonché modificazioni ormonali con decremento dell'aldosterone e incremento dell'attività reninica e dell'ANP (peptide natriuretico). (4)

La componente tissutale surrenalica sembra godere di una certa refrattarietà, o meglio, resistenza di fronte ad agenti patogeni tossico-infettivi, vuoi perchè gli endoteli sinusoidali della corteccia fanno parte del sistema reticolo fagocitario, vuoi a causa degli effetti antiflogistici dei corticosteroidi; tuttavia processi infiammatori della corteccia surrenale rappresentano un'evenienza non del tutto infrequente in campo umano e suinicolo, di non trascurabile rilievo anatomo-clinico. (7, 8)

Solo raramente, queste lesioni si manifestano senza riconoscere una causa infettiva accertabile, mentre è frequente la concomitanza di queste forme con malattie infettive per lo più a carattere multisistemico: in campo umano, l'infezione citomegalica perinatale del bambino, l'AIDS, l'istoplasmosi, etc.; in campo animale la citomegalovirosi dei suinetti, l'afte, la pseudorabbia, le pesti suine, la PRRS, la PMWS, il mal rosso, le colibacillosi, etc. (3, 5, 9, 13)

Sulla base di queste considerazioni e valutazioni abbiamo ritenuto non privo di interesse iniziare uno studio morfopatologico delle ghiandole surrenali di suini allevati in produzione zootecnica nel comprensorio padano, vagliando l'assetto macro e microscopico delle singole ghiandole osservabili in animali spontaneamente deceduti o in situazioni di normalità in soggetti clinicamente sani regolarmente sacrificati al macello.

Nel tentativo di apportare ulteriori elementi di interesse alla validità dell'informazione e per una visione più globale delle patologie delle surrenali presenti nei suini del nostro territorio, abbiamo ritenuto opportuno inserire nella presente ricerca anche i quadri istopatologici da noi osservati nelle ghiandole surrenali in suini all'ingrasso, affini per provenienza e per condizioni di allevamento, regolarmente macellati nel nostro comprensorio nel periodo ottobre 1996 - dicembre 1997.

Materiale e metodi

Per le nostre indagini ci siamo avvalsi complessivamente di 629 prelievi di ghiandole surrenali destre provenienti da altrettanti suini poliibridi.

La tabella n.1 riassume i campionamenti effettuati, il raggruppamento degli animali in rapporto al peso registrato ed alla funzionalità riproduttiva, il periodo di prelievo e la selezione dei soggetti, naturalmente morti o macellati.

Da 441 suini provenienti da 39 allevamenti sparsi nel comprensorio, quasi tutti annessi a caseifici ed affini per finalità di produzione, sono state prelevate ed esaminate altrettante ghiandole surrenali. Il loro prelievo è stato effettuato in epoche

differenti: 321 tra ottobre 1996 - dicembre 1997 e 120 nel periodo gennaio-luglio 2007.

Per quanto attiene le rimanenti 188 ghiandole surrenali esaminate (152 provenienti da soggetti regolarmente macellati e 36 da animali deceduti) ci sono pervenute da due allevamenti a ciclo chiuso distinti per territorio (A e B), ma affini per gestione e tipologia aziendale.

Da queste due aziende il campionamento è stato effettuato sia prelevando le ghiandole surrenali dei suini naturalmente deceduti, sia dei soggetti sani sacrificati in macello per esigenze commerciali territoriali prima della fine dell'ingrasso, nonché di animali a fine carriera produttiva e riproduttiva.

Da tutti gli animali, sia quelli deceduti spontaneamente che quelli sacrificati in macello, nel più breve tempo possibile, è stata prelevata la ghiandola surrenale dx, controllandone il peso e valutandone l'aspetto macroscopico di volta in volta.

Le ghiandole sono state fissate prontamente in formalina neutra al 10% e diversamente processate a seconda della tipologia d'intervento: una porzione per essere congelata e l'altra per essere inclusa in paraffina e conseguente allestimento di varie sezioni, che successivamente sono state colorate per le ricerche istologiche ed istochimiche. Per le prime sono state adottate le consuete colorazioni ematossilina-eosina e tricromica di Masson; per l'esame istochimico si è fatto ricorso alla P.A.S. reazione ed alla colorazione Oil red O per evidenziare la c.d. componente fosfolipidica liposomiale.

Risultati

Sul piano macroscopico le surrenali prelevate dai 629 suini esaminati, deceduti spontaneamente o sacrificati, non hanno presentato particolari modificazioni nel loro assetto; solo in tre suinetti morti spontaneamente si è notata la presenza di qualche punteggiatura emorragica subcapsulare nello spessore della corticale, verosimilmente espressione di un processo tossico-infettivo in atto.

Va sottolineato che in ordine alla categoria di peso, riportata in tabella 1, non si sono rilevati rapporti di interdipendenza tra peso corporeo dei suini e peso delle surrenali, nè nei suini macellati che nei suini naturalmente deceduti per malattia. Le ghiandole hanno mostrato caratteristiche macroscopiche di normalità, per volume, forma e colore.

Le principali lesioni microscopiche riscontrate a carico delle surrenali sono riassunte nella tabella 2, che riporta anche la loro percentuale.

Dalla lettura della tabella si evince che circa i due terzi dei suini regolarmente macellati sono risultati privi di alterazioni microscopiche. Il rimanente terzo delle surrenali esaminate ha mostrato istologicamente processi patologici talvolta singolarmente e in diverse circostanze con due o più lesioni contemporaneamente.

Per contro due terzi delle surrenali appartenenti ai soggetti deceduti per malattia hanno presentato lesioni, quasi sempre plurime e di regola maggiormente estese.

Più in particolare nei singoli gruppi di suini, suddivisi per peso, età e funzione, possiamo dire che:

a) Gruppo suini di 15-25 Kg p. v.

Nei 28 suini di questo gruppo tra i soggetti sacrificati e quelli morti spontaneamente per malattia, pur considerando la presenza di modiche reazioni dei reperti da caso a caso, la surrenale a livello istologico ha mostrato i classici strati della corticale e della porzione midollare.

In dieci dei diciannove soggetti morti spontaneamente e in sei lattonzoli macellati la zona glomerulare è apparsa di spessore diminuito, variabile da zona a zona, con quadri di distrofia ed ipoplasia e tendenza a modificazioni dell'assetto morfologico delle cellule con citoplasma abbastanza omogeneo di aspetto cribroso e con nucleo rotondo o ovalare, intensamente basofilo. La zona fasciolata ha mostrato elementi cellulari a maggior intensità eosinofila, con cellule a citoplasma microvacuolizzato, nuclei di diametro maggiore e più colorati rispetto alla parte interna prossima alla zona sottostante. (Fig. 1)

In quattro soggetti morti spontaneamente si sono osservati infiltrati a focolaio di mononucleati nella fasciolata e nella midollare, nonché in altri parenchimi.

La zona reticolare ha presentato elementi di aspetto più o meno eosinofilo, con nucleo tendenzialmente basofilo, scarsamente tingibile.

La midollare è apparsa in tutti i campioni esaminati normalmente costituita da raggruppamenti di cellule globose, granulari attorno a capillari sinusoidi. Molte cellule hanno mostrato aspetto chiaro, grosso nucleo vescicoloso e cromatina disposta a reticolo. Sono stati riscontrati quadri di congestione vasale e fenomeni emorragici focali più frequentemente negli animali deceduti per malattia.

Nessun rilievo particolare da segnalare alla PAS reazione e discreta la reazione all'Oil red O.

b) Gruppo suini di 26-50 kg p.v.

Nei suini di questo gruppo, pur considerando la presenza di reperti variabili da caso a caso, le modificazioni istopatologiche riguardano principalmente la zona glomerulare che si presenta in alcuni soggetti di spessore più ridotto con quadri di ipoplasia ed una certa disorganizzazione, soprattutto in tre soggetti deceduti per malattia ed in altrettanti magroncelli macellati; in altri, sempre la glomerulare, manifesta quadri di stipamento cellulare.

In due soggetti si sono notati focolai necrotici coinvolgenti la zona glomerulare e quella fasciolata. (Fig. 2)

Nella zona fasciolata sono rinvenibili aspetti di microvacuolizzazione citoplasmatica nella maggior parte dei campioni con qualche focolaio di infiltrati linfoplasmacellulari.

L'area reticolare non ha evidenziato alterazioni morfologiche degne di nota.

Per quanto attiene lo stroma capsulare e la midollare non si sono riscontrati reperti significativi nei suini morti e macellati. Da segnalare che alcuni campioni hanno presentato focolai infiltrativi linfoplasmacellulari in quest'ultima zona. Anche a livello di vascolarizzazione e di struttura stromale d'organo non sono da segnalare variazioni.

Il contenuto in lipidi in ambito fascicolare e reticolare è sembrato tendenzialmente più marcato in alcuni soggetti deceduti spontaneamente. Nessuna variazione particolare alla PAS reazione.

Tre soggetti tra quelli deceduti naturalmente hanno mostrato quadri di congestione plurifocale.

c) Gruppo suini di 51-100 kg p.v.

La capsula non presenta reperti degni di nota tra suini macellati e morti per malattia anche se si sono talvolta osservate zone esili ed altre più o meno ispessite in prevalenza nei soggetti deceduti.

La glomerulare, ben visibile, non risulta uniforme nei nove animali esaminati. In alcuni campioni l'area ha presentato spessore contenuto, con solo due-tre strati di cellule, altre volte è apparsa modificata nell'assetto strutturale, ricca di elementi cellulari con scarso citoplasma, stipati, a nucleo allungato, raramente rotondeggiante con cromatina ben colorata e circoscritta. Gli stessi quadri, con qualche variazione individuale, si sono repertati sia nei soggetti morti che nei sacrificati. (Fig. 3)

La zona fasciolata si presenta in tutti i campioni ben sviluppata e spesso ricca di cellule micro e macrovacuolizzate; in sei campioni, di cui quattro di animali deceduti, si sono notate circoscritte infiltrazioni linfoplasmacellulari, osservate anche in altri parenchimi.

La reticolare quasi sempre è apparsa morfologicamente normale. In un soggetto si sono rinvenuti una ripartizione ed un assetto strutturale non sempre omogeneo.

La midollare è risultata ben sviluppata con sinusoidi dilatati e focolai di infiltrazione di linfomononucleati. In sei soggetti si è rilevata congestione vasale a carattere focale.

La PAS non ha mostrato significative variazioni tra i due sottogruppi: morti di malattia e sacrificati.

Da segnalare, per quanto attiene la colorazione dell'Oil red O, che la ripartizione dei lipidi in un soggetto deceduto per malattia ha espresso maggiore intensità di deposito.

d) Gruppo suini di 101-149 kg p.v.

Nei suini macellati nel periodo gennaio-luglio 2007 le sezioni istologiche microscopiche della corticale hanno presentato un rivestimento capsulare talora esile e tal'altra moderatamente ispessito.

In entrambi i sottogruppi di suini, morti e macellati, nella zona glomerulare, sempre ben visibile, si sono osservati per lo più quadri di stipamento ed altri di assottigliamento dello spessore cellulare. Non si sono rilevate particolari alterazioni nell'assetto degli elementi cellulari.

La fasciolata è apparsa quasi sempre ben sviluppata; in diversi campioni si è notata la presenza di contenute infiltrazioni linfoplasmacellulari senza riscontrare reazioni connettivali. (Fig. 4)

Abbastanza estesi i fenomeni di microvacuolizzazione citoplasmatica.

La zona reticolare non ha presentato variazioni nell'assetto morfostrutturale. Da segnalare, a carico della midollare, ben conservata e ricca di elementi cellulari colorati, la presenza talvolta di focali infiltrazioni linfoplasmacellulari.

Per quanto riguarda la reattività alle valutazioni istochimiche, con la reazione alla PAS nessun rilievo particolare, come pure alla colorazione del Oil red O.

I quadri microscopici osservati a livello delle ghiandole surrenali dei 18 suini di pari peso macellati dieci anni prima, non si sono discostati molto da quelli dianzi descritti.

Con maggior frequenza sembrano rinvenirsi fenomeni di assottigliamento e diradamento della zona glomerulare, con un certo disordine dell'assetto morfostrutturale; talvolta si riscontrano quadri di stipamento cellulare. Nella zona fascicolata si sono osservati quadri di iperemia dei sinusoidi, coinvolgenti la reticolare assottigliata e poco differenziabile dalla fascicolata stessa. Abbastanza frequente l'osservazione di isolotti di cellule con chiari reperti di microvacuolizzazione citoplasmatica.

Focolai di limfomononucleati sono talvolta rinvenibili nello spessore della zona fascicolata e nella midollare.

La PAS reazione e la colorazione dell'Oil Red O non hanno mostrato significative modificazioni del profilo istochimico della funzionalità surrenalica.

e) Gruppo suini di > 150 kg p.v.

La capsula surrenalica pur nella sua variabilità di spessore non ha presentato sensibili modificazioni nell'assetto morfologico tra i 229 suini, provenienti da 12 distinti allevamenti e macellati nel periodo gennaio-luglio 2007.

Per quanto attiene la corticale, si sono osservati in prevalenza quadri di normalità ed altri con glomerulare diminuita di spessore, associata a riduzione cellulare ed una certa modificazione nell'aspetto strutturale. Diversi soggetti hanno presentato invece un assetto surrenalico caratterizzato da stipamento dell'area glomerulare, a differente estensione, con addensamento e pluristratificazione. La zona fascicolata è apparsa molto ampia, talvolta con cellule microvacuolate; frequente il riscontro di circoscritte infiltrazioni linfoplasmacellulari. Il contenuto fosfolipidico ha assunto i caratteri della normalità. A carico della reticolare non si sono evidenziate particolari alterazioni morfologiche.

Si sono osservate nella midollare frequenti infiltrazioni focali di mononucleati. Non rari i quadri di congestione; in alcuni soggetti si sono osservate piccole emorragie focali a livello di corticale.

Nulla da rimarcare per quanto riguarda la PAS reazione e la colorazione all'Oil red O.

L'esame istologico delle surrenali dei 303 suini all'ingrasso macellati 10 anni prima ripropone gli stessi quadri patologici dianzi descritti, con qualche variazione non tanto sulla tipologia lesiva quanto sull'incidenza dei reperti. Sotto questo punto di vista due sono apparse le variazioni di maggior interesse nella valutazione microscopica comparativa delle ghiandole di questi due gruppi:

1) le surrenali dei suini macellati da oltre 10 anni hanno evidenziato una discreta prevalenza di fenomeni ipoplasici della zona glomerulare, talvolta modificata nel suo assetto architettonico, con conseguente minor appariscenza della stessa zona. Non infrequente il riscontro di isolotti di cellule con citoplasma vacuolizzato (Fig. 5);

2) l'altro rilievo caratteristico è rappresentato da una minor incidenza di infiltrati parvicellulari sia in zona fascicolata che midollare, rispetto ai soggetti di pari peso di più recente macellazione.

Per quanto attiene gli altri aspetti lesivi riscontrati, l'entità del danno, la localizzazione del quadro e l'incidenza percentuale, le lesioni osservate possono ritenersi sovrapponibili.

f) Scrofe

La capsula si è presentata leggermente ispessita. La glomerulare è presente con variazioni di spessore: a volte poco rappresentata, normale, altre abbastanza addensata.

La fascicolata si è manifestata costantemente ispessita con elementi cellulari microvacuolizzati, piuttosto voluminosi a nucleo piccolo, picnotico. Frequentemente si sono osservati aggregati linfoplasmacellulari monofocali.

La reticolare non ha presentato reperti degni di particolare menzione: è apparsa morfologicamente normale e più povera di materiale fosfolipidico. (Fig. 6)

In tutte le osservazioni, infine, la midollare è risultata ben sviluppata con sinusoidi dilatati. In due scrofe si sono rinvenuti piccoli focolai linfomonocitari. Nulla da segnalare alla PAS reazione.

g) Verri

Si sono rinvenuti ispessimenti capsulari non uniformemente ripartiti nei preparati osservati.

La glomerulare è apparsa stipata in tutti e quattro i soggetti, con diversi accumuli cellulari in più strati con cellule voluminose a nucleo picnotico.

La zona fascicolata è risultata particolarmente ampia con travate cellulari separate da sinusoidi frequentemente compressi. La reticolare si differenzia con difficoltà dalla fascicolata ed è sempre costituita da un numero limitato di strati cellulari.

Fascicolata e reticolare nell'insieme si sono mostrate abbastanza ricche di materiale fosfolipidico.

La midollare è apparsa ben conservata e ricca di elementi cellulari, con qualche nido linfomonocitario. Normale la PAS reazione.

Conclusioni

E' chiaro che volendo interpretare i reperti istomorfologici a carico delle ghiandole surrenali esaminate in suini di peso, di età, di condizioni di salute e di allevamento diversi, spontaneamente deceduti per malattia o normalmente macellati,

nell'intento di valutare il loro assetto morfofunzionale al momento del prelievo, ci troviamo di fronte a non poche difficoltà, in considerazione dei differenti quadri osservati, sul significato da attribuire ai riscontri istopatologici ed alle differenti condizioni cliniche ed ambientali degli animali stessi, nonché del periodo in cui si è indagato.

Premesso che l'esame morfologico della ghiandola surrenale figura tra i più ardui mezzi di studio per valutarne l'assetto morfofunzionale, sulla base dei nostri reperti ci sembra di poter affermare la veridicità di tale assunto, soprattutto sul piano interpretativo morfostrutturale. Le lesioni di maggior riscontro nei suini esaminati sono state verificate a carico della corticale surrenalica con modificazioni prevalenti a livello dell'area glomerulare, mentre fasciolata e reticolare non sembrano mostrare segni regressivi di particolare sofferenza morfofunzionale, ancor meno la componente midollare. Frequenti i rilievi di infiltrazioni interstiziali focali di mononucleati nell'impalcatura, sia della zona fasciolata sia della midollare, espressione reattiva a stimoli di varia natura, ma più verosimilmente conseguenti a pregresse infezioni virali.

Le modificazioni a carico della glomerulare sono caratterizzate da due aspetti distinti e quasi contrapposti: da una parte i riscontri avuti hanno mostrato, sia negli animali morti per malattia che nei suini macellati a differente peso, senza significatività di gruppo o sottogruppo, una certa tendenza alla disorganizzazione della fisionomia strutturale di tale zona, con cellule di dimensioni maggiori rispetto alla norma, abbastanza eosinofile a nucleo vescicoloso; dall'altra si sono osservati quadri di addensamento cellulare con elementi a nucleo allungato, raramente tondeggianti, picnotici.

La riduzione della stratificazione con fenomeni distrofici della zona glomerulare, associata talvolta a segni di disorganizzazione della struttura colonnare della zona fasciolata con quadri di microvacuolizzazione, soprattutto nei suini da 15 a 50 kg di p.v., morti per malattia o sacrificati, non è stato un evento infrequente da rilevare. Sono segnalate in letteratura diverse osservazioni necroscopiche in suinetti e magroncelli a seguito di una più o meno prolungata somministrazione di derivati 1,4 diossichinossalinici per la chemioprolifassi delle enteriti batteriche, con riscontri alquanto sovrapponibili a quelli da noi rilevati a carico della surrenale.

Per quanto riguarda i dati conseguiti in questo contesto patologico, occorre segnalare che le indagini recentemente eseguite, rispetto alle precedenti, nelle quali il materiale da esaminare proveniva da suini del peso superiore ai 100 kg macellati dieci anni prima, hanno evidenziato minor incidenza di tali riscontri a livello di strato glomerulare, sotto il profilo architettonico e della fisionomia citologica.

La maggior incidenza di riscontri regressivi a livello glomerulare, nelle surrenali dei suini macellati negli anni 1996-97, si può ricondurre al maggior utilizzo in quel periodo nell'allevamento suino di derivati 1,4 diossichinossalinici per prevenire e debellare le enteriti batteriche. Tali chemioterapici in questi ultimi anni sono stati vietati e tuttora ne è proibito l'impiego, pur riconoscendo che il loro uso illecito non sembra del tutto scomparso. In ordine a ciò l'attuale minor frequenza di patologie regressive nella zona glomerulare potrebbe derivare da un uso più limitato, in quanto illegale, di tali chemioderivati nelle profilassi antibatteriche delle enteriti del

suino. Dall'esame della letteratura, analoghi riscontri di coinvolgimento regressivo a carico degli ammassi cellulari della zona glomerulare della ghiandola surrenale sono stati descritti in ratti alimentati con diete ad alto contenuto di NaCl, prospettando l'ipotesi che tale quadro lesivo comporti un'ipofunzione surrenalica, soprattutto a carico dell'attività minerale. (10) Nel nostro contesto operativo non riteniamo ipotizzabile tale evenienza, soprattutto in rapporto alla differente provenienza dei suini campionati.

Per quanto attiene i diversi riscontri lesivi da noi osservati sempre in ambito glomerulare, caratterizzati da pluristratificazione, addensamento cellulare e fenomeni di iperplasia, meno nei giovani suini e più frequentemente nei soggetti all'ingrasso, in letteratura sono riportati quadri sovrapponibili da parte di Ball et al. (1974), che in uno studio condotto su suini da carne, per verificare l'influenza della corteccia surrenalica nel determinismo della sindrome da stress nel suino, ha osservato come la somministrazione per via intramuscolare a differenti dosaggi di prednisolone per 10 giorni a 34 suini, ha determinato in 31 suini fenomeni di iperattività cellulare nella zona glomerulare.

Riscontri di iperplasia della zona glomerulare e tendenza alla diminuzione della zona fasciolata e reticolare, sono segnalati in letteratura in ratti con dieta iposodica. (6)

A carico della zona fasciolata, nei vari gruppi e sottogruppi esaminati morti naturalmente o sacrificati, non si sono evidenziate grandi variabilità di reperto: la lesione principalmente osservata è stato il riscontro, abbastanza frequente, di contenuti fenomeni di microvacuolizzazione senza grande diffusione del processo. L'aver reperito in diversi campioni fenomeni più accentuati di microvacuolizzazione citoplasmatica va certamente messo in rapporto ad una riduzione della funzione della ghiandola secretoria in questi animali, in fase di adattamento reattivo omeostatico ad una nuova situazione nella quale si è venuto a trovare l'organismo, senza essere espressione di grave sofferenza per l'animale.

Altro riscontro che merita segnalazione, sempre a livello fasciolare, è stato il frequente rinvenimento di nidi di linfomononucleati, espressione di processi flogistici aspecifici cronicizzati, senza rilevare però reattività fibroconnettivali, la c.d. adrenalite corticale linfoistiocitaria.

Per quanto riguarda la comparsa di foci di linfomononucleati, questi sono stati segnalati anche da altri ricercatori che ritengono il fenomeno un'evenienza non del tutto infrequente nel suino, pur riconoscendo agli endoteli sinusoidali della corteccia surrenale la funzione di componente del sistema reticolo endoteliale. Va ricordato che in letteratura sono segnalati coinvolgimenti simili a livello di corticale surrenale del suino in corso di malattie virali generalizzate, quali le pesti, le citomegalovirosi dei suinetti, la PRRS, la PMWS, la pseudorabbia, le colibacillosi, il mal rosso, etc., con le caratteristiche flogosi parvicellulari e residui di aggregati di linfomononucleati. (3, 5, 8, 9, 12, 13)

Circa la componente reticolare dei campioni esaminati, salvo leggere variabilità di riscontri, questa non ha mai mostrato reperti morfo-strutturali dissimili; in particolare non è mai porsa aumentata di spessore o con assetto significativamente disorganizzato, sia nei soggetti morti per malattia come in quelli sacrificati al macello.

Benson e Anderson (1973), esaminando le ghiandole surrenali di 50 suini macellati affetti da artriti croniche, hanno osservato a carico della reticolare surrenalica un forte accumulo di lipidi ed un quadro marcato di ipoplasia cellulare con infiltrazioni fibroconnettivali ed ispessimento della capsula e della trabecolatura ghiandolare, la qual cosa è stata segnalata anche da altri ricercatori a livello umano e di primati. Nella nostra indagine non ci siamo mai imbattuti in simili riscontri, sia sul piano delle colorazioni istologiche che istochimiche.

In campo suinicolo la zona reticolare surrenalica ha ricevuto particolare attenzione da quando si è prospettata l'ipotesi che questa area fosse coinvolta nella sindrome da stress del suino (PSS); in questa patologia l'area reticolare spesso risulterebbe caratterizzata da forte accumulo di fosfolipidi in associazione ad altre alterazioni cellulari a carattere regressivo. (6)

Nelle nostre indagini non abbiamo riscontrato tali depositi e nemmeno abbiamo rilevato disorganizzazione potenzialmente riportabili a tale sindrome condizionata.

E' noto che nell'ambito degli eventi stressanti, soprattutto cronici, le alterazioni morfologiche più appariscenti si manifestano nella deplezione lipidica a focolaio, talvolta diffusa; l'evento interessa aree limitate della corteccia surrenalica, variamente estese, ma sempre comprendenti sia l'area fascicolata che la zona reticolare, con la scomparsa dei caratteri morfologici distintivi delle due aree, mentre non si osservano modificazioni a carico della glomerulare. Soprattutto in casi di stressors intensi e perduranti possono associarsi i fenomeni regressivi summenzionati accompagnati da alterazioni cellulari a carattere degenerativo o necrobiotico che si manifestano con quadri di contenuta citolisi e focolai di necrosi.

Per quanto attiene lo studio della midollare surrenalica, quest'ultima non ha rivelato sensibili variazioni dalla norma, sia negli animali morti per malattia che nei soggetti sacrificati. Principale punto è il riscontro, abbastanza frequente, di aree circoscritte di flogosi parvicellulare nella midollare con focolai di linfomononucleati, affini per estensione e frequenza a quelli rinvenuti a livello di zona fascicolata. L'incidenza di tali reperti di adrenalite cortico-midollare linfoistiocitaria nelle due aree non sembra subire variazioni col progredire dell'età dei soggetti esaminati.

Non senza importanza, a questo riguardo, potrebbero essere pregresse infezioni virali multisistemiche (PRRS, PMWS, pseudorabbia) o esiti di vaccinazioni a cui i suini sono inevitabilmente sottoposti per modalità d'allevamento e condizioni ambientali non sempre favorevoli.

Un dato che emerge dalle presenti ricerche e che sembra rivestire un certo interesse è rappresentato dalla minor frequenza di riscontri flogistici aspecifici, similari nelle surreni di suini macellati nel periodo 1996/97, rispetto a quelli sacrificati nel 2007. Con le riserve necessariamente presenti in chi si accinge a trarre conclusioni dallo studio da noi messo in atto, riteniamo che la ragione di tale riduzione percentuale delle reazioni descritte potrebbe ricondursi ad una più limitata presenza in quel periodo negli allevamenti di malattie virali, quali PRRS, PMWS, pseudorabbia, etc., malattie che si sono particolarmente diffuse in questi ultimi anni negli allevamenti suinicoli del nostro comprensorio.

Per quanto attiene le altre alterazioni morfostrutturali registrate, piccoli

focolai emorragici interessanti i tessuti interstiziali e gli spazi linfatici, nonché quadri congestizi circoscritti soprattutto nella corticale, la maggior parte dei ricercatori ritiene tali riscontri abbastanza comuni e non di particolare significato patognomonico. (13)

Nella presente nota ci siamo limitati alla semplice esposizione dei dati relativi alla morfologia microscopica della ghiandola surrenale in suini di varie età e peso in condizioni diverse, deceduti per malattia o regolarmente macellati, sacrificati in varie situazioni fisiopatologiche che potranno esser meglio valutate in prossime ricerche, in cui si dovrà tener conto del contingente aspetto clinico, ambientale ed anamnestico e del periodo temporale nel quale si sta operando.

Sebbene non ci sia sempre possibile fornire una precisa e corretta interpretazione dei diversi quadri lesivi che in questa indagine abbiamo presentato, dall'insieme della panoramica mostrata sono emersi egualmente dei dati di un certo interesse che possiamo accettare in quanto rappresentano un contributo, seppur modesto, all'approfondimento delle conoscenze sulle condizioni fisiopatologiche in periodi diversi delle ghiandole surrenali nei suini del comprensorio preso in considerazione.

Solo ulteriori e più ampie ricerche potranno chiarire meglio il significato che si devono attribuire ai nostri reperti, senza modificare la realtà di fenomeni obiettivi legati a condizioni fisiopatologiche generali d'allevamento e di macello.

La messa a fuoco del problema, averne richiamato l'attenzione, è già un risultato immediato del nostro lavoro, che siamo certi offrirà spunti ed interessi sempre maggiori, tenuto conto della partecipazione di questa ghiandola ad un notevole complesso di funzioni in ambito metabolico (idrico-salino, glicoproteico, lipidico), genitale, nonché nel contesto della stessa omeostasi generale verso gli stimoli lesivi interni ed esterni.

Bibliografia

- 1) Ball R.A., Topel D.G., Marple D.N. Annis C.L. (1974) Glicocorticoid induced stress susceptibility in swine: adrenocortical pathology. *Comp. J. Comp. Med.*, 38: 153-159.
- 2) Benson R.O., Anderson A.W. (1973) Observations on the adrenal glands of normal swine and swine affected with arthritis. *Am. J. Vet. Res.*, 34: 1247-1251.
- 3) Capen C.C. (1993) The endocrine glands. In: Jubb K.V.F., Kennedy P.C., Palmer N. *Pathology of domestic animals*, 4° ed.; Ac Press N.Y.
- 4) Corradi A., Di Lecce R., Cantoni A.M., Fusari A., Sidoli L., Ubaldi A., Borghetti P., Cabassi E. (1994) Avvelenamento acuto da carbadox nel suino. Osservazioni anatomopatologiche, comportamento degli elettroliti sierici e degli ormoni correlati. *Argomenti di Patologia Veterinaria (Scritti in memoria del prof. Luigi Leinati)* Vol.36: 261-271, Ed. Fond. Iniz. Zooprof. Zoot., Brescia.
- 5) Edington N., Plowright P., Watt R.G. (1976) Generalized porcine cytomegalic inclusion disease. *J. Comp. Pathol.*, 86: 191-202.
- 6) Eistein A.B. (1995) Effect of sodium chloride feeding on adrenocortical hormone secretion of salt deprived rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 101: 850-852.
- 7) Giampalmo A., Badini A., Carli F., Castellante A., Paladino B., Quaglia A.C.

- (1990) Patologia del surrene e dell'ipofisi nell'AIDS. *Pathologica*, 82: 527-530.
- 8) Kennedy S., Moffet D., Mc Neilly F., Meehan B., Ellis J., Krakowka S., Allan G.M. (2000) Reproduction of lesions of Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome by infection of conventional pigs with porcine Circovirus type 2 alone or in combination with porcine Parvovirus. *J. Comp. Path.*, 122: 9-24.
 - 9) Marcato P.S. (2002) Patologia sistematica veterinaria. Edagricole, Bologna
 - 10) Michalska Z. (1971) Pathomorphology of sodium chloride poisoning. Histopathologicals, histochemical and histoenzymological studies of changes in the pituitary-adrenal system. *Folia Histochem. Cytochem.*, 9: 51-75.
 - 11) Nabunrs M.J.A., Van der Molen E.J., De Graaf G.J., Jager L.P. (1990) Clinical signs and performance of pigs treated with different doses of carbadox, cyadox and olaquinox. *J. Vet. Med. A.*, 37: 68-76.
 - 12) Rossow K.D. (1998) Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome. *Veterinary Pathology*, 35: 1-20.
 - 13) Sims L.D., Glastonbury J.R.W. (1996) In: *Pathology of the Pig. A diagnostic guide*. Ed. Pig Research and Development Co., Victoria.
 - 14) Tamashiro K.L.K., Nguyen M.M.N., Sakai R.R. (2005) Social stress: from rodents to primates. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 26: 27-40.
 - 15) Van der Molen E.J., De Graaf G.J., Baars A.J. (1989) Persistence of carbadox-induced adrenal lesion in pigs following drug withdrawal and recovery of aldosterone plasma concentration. *J. Comp. Path.*, 100: 295-304.

Tabella 1. Tabella riassuntiva del periodo di prelievo delle ghiandole surrenali e della provenienza dei suini raggruppati in rapporto al peso ed alla funzionalità riproduttiva.

PERIODO di PRELIEVO	SUINI MACELLATI				SUINI MORTI		TOTALE
	OTT.1996 DIC. 1997	GENNAIO-LUGLIO 2007			GENNAIO- LUGLIO 2007		
PROVENIENZA SUINI	ALLEV. DIVERSI	ALLEV. DIVERSI	ALL.A	ALL. B	ALL. A	ALL. B	
p.v. 15 - 25 kg			9		4	15	28
p.v. 26 -50 kg			6	2	2	4	14
p.v. 51 – 100 kg			3		3	3	9
p.v. 101 – 149 kg	*18		4	4	1	1	28
p.v. oltre 150 kg	**303	***120	43	66			532
SCROFE			8	3	2	1	14
VERRI			2	2			4
TOTALE	321	120	75	77	12	24	629

All. A = allevamento in provincia di Bergamo

All. B = allevamento in provincia di Cremona

* suini di 3 allevamenti lombardi

** suini di 36 distinte latterie emiliane e lombarde

*** suini di 10 latterie lombarde

Tabella 2. Quadro riassuntivo delle principali lesioni microscopiche riscontrate nelle surrenali, espresse in percentuale.

	SUINI MACELLATI		SUINI MORTI
	OTTOBRE 1996/ DICEMBRE 1997	GENNAIO- LUGLIO 2007	GENNAIO- LUGLIO 2007
N° SOGGETTI	321	272	36
NELLA NORMA	64%	66%	31%
EMORRAGIE FOCALI		0,7%	28%
CONGESTIONE PLURIFOCALE	24%	29%	25%
FOCOLAI NECROTICI			8%
INFILTRAZIONI TISSUTALI PARVICELLULARI	7%	29%	44%
MICROVACUOLIZZAZIONE	17%	21%	14%
RAREFAZIONE ZONA GLOMERULARE	21%	14%	36%
ADDENSAMENTO ZONA GLOMERULARE	16%	27%	22%

Fig. 1. Suinetto ♀ 23 kg p.v., deceduto spontaneamente. Ghiandola surrenale. Quadri di distrofia e ipoplasia della zona glomerulare, più intensa eosinofilia nella zona fasciolata e fenomeni di vacuolizzazione. (E.-E. 10 X)

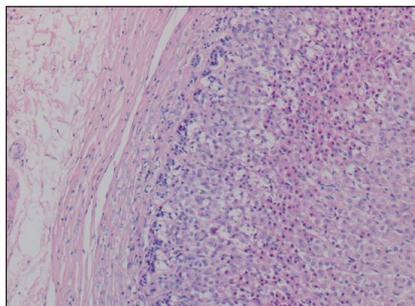


Fig. 2. Suinetto ♀ 35 kg p.v., deceduto spontaneamente. Ghiandola surrenale. Focolaio di necrosi interessante la zona glomerulare e fasciolata. (E.-E. 4 X)

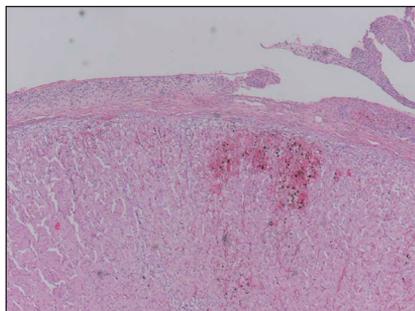


Fig. 3. Magrone castrato, macellato, 92 kg p.v. Ghiandola surrenale. Disorganizzazione morfostutturale della zona glomerulare con stipamento degli elementi cellulari. Quadri di microvacuolizzazione citoplasmatica e di infiltrazione parvicellulare linfomonoistocitaria. (E.-E. 10 X)

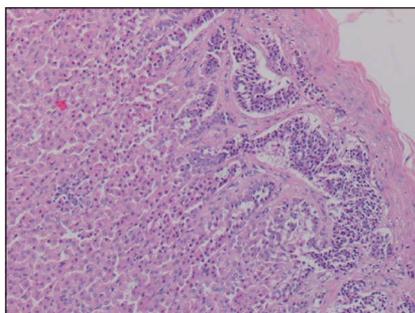


Fig. 4. Suino castrato, deceduto spontaneamente, 120 kg p.v. Ghiandola surrenale. Focolai di infiltrazione di linfomononucleati. Epinefrite linfoistiocitaria. (E.-E. 10 X)

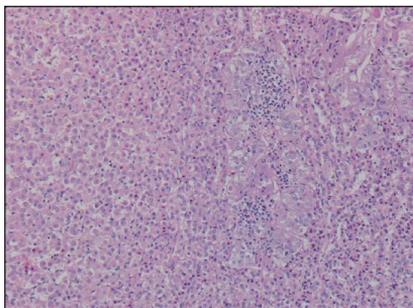


Fig. 5. Suino castrato, macellato, 170 kg p.v. Ghiandola surrenale. Zona glomerulare modificata nell'assetto morfoarchitetonico. Fenomeni di distrofia, ipoplasia con micro e macrovacuolizzazione citoplasmatica. (E. - E. 20 X)

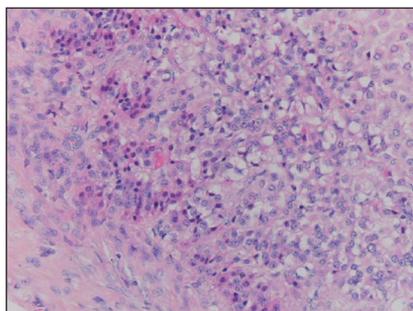
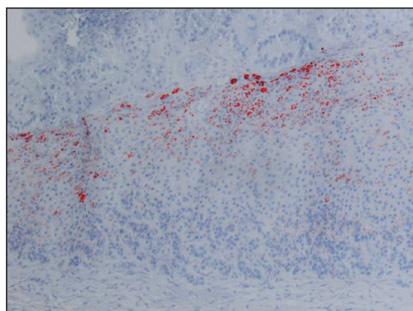


Fig. 6. Scrofa, fine carriera, macellata, 180 kg p.v. Ghiandola surrenale. La ripartizione ed il contenuto liposomiale appaiono nell'insieme piuttosto scarsi. (Oil Red O, 10X)



**CLINICAL COMPARISON OF
MEDETOMIDINE-BUTORPHANOL,
MEDETOMIDINE-MIDAZOLAM AND
MIDAZOLAM-BUTORPHANOL FOR INTRAMUSCULAR
PREMEDICATION IN THE ENGLISH BULLDOG.**

**CONFRONTO DEGLI EFFETTI CLINICI DI
MEDETOMIDINA-BUTORFANOLO,
MEDETOMIDINA-MIDAZOLAM E
MIDAZOLAM-BUTORFANOLO UTILIZZATI PER VIA
INTRAMUSCOLARE NELLA PREMEDICAZIONE DEL
BULLDOG INGLESE**

Leonardi Fabio, Simonazzi Barbara, Martini Filippo Maria, Zanichelli Stefano,
Sansone Teresa, Botti Paolo.

Key words

Anaesthesia, sedation, dog, English bulldog.

Parole chiave

Anestesia, sedazione, cane, bulldog inglese.

Summary

The objective of the study is to compare the combinations of medetomidine-butorphanol, midazolam-butorphanol and medetomidine-midazolam for intramuscular premedication in the English bulldog, a brachycephalic breed with an increased anesthesiological risk.

21 English Bulldogs were sedated or anaesthetized. They were divided into three groups (A, B and C) of 7 individuals. The subjects of group A were premedicated with butorphanol (0.2 mg/kg) and medetomidine (7 μ g/kg), the ones of group B with butorphanol (0.2 mg/kg) and midazolam (0.35 mg/kg) and the ones of group C with medetomidine (7 μ g/kg) and midazolam (0.35 mg/kg). Heart and respiratory rates and body temperature were recorded every 5 minutes after premedication. The level of sedation was assessed. General anaesthesia was induced by intravenous administration of propofol and was maintained by isoflurane.

Premedication with midazolam-butorphanol resulted in mild changes, while

Fabio Leonardi: Sezione di Clinica Chirurgica Veterinaria e Medicina d'Urgenza, Dipartimento di Salute Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma, via del Taglio 8, 43100, Parma, Italia.
e-mail: fleofvet@hotmail.com
telefono: 0521032779

other mixtures caused significant decreases in heart and respiratory rates. Medetomidine-butorphanol produced a better and faster sedation than other combinations. The dose of propofol for induction and the concentration of isoflurane for maintenance were significantly lower when premedicating by medetomidine.

Balanced anaesthesia that combined α_2 -adrenergic agonists, benzodiazepines and opioids is clinically useful and safe in the English bulldog. Medetomidine-butorphanol and medetomidine-midazolam induce a good sedation with appropriate analgesia and muscle relaxation, sufficient for performing procedures of intermediate level of pain. Midazolam-butorphanol produces a poor level of sedation in healthy English Bulldogs, but it may be useful in old and sick subjects because of its minimal cardiorespiratory effects.

Riassunto

Obiettivo dello studio è confrontare gli effetti delle associazioni medetomidina-butorfanolo, midazolam-butorfanolo e medetomidina-midazolam, somministrate per via intramuscolare, nella premedicazione del bulldog inglese, razza brachicefalica con rischi anestesiológicos maggiori.

Abbiamo valutato 21 bulldog inglesi: 2 solo sedati e 19 sedati e poi anestetizzati. Suddivisi in 3 gruppi di 7 soggetti, sono stati premedicati con: gruppo A butorfanolo (0.2 mg/kg) e medetomidina (7 μ g/kg), gruppo B butorfanolo (0.2 mg/kg) e midazolam (0.35 mg/kg), gruppo C medetomidina (7 μ g/kg) e midazolam (0.35 mg/kg). Nei 20 minuti seguenti la premedicazione, sono state rilevate, ogni 5 minuti, frequenze cardiaca e respiratoria, temperatura e valutato il livello di sedazione. L'anestesia è stata indotta con propofol e mantenuta con isofluorano.

L'associazione midazolam-butorfanolo ha avuto minimi effetti depressivi mentre le altre combinazioni hanno determinato una significativa depressione cardiorespiratoria. La sedazione migliore e più rapida è stata ottenuta con medetomidina-butorfanolo. L'utilizzo della medetomidina nella premedicazione ha significativamente ridotto la dose di propofol per l'induzione e la concentrazione d'isofluorano per il mantenimento.

Tutte le associazioni impiegate sono risultate maneggevoli, efficaci e sicure nel bulldog inglese. Medetomidina-butorfanolo e medetomidina-midazolam hanno assicurato una buona sedazione con livelli di analgesia e miorelaxamento sufficienti per procedure mediamente dolorose. L'associazione midazolam-butorfanolo ha determinato uno scarso livello di sedazione, ma per i suoi minimi effetti depressivi cardiopolmonari può essere utilizzata anche in animali anziani e debilitati.

Introduction

The first reference to "bulldog" dates back to 1609. It was originally employed for the "bull baiting" and its features (short legs and muzzle) reflect this. The English bulldog is a brachycephalic breed: its facial index is twice mesocephalic breeds' one. As a consequence, its short skull results in a dog having an excessive amount of nasal and pharyngeal mucosae compressed into a limited bony space, with

poorly developed nares and a soft palate that is too long. These primary anatomical changes produce upper way resistance and obstruction, increased inspiratory effort and excessive negative nasopharyngeal and laryngeal pressures on inspiration. Consequently, these primary changes may cause secondary changes due to the high negative inspiratory pressure: oedema and inflammation of the pharyngeal and laryngeal mucosae, eversion of the laryngeal saccules and, occasionally, laryngeal collapse. The English bulldog sometimes presents also reduction of the cross-sectional of the trachea which further increases the resistance to the air flow and the work of breathing. In addition, vagal tone is frequently high in brachycephalic dogs: vagal stimulation associated with pharyngeal manipulation, caused by difficult intubation, can contribute to significant bradycardia. The most frequently reported clinical signs in patient with brachycephalic syndrome are noisy respirations and/or heat intolerance (4).

Anaesthetic management is related to the severity of clinical signs at presentation and degree of airway obstruction. Some diagnostic and therapeutic procedures are possible only with a good anaesthesia including analgesia and myorelaxation. Balanced anaesthesia that combined α 2-adrenergic agonists, benzodiazepines and opioids is clinically useful. These substances may have also side effects on cardiac and respiratory systems, but it is known that drug combinations with low doses produce more reliable premedication and less side effects than a higher dose of each drug alone (12).

This clinical study was conducted to compare the effects of three different drug combinations, based on medetomidine, midazolam and butorphanol, previously used in other dog's breeds (3, 6, 7, 8, 12, 14), (medetomidine-butorphanol, midazolam-butorphanol and medetomidine-midazolam).

Materials and Methods

The study included 21 English Bulldogs (10 males and 11 females) led to Veterinary Surgery and Emergency Care Section of Animal Health Department of Veterinary Medicine Faculty of Parma.

Their mean age was 25.7 ± 17.3 months (range, 5 to 72 months) and mean body weight 24.4 ± 4.1 kg (range, 15 to 32 kg). Because all patients required sedation or general anesthesia for diagnostic or surgical procedures, they were fasted for 12 hours prior to anaesthetic procedures (table 1). All patients were classified as ASA 2 after a standard clinical examination preceding premedication and general anaesthesia. We asked also to the owners if their dogs showed some clinical signs related to the brachycephalic syndrome.

We used following doses for the premedication: butorphanol (Dolorex, Intervet Italia, Peschiera Borromeo, Italy) 0.2 mg kg⁻¹, medetomidine (Domitor, Pfizer, Rome, Italy) 7 μ g kg⁻¹ and midazolam (Midazolam) 0.35 mg kg⁻¹. English Bulldogs were divided into three groups of 7 individuals (tables 2, 3 and 4) on the basis of drugs combination used for the premedication: group A (medetomidine-butorphanol), group B (midazolam-butorphanol) and group C (medetomidine-midazolam). The mixture was injected intramuscularly in the femoral quadriceps. As soon as pos-

sible we inserted to all animals an intravenous catheter (diameter 22 or 20 G) into cephalic vein and lactated Ringer's solution was infused at the rate of 7-10 ml kg⁻¹ h⁻¹ (Ringer lactate, ACME, Milano, Italy).

The level of sedation was assessed and was classified as good, moderate or poor. Good sedation was such a state when the animal resumed lateral recumbence and it was easy to handle without any defence reaction. Moderate sedation was such a state when the subject took up lateral or sternal recumbence and handling resulted in defence reactions. Poor sedation resulted in the animal not resuming either lateral or sternal recumbence, reacting by defence responses and being able to walk. We recorded the time (minutes after premedication) in which ataxia, sternal recumbence and maximum effect (lateral recumbence and no defence reactions) appeared. We monitored heart and respiratory rates and rectal body temperature prior to premedication (T0) and every five minutes (T5, T10, T15 and T20) for twenty minutes after premedication. Occurrence of adverse reactions was monitored and recorded. If necessary, after preoxygenation with 100% oxygen (O₂) by use a facemask, general anaesthesia was induced with propofol (Rapinovel, Schering-Plough Animal Health, Harefield, UK) in the dose to result in loss of laryngeal reflex that enabled orotracheal intubation performed with a Rüşh probe. Patient were put on a half-closed breathing circuit of the inhalation machine (Fabius, Dragër Italia, Corsico, Italy) and supplied with a mixture of oxygen (flow rate: 100 ml kg⁻¹ min⁻¹) and isoflurane (Isoflurane, Schering-Plough Animal Health, Harefield, Uxbridge, UK). Animals were monitored during general anaesthesia using the monitors PM8050 (Drager Italia, Corsico, Italy) and Guardian Byosis (Schiller, Esaote, Genova, Italy). We administered to the patients submitted to surgical procedures carprofen (Rimadyl) 4 mg kg⁻¹ iv 15 minutes prior to surgery, cefazolin (Cefazolina, Merck, Frankfurter, Germany) 20 mg kg⁻¹ iv at the beginning and at the end of surgery. During recovery, we evaluated the opportunity of the administration of atipamezole (Antisedan, Pfizer, Rome, Italy) in patient sedated using medetomidine.

Results are reported as mean \pm standard deviation (SD). Statistical evaluation was performed using Student t test and included comparison of parameters characterising both groups of animals: age, weight, heart rate, respiratory rate, body temperature, dose of propofol used for the induction of general anesthesia and concentration of isoflurane necessary to maintain a surgical plain of anesthesia. The significance was set at $p < 0.05$.

Results

No significant difference was recorded between groups about weight, while the dogs of group B were significantly younger than animals of group C.

No side effects were recorded in group A. In group B, one dog (dog n° 13) presented apnoea after induction with propofol. In group C, we recorded two cases of apnoea (dogs n° 18 and 19) and two cases of vomiting (dogs n° 16 and 19) after premedication.

5 animals in group A and 6 in group B were administered atipamezole during recovery. The dose (mean \pm SD) administered in groups A and C was respectively

$29.5 \pm 9.7 \mu\text{g kg}^{-1}$ and $22.2 \pm 4.4 \mu\text{g kg}^{-1}$.

Heart rate (table 5)

In groups A and C, heart rates were significantly reduced at T5. These reductions went on at T10, T15 and T20. No significant differences were recorded in group B. Heart rate was significantly higher in group B than in groups A and C at T20.

Respiratory rate (table 6)

In groups A and C, respiratory rates were significantly reduced at T5. These reductions went on at T10, T15 and T20. In group B, all subjects presented polypnea at T5 and T10. The data at T0, T15 and T20 in table 6 regarded only 3 dogs because the others had polypnea.

Body temperature (table 7)

In group A, body temperature increased; this increase was significant at T10 and T15. In group B, body temperature decreased; this reduction was significant at T20. In group C, body temperature was significantly increased at T20.

Level of sedation (table 8)

In groups A and C good level of sedation was achieved in all individuals, but significantly more rapidly in group A than in group C. In group B a moderate level of sedation was achieved in all individuals.

Dose of propofol

Propofol was not used in 2 dogs of group A. The dose of propofol (mean \pm SD) administered to induce general anesthesia in groups A, B and C respectively amounted to $1.6 \pm 0.2 \text{ mg kg}^{-1}$, $2.2 \pm 0.3 \text{ mg kg}^{-1}$ and $1.5 \pm 0.3 \text{ mg kg}^{-1}$. The dose of propofol used to induce general anesthesia was significant lower in groups A and C than in group B. There was no significant difference between groups A and C.

Concentration of isoflurane

The concentration of isoflurane (mean \pm SD) administered to maintain general anesthesia in groups A, B and C respectively amounted to $1.7 \pm 0.2 \%$, $2.2 \pm 0.7 \%$ and $1.8 \pm 0.2 \%$. The concentration of isoflurane to maintain general anesthesia was significant lower in groups A and C than in group B. There was no significant difference between groups A and C.

Discussion

English Bulldogs are usually exuberant and their physical restraint is difficult. Consequently, sedation plays an important role. Premedication has an increased anesthesiological risk because of primary and secondary anatomical changes of the upper way of this breed.

Combination of premedication drugs has been reported to reinforce the sedative and analgesic actions of the single drug with the subsequent reduction in doses and adverse effects (2, 12).

As previously reported (6), also in our study the combination of midazolam and butorphanol produced a moderate level of sedation and mild changes in cardiopulmonary functions because their effects on vital function are minimal (13). Midazolam is used as a tranquilizing in human medicine, but it has not been used alone for small animals because it induced ataxia and transient agitation (2). Consequently,

midazolam is often associated to other drugs in order to avoid these side effects. It is known that midazolam-butorphanol induces mild sedation in healthy and young dogs while produces a deeper sedation in old or sick animals (6). From our point of view, this mixture is not useful for pharmacological restraint of a healthy English Bulldog, but it may be recommended for sick or old subjects or patients with cardiovascular and respiratory disease. The use of medetomidine improves the quality of premedication: a good level of sedation was obtained in all dogs premedicated by a combination containing medetomidine. The maximum effect has been produced more rapidly with medetomidine-butorphanol than medetomidine-midazolam, probably due to better synergism between medetomidine and butorphanol. The synergic mechanism of action of midazolam with medetomidine is unknown while it has been demonstrated that α_2 -adrenergic agonists (medetomidine) and opioids (butorphanol) act synergistically at the central nervous system (CNS) to produce analgesic effect (2) because the distribution of opioids receptors is similar to that of α_2 -adrenoceptors. In fact, sedative effect of the opioids results from a hyperpolarisation of the neurons in the locus coeruleus, where α_2 -adrenoceptors also act (10). The dogs sedated with the mixture medetomidine-butorphanol assumed lateral recumbency within about 8 minutes. Ko et al. (3) reported that medetomidine 30 $\mu\text{g kg}^{-1}$ and butorphanol 0.2 mg kg^{-1} produced lateral recumbency and no defence reactions 6 minutes after the injection. This disagreement is probably attributable to the lower dose of medetomidine we used.

Even if the dose of medetomidine we administered is lower than ones used in other findings (range, 10 to 40 $\mu\text{g kg}^{-1}$), our data agree with results reported in previous works (2, 3, 5, 12). The medetomidine associated with midazolam or butorphanol ensured a good sedation, but produced a decrease of heart and respiratory rates. Medetomidine is a potent selective α_2 -adrenergic agonist with depressive cardiovascular (bradycardia, arrhythmias, rise in vascular resistance and cardiac output drop) and respiratory (bradypnoea) effects (11). We cannot exclude that also butorphanol contributed to the depression of vital function. In fact, butorphanol alone has minimum side effects on cardiovascular system, but the bradycardic effects of medetomidine and butorphanol seemed to be additive (1). The same additive effect has not been demonstrated about medetomidine-midazolam. It is probably that midazolam enhances the sedative effect of medetomidine, but it doesn't very likely play an important role in cardiac and respiratory changes recorded in group C because midazolam itself has minimal cardiopulmonary effects (13). Premedication drugs influence not only cardiorespiratory function, but also body temperature and generally cause hypothermia because of a reduction of basal metabolism. In accordance to this theory, the combination midazolam-butorphanol (group B) produced a decrease of body temperature. On the contrary, in groups A (medetomidine-butorphanol) and C (medetomidine-midazolam) body temperature increased. From our point of view medetomidine played an important role because it has a biphasic mechanism of action: there is a peripheral transient vasoconstrictive effects of α_2 -adrenoceptors, that causes a transient increase of body temperature, followed by a reduction of muscle activity, responsible for the decrease of body temperature (7).

Another side effect recorded during premedication was vomiting. We supposed that it was due to the emetic effect of medetomidine or to the predisposition

of brachycephalic breeds to vomiting during induction and recovery from general anaesthesia (9).

The premedication ensured a sweet induction and produced a sparing effect on the induction dose of propofol and on the concentration of inhalants for the maintenance (8). Likewise in other studies, also in our experience the combination of medetomidine, midazolam and butorphanol as premedicant drugs enabled to use a low induction dose of propofol (6, 14) and a low concentration of isoflurane for the maintenance of general anaesthesia (8). The doses are significantly lower using medetomidine. As reported by Rauser et Lexmaulova (12), it is above all due to the sedative action of medetomidine and its synergic mechanism of action with butorphanol and midazolam. 1 dog in group B and 2 dogs in group C showed temporary apnoea immediately after the administration of propofol. An endotracheal tube was placed and an assisted or controlled ventilation was started with no subsequent complications. From our point of view and in accordance with Paddleford (9), apnoea was probably caused by the excessive speed of administration of propofol.

The recovery must be careful in order to ensure cardiovascular and respiratory functions. Atipamezole may be useful for this purpose. The dose of atipamezole we used was three or four times higher than the preceding medetomidine's one and it has been effective, devoid of side effects and induced a safe recovery (15).

Conclusion

The English bulldog is a brachycephalic breed and has an increased anaesthesiological risk because its primary and secondary anatomical changes cause upper airway obstruction and resistance. Balanced anaesthesia that combined $\alpha 2$ -adrenergic agonists, benzodiazepines and opioids is clinically useful and safe in the English bulldog. Medetomidine-butorphanol and medetomidine-midazolam induce a good sedation with appropriate analgesia and muscle relaxation, sufficient for performing procedures of intermediate level of pain, even if the former combination has a rapid onset of action than the latter. Midazolam-butorphanol produces a poor level of sedation in healthy English Bulldogs, but it may be useful in old and sick subjects because of its minimal cardiorespiratory effects.

Acknowledgments

The authors wish to thank Mr Giuseppe Bertaccini for his technical support.

Table 1. Number of diagnostic and surgical procedures in which the patient was in need of sedation (S) or general anesthesia (GA).

Procedure	S	GA
1-Elbows radiograph	1	
2-Epilation of distichiasis	1	
3-Soft palate resection		7
4-Entropion		2
5-Prolapsed third eyelid gland		1
6-Entropion and prolapsed third eyelid gland		1
7-Bilateral elbow arthroscopy		1
8-Trochleoplasty		1
9-Shoulder and elbow radiograph		1
10-Knee arthroscopy		1
11-Endoscopy of the larynx		1
12-Enucleation of the globe		1
13-Laryngeal sacculotomy		1
14-Reconstruction of cruciate ligament		1

Table 2. Patient (indicated with a number), sex (F, female; M, male), procedures (reported with the corresponding number of the table 1), age in months, weight in kg and presence (yes) or absence (no) of brachycephalic syndrome (BS) of subjects of group A (medetomidine-butorphanol). About age and weight, mean \pm standard deviation (SD) is reported.

Patient (Sex)	Procedure	Age (months)	Weight (Kg)	BS
Dog n° 1 (F)	1	15	26	no
Dog n° 2 (F)	8	13	23	no
Dog n° 3 (F)	2	72	25	no
Dog n° 4 (M)	3	12	27	yes
Dog n° 5 (M)	4	22.8	25	no
Dog n° 6 (M)	9	15	26	no
Dog n° 7 (M)	3	24	24	yes
Mean \pm SD		24.8 \pm 21.3	25.1 \pm 1.3	

Table 3. Patient (indicated with a number), sex (F, female; M, male), procedures (reported with the corresponding number of the table 1), age in months, weight in kg and presence (yes) or absence (no) of brachycephalic syndrome (BS) of subjects of group B (midazolam-butorphanol). About age and weight, mean \pm standard deviation (SD) is reported.

Patient (Sex)	Procedure	Age (Months)	Weight (Kg)	BS
Dog n° 8 (M)	3	15	27	yes
Dog n° 9 (F)	4	12	22	no
Dog n° 10 (M)	6	12	26	yes
Dog n° 11 (M)	5	5	21	no
Dog n° 12 (F)	3	5.5	15	yes
Dog n° 13 (F)	10	48	25	no
Dog n° 14 (F)	14	36	20	no
Mean \pm SD		19.1 \pm 16.4	22.3 \pm 4.1	

Table 4. Patient (indicated with a number), sex (F, female; M, male), procedures (reported with the corresponding number of the table 1), age in months, weight in kg and presence (yes) or absence (no) of brachycephalic syndrome (BS) of subjects of group C (medetomidine-midazolam). About age and weight, mean \pm standard deviation (SD) is reported.

Patient (Sex)	Procedure	Age (Months)	Weight (Kg)	BS
Dog n° 15 (M)	12	60	31.6	no
Dog n° 16 (F)	13	36	23	yes
Dog n° 17 (M)	7	15	32	no
Dog n° 18 (M)	3	42	23	yes
Dog n° 19 (F)	3	60	22	yes
Dog n° 20 (M)	3	30	30	yes
Dog n° 21 (F)	11	48	18	yes
Mean \pm SD		41.6 \pm 16.2	25.7 \pm 5.5	

Table 5. Data (mean \pm SD) about heart rate in beats per minute (bpm).

	Group A	Group B	Group C
T0	113.1 \pm 20.9	127.1 \pm 30.5	96.7 \pm 16.3
T5	82.2 \pm 24.6	106.7 \pm 11.5	84.4 \pm 9.3
T10	75.4 \pm 19.9	113.7 \pm 12.5	82.5 \pm 26.1
T15	74.0 \pm 17.9	100.4 \pm 22.5	78.7 \pm 27.3
T20	70.0 \pm 14.7	128.8 \pm 28.9	76.8 \pm 25.5

Table 6. Data (mean \pm SD) about respiratory rate in acts per minute (apm).

	Group A	Group B	Group C
T0	68.3 \pm 57.3	26.7 \pm 8.3	92.4 \pm 38.6
T5	50.0 \pm 44.6	Polypnea	60.8 \pm 25.6
T10	40.8 \pm 30.4	Polypnea	44.8 \pm 20.5
T15	42.7 \pm 37.2	47.2 \pm 37.7	28.7 \pm 16.8
T20	51.2 \pm 34.9	51.2 \pm 34.9	28.0 \pm 10.3

Table 7. Data (mean \pm SD) about rectal body temperature in degrees centigrade ($^{\circ}$ C).

	Group A	Group B	Group C
T0	39.1 \pm 0.3	38.8 \pm 0.3	39.4 \pm 0.8
T5	39.1 \pm 0.3	38.5 \pm 0.3	39.2 \pm 0.3
T10	39.4 \pm 0.7	38.4 \pm 0.3	39.3 \pm 0.4
T15	39.3 \pm 0.6	38.2 \pm 0.4	39.3 \pm 0.5
T20	39.6 \pm 0.8	38.3 \pm 0.5	39.6 \pm 0.9

Table 8. Time of onset in minutes (mean \pm SD) of ataxia, sternal recumbence and lateral recumbence associated with no defence reactions (maximum effect).

	Group A	Group B	Group C
Ataxia	4.3 \pm 0.9	5.0 \pm 4.5	5.0 \pm 1.0
Sternal recumbence	5.7 \pm 3.4	14.6 \pm 4.3	5.4 \pm 1.7
Lateral recumbence and no defence reactions	7.4 \pm 6.4	No subject	11.4 \pm 5.3

References

- 1) Bartram D.H., Diamond M.J., Tute A.S., Jones R.S. (1994) Use of medetomidina and butorphanol for sedation in dogs. *J Small Anim Pract*, 35: 495-498.
- 2) Itamoto K., Hikasa Y., Sakonjyu I. Hito H., Takuta T., Takase K. (2000) Anaesthetic and cardiopulmonary effects of balanced anaesthesia with medetomidine-midazolam and butorphanol in dogs. *J Vet Med A*, 47: 411-420.
- 3) Ko J.C., Fos S.M., Mandsager R.E. (2000) Sedative and cardiorespiratory effects of medetomidine, medetomidine-butorphanol, and medetomidine-ketamine in dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 216: 1578-1583.
- 4) Koch D.A., Arnold S., Hubler M., Monatvon P.M. (2003) Brachycephalic syndrome in dogs. *Comp Cont Ed Pract Vet*, 25: 48-54.
- 5) Kojima K., Nishimura R., Mutoh T., Hong S.H., Mokizuki M., Sasaki N. (2002) Effects of medetomidine-midazolam, acepromazine-butorphanol, and midazolam-butorphanol

- on induction dose of thiopental and propofol and on cardiopulmonary changes in dogs. *Am J Vet Res*, 63: 1671-1679.
- 6) Kojima K., Nishimura R., Mutoh T., Takao K., Matsunaga S., Mokizuki M., Sasaki N. (1999) Comparison of cardiopulmonary effects of medetomidine-midazolam, acepromazine-buttorphanol and midazolam-buttorphanol in dogs. *J Vet Med A*, 46: 353-359.
 - 7) Kuo W.C., Keegan R.D. (2004) Comparative cardiovascular, analgesic, and sedative effects of medetomidine, medetomidine-hydromorphone, and medetomidine-buttorphanol in dogs. *Am J Vet Res*, 65: 931-937.
 - 8) Mutoh T., Nishimura R., Sasaki N. (2002) Effects of medetomidine-midazolam, midazolam-buttorphanol, or acepromazine-buttorphanol as premedicants for mask induction of anaesthesia with sevoflurane in dogs. *Am J Vet Res*, 63: 1022-28.
 - 9) Paddleford R. (2000) *Anestesia dei piccoli animali* (1st edn), Edizioni Veterinarie, pp 327-328, Cremona, Italy.
 - 10) Pepper C.M., Henderson G. (1980) Opiates and opioid peptides hyperpolarize locus coeruleus neurons in vitro. *Science*, 209: 394-395.
 - 11) Pypendop B., Verstegen J. (1999) Cardiorespiratory effects of combination of medetomidine, midazolam and buttorphanol in dogs. *Am J Vet Res*, 9: 1148-1154.
 - 12) Rauser P., Lexmaulova L. (2002) Clinical comparison of medetomidine-buttorphanol and medetomidine-buprenorphine combinations for intravenous premedication of general anaesthesia in the dog. *Acta Vet Brno*, 71: 69-76.
 - 13) Reves J.G.R., Fragen R.J., Vinik H.R., Greenblatt D.J. (1985) Midazolam. *Pharmacology and uses. Anesthesiol*, 62: 310-324.
 - 14) Sano T., Nishimura R., Mochizuki M. (2003) Effects of midazolam-buttorphanol, acepromazine-buttorphanol and medetomidine on and induction dose of propofol and their compatibility in dogs. *J Vet Med Sci*, 65: 1141-1143.
 - 15) Verstegen J., Petcho A. (1993) Medetomidine-midazolam-buttorphanol for anaesthesia in dogs and its reversal by atipamezole. *Vet Rec*, 132: 353-357.

PREVALENCE OF *CLOSTRIDIUM* SPP. IN DIARRHOEIC AND HEALTHY DOGS

PREVALENZA DI *CLOSTRIDIUM* SPP. IN CANI DIARROICI E SANI

Zerbini Laura, Ossiprandi Maria Cristina

PAROLE CHIAVE:

Clostridium spp., cane, diarrea, feci

KEY WORDS:

Clostridium spp., diarrhoea, dog, feces

Riassunto

E' stata effettuata una indagine epidemiologica allo scopo di verificare la prevalenza di *Clostridium* spp. nelle feci di cani diarroici e sani. Particolare attenzione è stata rivolta all'isolamento di ceppi di *C. perfringens* e *C. difficile*, dal momento che questi microrganismi sono stati associati nel cane a sindrome diarroica cronica e acuta di tipo emorragico.

Il campione oggetto dello studio era composto da cani provenienti dal canile municipale della città di Parma, da cani appartenenti a studenti e a personale della Facoltà di Veterinaria di Parma, oltre che da cani di proprietà ricoverati presso l'Ospedale Didattico Veterinario.

Globalmente, sono stati analizzati mediante esame colturale 95 campioni fecali, raccolti nel periodo luglio 2006 - marzo 2007, di cui 36 appartenenti a cani diarroici e 59 a cani non diarroici. Sessantadue dei 95 campioni (65,3%) sono risultati positivi per la presenza di 1 o più specie di *Clostridium*. Sono stati identificati 89 differenti ceppi di *Clostridium*. In particolare, *C. perfringens* (15,7%) è risultato essere la specie isolata più frequentemente, seguito da *C. bifermentans* (13,5%), *C. clostridiiforme* (13,5%), *C. fallax* (12,4%), *C. beijerinckii/butyricum* (11,2%), *C. difficile* (11,2%) e *C. septicum* (9,0%). Altre specie di *Clostridium* sono state isolate in percentuali variabili dal 2,3% all'1,0%.

Relativamente all'isolamento di ceppi di *C. perfringens*, 6 dei 14 campioni di feci risultati positivi appartenevano a cani diarroici (42,9%), mentre nel caso di *C. difficile*, l'80% dei campioni analizzati e risultati positivi all'esame colturale (8 di 10) apparteneva a cani affetti da enterite.

Ulteriori indagini, quale la rivelazione della produzione di tossine mediante

saggi ELISA e/o la ricerca delle relative sequenze geniche mediante reazioni di amplificazione genica, dovranno essere eseguite sui ceppi di *C. perfringens* e di *C. difficile* per poter valutare correttamente le implicazioni e il significato epidemiologico di questi ritrovamenti nei campioni di feci di cani diarroici e non.

Abstract

The purpose of this epidemiological study was to evaluate the prevalence of *Clostridium* spp. among diarrhoeic and healthy dogs. Particular attention was addressed to *C. perfringens* and *C. difficile* isolation, since these microorganisms have been associated with acute and chronic large and small bowel diarrhoea, and acute hemorrhagic diarrhoeal syndrome in the dog.

Some dogs were kennelled dogs, others belonged to students and staff of the Veterinary Faculty of Parma, and others were dogs admitted to the Didactic Veterinary Hospital.

A total of 95 canine fecal samples (36 diarrhoeic and 59 non-diarrhoeic dogs), collected from July 2006 to March 2007, were analysed by culture assay. Sixty-two of the 95 fecal specimens (65.3%) were positive for one or more *Clostridium* spp. A total of 89 different *Clostridium* strains were identified. The most common *Clostridium* detected was *C. perfringens* (15.7%), followed by *C. bifermentans* (13.5%), *C. clostridiiforme* (13.5%), *C. fallax* (12.4%), *C. beijerinckii/butyricum* (11.2%), *C. difficile* (11.2%), and *C. septicum* (9.0%). Other *Clostridium* species were isolated in lower percentage, ranging from 2.3% to 1.0%.

Relatively to *C. perfringens* isolation, 6 of the 14 positive fecal samples (42.9%) belonged to diarrhoeic dogs. In the case of *C. difficile*, the 80.0% (8 of 10) of canine fecal samples positive by culture assay belonged to dogs with enteritis.

Further investigations (concerning, for example, the detection of toxin production by ELISA assays and/or the gene revelation by polymerase chain reactions) should be applied on *C. perfringens* and *C. difficile* strains to assess properly the full implications and the epidemiological meaning of these findings in fecal samples of diarrhoeic and non-diarrhoeic dogs.

Introduction

The development of microbiota of dogs begins at birth when the sterile foetus is colonized in the birth canal and by the immediate environment. The succession of events in bacterial colonization is similar in the human and canine intestine, with the very first colonizers originating from the mother, followed by microbes benefiting from breast-feeding and then drastically changing towards obligate anaerobes and heterogeneous flora as solid foods are introduced [10].

The gastrointestinal tract of dogs is colonized by a variety of microorganisms. The number of microorganisms increases from approximately 10^2 - 10^5 colony forming units (CFU)/g in the proximal small intestine to 10^5 - 10^9 CFU/g in the distal small intestine, and then dramatically rises in the large intestine to approximately 10^{10} - 10^{11} in the colon [1]. This quantitative proximal-distal gradient is accompanied

by complex qualitative changes from a predominantly aerobic flora in the small intestine to a predominantly anaerobic flora in the large intestine. There is a wide variation in the bacterial flora between normal individuals, and concentrations may be affected by a variety of circumstances or behaviours, including environment, diet, scavenging and coprophagia. Increased numbers of bacteria in the small intestine carry an increased risk of a harmful outcome. Whether this is manifest clinically will depend on individual circumstances, including the composition of the diet which bacteria can convert to potentially harmful metabolites. The nature of a host response to the increased load could also be important, and this may involve stimulation of immunoglobulin and mucus production, suppression of potentially damaging cell mediated immune responses, a compensatory production of structural and functional epithelial cell proteins, and increased epithelial cell turnover. The threshold between apparent normality and clinical disease may therefore differ between individuals and be influenced by a delicate balance between the microflora and the host. Clinical disease associated with bacterial overgrowth is a very common problem in dogs and occurs when this balance is tipped against the host [1].

Primary enteric bacterial pathogens can also cause acute clinical disease since they possess virulence factors with adverse effect on the intestine. Adherence to the surface or invasion of the mucosa facilitate long-term colonization by certain enteropathogens, predisposing to a carrier status or chronic disease, the outcome probably depending on expression of virulence determinants and the host response [1].

Since dogs are carnivorous, the total length of their intestine in relation to the body length is somewhat shorter and the motility slower than in humans. As a whole the digestive tract of dog, however, resembles that of humans and the physiology is similar in many ways. Like humans, dogs utilize intestinal microbiota in their physiology and both are homothermic mammals. The pH values in the different compartments of the digestive tract are also comparable to those of human, being the pH in the dog stomach 3, in duodenum and jejunum 6, in ileum 7.5, in colon 6.5 and in feces 6.2 [10].

The main cultivable bacterial groups and most common findings in humans and dogs are similar, including clostridia, bacteroides, streptococci, coliforms, enterococci, lactobacilli and veillonellae with increasing counts towards the large intestine [10]. Most intestinal pathogens cause similar clinical symptoms in dogs as in humans (*C. difficile*, multiresistant Gram-negatives, enterococci, staphylococci). The most common intestinal dysfunction in dogs is diarrhoea. Another common disturbance, small intestinal bacterial overgrowth, composing of *Escherichia coli*, enterococci and clostridia is associated with raised serum folate, reduced serum vitamin B12 concentrations and altered mucosal permeability and function [10].

In the most cases of bacterial overgrowth, the cause cannot be identified, but host factors known to predispose to bacterial overgrowth include defective gastric acid secretion, interference with normal motility or stasis, and defective local immunity [1]. Other factors, as a potentially stressful or contaminated environment, diet and coprophagia, may also play a role and could contribute to the relatively high numbers of bacteria reported in kennelled dogs [1]. The damaging consequences of overgrowth

can involve competition by bacteria for calories and essential nutrients, production of harmful metabolites, and direct damage to the intestinal mucosa interfering with intestinal function. Histological changes in intestinal biopsies of partial villus atrophy and lymphocyte/plasma cell infiltrate are only present in 30% of cases, and often the mucosal damage cannot be seen by conventional light microscopy [1].

Dogs with and without signs of intestinal disease can harbour most of the enteric infectious agents [5]. In the case of clostridial pathogens, particularly important are *C. perfringens* and *C. difficile*. The clinical documentation of *C. perfringens* and *C. difficile* as causes of diarrhoea in dogs is clouded by the presence of these microorganisms as a normal component of the indigenous intestinal microflora [6].

Clostridium perfringens

Clostridium perfringens is a Gram-positive, anaerobic, spore-forming bacillus. This microorganism may be one of the most widespread pathogen, inhabiting the gastrointestinal tract of human beings and animals as well as terrestrial and marine environments [7]. It has been associated with outbreaks of acute, often severe diarrhoea in humans, horses, dogs and cats. The elaboration of four major toxins, alpha (α), beta (β), iota (ι), and epsilon (ϵ), is the basis for typing the microorganism into five toxigenic phenotypes (A, B, C, D and E).

Each type may also express a subset of at least 10 other established toxins, including *C. perfringens* enterotoxin (CPE), a well-characterized virulence factor whose production is co-regulated with sporulation [6]. Although all five types can harbour the enterotoxin gene (*cpe*), studies have shown that the overall frequency of enterotoxigenic strains is relatively low (~5%), with most strains belonging to type A. Virtually all strains isolated from dogs are type A, with only one published report documenting a type C infection in five cases of canine peracute lethal hemorrhagic enteritis [7]. Although several studies have shown an association between the immunodetection of CPE in fecal specimens and canine diarrhoea, the pathogenesis of *C. perfringens*-associated diarrhoea in the dog is not fully understood, because CPE is also detected in up to 14% of non-diarrhoeic dogs. Isolation of nonenterotoxigenic type A strains from a diarrhoeic specimen does not preclude involvement in disease, because there is a plethora of other virulence factors that have not been evaluated. One of these virulence factors is the recently characterized *C. perfringens* β 2 toxin, which has been associated with both necrotic enteritis in piglets and equine typhlocolitis.

Clostridium perfringens is a part of the normal canine intestinal flora and is readily cultured from more than 80% of diarrhoeic and non-diarrhoeic dogs. Diarrhoeal diseases associated with *C. perfringens* in the dog have primarily been attributed to CPE, which has been shown to induce fluid accumulation and diarrhoea in a canine model when administered orally or directly in the intestinal lumen [7]. Dogs with *C. perfringens*-associated diarrhoea frequently exhibit large-bowel diarrhoea characterized by increased frequency of bowel movements with tenesmus, fecal mucus and hematochezia; however, clinical signs of enteritis or enterocolitis are also commonly seen [6]. Despite the fact that CPE is detected in up to 34% of diarrhoeic dogs, the fact that it is also detected in 5% to 14% of non-diarrhoeic dogs

makes it unclear as to whether or not CPE plays a primary or secondary role in the development of diarrhoea. There is currently no gold standard for the diagnosis of canine *C. perfringens*-associated diarrhoea. It has been well documented that culture isolation of *C. perfringens* cannot be considered of diagnostic value for canine *C. perfringens*-associated diarrhoea. Culture may be useful in procuring isolates for the application of molecular techniques like PCR for detection of specific toxin genes or molecular typing of isolated strains to establish clonality in suspected outbreaks. Two commercially available immunoassays are currently used in veterinary diagnostic laboratories: a reverse passive latex agglutination assay (PET-RPLA, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) and an enzyme-linked immunoassay (*C. perfringens* Enterotoxin Test, TechLab, Inc., Blacksburg, VA). It is important to note that the performance characteristics for these assays have not been analyzed in the dog, and there are concerns about their sensitivities and specificities. There have been no studies in the dog to date to determine whether *C. perfringens*-associated diarrhoea is a result of ingestion of enterotoxigenic isolates or whether diarrhoea is secondary to disruption of the intestinal microenvironment, enabling proliferation or sporulation of commensal enterotoxigenic *C. perfringens*. Based on what is currently known, however, it seems more likely that *C. perfringens*-associated diarrhoea involves commensal isolates [7].

Clostridium difficile

Clostridium difficile is a Gram-positive, anaerobic, spore-forming bacillus which is the major cause of antibiotic-associated pseudomembranous colitis in human patients. It has also been associated with diarrhoea and enterocolitis in foals and adult horses, as well as diarrhoea in dogs [6].

Three toxins produced by *C. difficile* have been described: toxin A (an enterotoxin), toxin B (a cytotoxin), and *C. difficile* adenosine diphosphate (ADP)-ribosyltransferase (CDT). Diseases associated with *C. difficile* have primarily been attributed to the activity of toxins A and B, and strains have historically been thought to produce both toxins (toxigenic isolates) or neither (nontoxigenic). There are increasing reports of variant strains isolated from human clinical cases of *C. difficile*-associated disease (CDAD) that produce only toxin A or toxin B, however [7].

Current diagnosis of *C. difficile*-associated diarrhoea is primarily based upon detection of toxin A and/or toxin B in fecal specimens by ELISA. Isolation of the microorganism alone is not sufficient for diagnosis, due to the presence of nontoxigenic strains. In addition, previous studies have reported no significant difference in the isolation of *C. difficile* from diarrhoeic and non-diarrhoeic dogs [6]. Toxigenic *C. difficile* has been isolated from dogs with chronic diarrhoea, and reports have documented a variable carriage rate of *C. difficile* ranging from 0-40% in diarrhoeic and non-diarrhoeic dogs [3]. Despite the lack of a significant difference in the isolation rates of *C. difficile* in diarrhoeic and non-diarrhoeic dogs, an association has been documented between the presence of diarrhoea and detection of toxin A or toxin B, or both, in canine fecal specimens [3].

Antibiotic administration, especially in hospital environments, is the most commonly reported as predisposing factor for the development of CDAD in people and horses, although there have been reports of CDAD in the absence of antibiotic administration. In contrast, administration of antibiotics does not seem to predispose dogs to CDAD [7].

Toxigenic *C. difficile* can be isolated from up to 94% of neonate dogs in the absence of clinical signs of disease. Clinical signs that have been associated with canine *C. difficile* infection range from asymptomatic carriage to a potentially fatal acute hemorrhagic diarrhoeal syndrome. As with *C. perfringens*, there does not seem to be a specific anatomic localization of clinical signs, and recent studies have shown that dogs with suspected *C. difficile*-associated diarrhoea commonly have signs of small and large intestinal diarrhoea as well as diffuse disease characterized by concurrent involvement of both the small and large intestine [7].

As with *C. perfringens*, isolation of *C. difficile* from diarrhoeic specimens is of little diagnostic value, except for procuring strains for detection of toxin genes and typing. Limitations in the isolation of *C. difficile* in dogs are underscored by the findings of several studies demonstrating no significant difference in isolation rates (0-40%) between non-diarrhoeic and diarrhoeic dogs, as above mentioned.

Diagnosis of *C. difficile*-associated diarrhoea traditionally has been based on positive fecal assays for toxin A or toxin B. The current gold standard assay is the cell culture cytotoxicity assay, which detects toxin B activity; however, this assay is expensive and requires up to 48 hours for conformation of a negative result. There are currently several commercially available immunoassays for detection of *C. difficile* toxin A or for detection of both toxins A and B in fecal samples (for example, Premier Toxins A & B, Meridian Bioscience, Inc, Cincinnati, OH; *C. difficile* TOX A/B II, TechLab, Inc., Blacksburg, VA; ProSpecT *Clostridium difficile* Toxin A/B, Remel, USA). Because of increasing reports of toxin A-negative and toxin B-positive strains isolated from clinical cases, the use of ELISA kits that detect both toxins is gaining preference. None of the commercial ELISA kits currently available have been validated in the dog, however, and there is no standard assay used by veterinary diagnostic laboratories. This fact is concerning, given the wide range of specificities (66-100%) and sensitivities (33-95%) that have been reported for many of the kits when analyzed for human fecal toxin detection.

Detection of toxigenic *C. difficile* strains after culture has been shown to be of little diagnostic value in the dog. First, there is no significant difference in detection of toxigenic strains between diarrhoeic and non-diarrhoeic dogs, and, second, isolation of the microorganism is difficult, costly, and time-consuming. Nevertheless, studies in human beings have begun bypassing culture of the microorganism and looking for the presence of specific toxin genes in DNA obtained from fecal specimens. Sensitivities of PCR detection methods have been reported to be between 96% and 100% when compared with the cytotoxicity assay [7].

The aim of this study was to define the prevalence of *Clostridium* spp. in 95 fecal samples (36 diarrhoeic and 59 non-diarrhoeic) collected from dogs at the Veterinary Faculty of Parma. Especially, we paid attention to *C. perfringens* and *C. difficile* isolation.

Materials and methods

Fecal samples were collected from 95 diarrhoeic and non-diarrhoeic dogs, 41 female and 54 male, over an 8-mo period (20th July 2006 - 20th March 2007). Age of the diarrhoeic dogs (n= 36) ranged between 6 months and 12 years (mean, 4.2 yr; median, 3 yr), and that of the non-diarrhoeic dogs (n= 59) ranged between 3 months and 12 years (mean, 3.8 yr; median, 3 yr).

Some dogs (n= 38) were kennelled dogs; others belonged to veterinary students and staff of the Veterinary Faculty of Parma (n= 47). Ten dogs were admitted to the Didactic Veterinary Hospital.

All fecal specimens were naturally voided. Assays were performed on feces collected within 3 hours. After analysis, samples were immediately stored at -20°C.

All fecal samples were cultured onto prereduced blood agar plates, containing vitamine K, sheep blood and haemin (Schaedler agar, Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England), and at the same time inoculated in Cooked Meat Broth (Oxoid, England). Samples were also streaked onto prereduced selective medium containing cycloserine-cefoxitin-fructose agar (CCFA) for the isolation of *C. difficile*. Plates were incubated anaerobically at 37°C for 48-72 hours. After 72 hours of anaerobic incubation in Cooked Meat Broth, the samples were subjected to heat shock for spore selection and then cultured onto Schaedler agar and/or CCFA to enhance spore germination and increase culture yield.

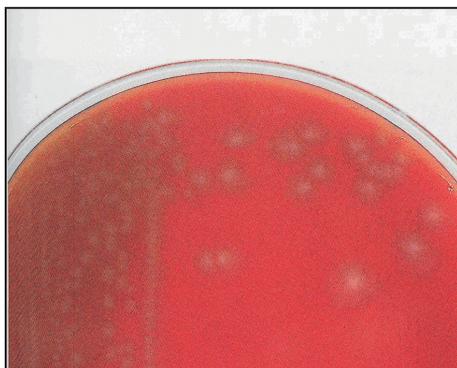
For *C. perfringens* identification, colonies showing characteristic dual haemolytic zones (Figure 1) were picked up and identified by Gram's stain and biochemical tests utilizing Rapid ID 32A (bioMérieux SA, Marcy-l'Etoile, France). Preliminary identification of *C. difficile* was based on colonial appearance (Figure 2), odor (horse manure), lack of aerotolerance, cell morphology after Gram staining and typical chartreuse fluorescence under ultraviolet light. Final identification was performed by using a rapid latex slide agglutination test (*C. difficile*, Oxoid, England) and Rapid ID 32A biochemical profiles (bioMérieux SA, France). The other clostridia were identified only biochemically (Rapid ID 32A, bioMérieux).

All isolates were stored on cryopreservation beads (MAST Diagnostics, D.I.D, Diagnostic International Distribution S.p.A., Italy) at -70°C.

Figure 1: Typical colonies of *Clostridium perfringens* onto Schaedler agar showing characteristic dual haemolytic zones



Figure 2: Typical colonies of *Clostridium difficile* that could be greyish or whitish colour, opaque or lucid, flat, circular or occasionally rhizoid and non-haemolytic



Results

Sixty-two fecal samples were positive for *Clostridium* spp. presence (62/95 samples, 65.3%). The other 33 samples were negative for *Clostridium* spp. Eighty-nine *Clostridium* spp. were isolated and identified from the 62 positive fecal specimens. The most common *Clostridium* detected was *Clostridium perfringens* (14/89 strains, 15.7%), followed by *C. bifermentans* (12/89, 13.5%), *C. clostridiiforme* (12/89, 13.5%), *C. fallax* (11/89, 12.4%), *C. beijerinckii/butyricum* (10/89, 11.2%), *C. difficile* (10/89, 11.2%), and *C. septicum* (8/89, 9.0%). Other clostridia isolated were: 2 strains of *C. paraputrificum*, 2 of *C. glycolicum* and 2 of *C. tyrobutyricum* (2/89, 2.3%), 1 strain of *C. tetani*, 1 of *C. botulinum*, 1 of *C. innocuum*, 1 of *C. tertium*, 1 of *C. sporogenes* and 1 of *C. histolyticum* (1/89, 1.1%). Different species of clostridia were isolated in the same fecal sample. In Table 1, the prevalence of *Clostridium* spp. in fecal samples of diarrhoeic and non-diarrhoeic dogs is summarized.

Concerning *C. perfringens*, 6 of the 14 positive fecal samples (42.9%) belonged to dogs with enteritis. In one case, the dog, affected by megaesophagus, was subjected to antibiotic therapy for enteritis and *C. difficile* together with *C. perfringens* were also isolated. The other 8 samples (57.1%) belonged to healthy dogs (Table 2).

In the case of *C. difficile* isolation, 8 of the 10 canine fecal samples (80.0%) belonged to diarrhoeic dogs, of whom 4 were subjected to antibiotic treatment and the enteritis followed the therapy. From one dog (megaesophagus) treated for enteritis, *C. perfringens* together with *C. difficile* were isolated. Three dogs were not treated. Another dog, admitted to the Didactic Veterinary Hospital, was subjected to antibiotic treatment but was non-diarrhoeic. One dog was an healthy dog (Table 3).

Table 1: Prevalence of *Clostridium* spp. in 95 fecal samples of diarrhoeic and healthy dogs in the period 20th July 2006 - 20th March 2007

	No. fecal samples positive	%
<i>Clostridium perfringens</i>	10	16.1
<i>Clostridium bifermentans</i>	6	9.7
<i>Clostridium fallax</i>	6	9.7
<i>Clostridium septicum</i>	4	6.44
<i>Clostridium clostridiiforme</i>	3	4.83
<i>Clostridium difficile</i>	2	3.22
<i>Clostridium beijerinckii/butyricum</i>	1	1.61
<i>Clostridium paraputrificum</i>	1	1.61
<i>Clostridium glycolicum</i>	1	1.61
<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	1	1.61
<i>Clostridium tetani</i>	1	1.61
<i>Clostridium botulinum</i>	1	1.61
<i>Clostridium histolyticum</i>	1	1.61
<i>Clostridium beijerinckii/butyricum</i> + <i>Clostridium clostridiiforme</i>	3	4.83
<i>Clostridium difficile</i> + <i>Clostridium bifermentans</i>	3	4.83
<i>Clostridium perfringens</i> + <i>Clostridium beijerinckii/butyricum</i>	2	3.22
<i>Clostridium difficile</i> + <i>Clostridium perfringens</i>	1	1.61
<i>Clostridium tertium</i> + <i>Clostridium septicum</i>	1	1.61
<i>Clostridium septicum</i> + <i>Clostridium beijerinckii/butyricum</i>	1	1.61
<i>Clostridium tyrobutyricum</i> + <i>Clostridium innocuum</i>	1	1.61
<i>Clostridium clostridiiforme</i> + <i>Clostridium fallax</i>	1	1.61
<i>Clostridium glycolicum</i> + <i>Clostridium septicum</i>	1	1.61
<i>Clostridium fallax</i> + <i>Clostridium bifermentans</i>	1	1.61
<i>Clostridium clostridiiforme</i> + <i>Clostridium paraputrificum</i>	1	1.61
<i>Clostridium difficile</i> + <i>Clostridium beijerinckii/butyricum</i>	1	1.61
<i>Clostridium fallax</i> + <i>Clostridium septicum</i>	1	1.61
<i>Clostridium difficile</i> + <i>Clostridium bifermentans</i> + <i>Clostridium clostridiiforme</i>	1	1.61
<i>Clostridium difficile</i> + <i>Clostridium sporogenes</i>	1	1.61
<i>Clostridium bifermentans</i> + <i>Clostridium fallax</i> + <i>Clostridium beijerinckii/butyricum</i>	1	1.61
<i>Clostridium beijerinckii/butyricum</i> + <i>Clostridium clostridiiforme</i> + <i>Clostridium fallax</i>	1	1.61
<i>Clostridium perfringens</i> + <i>Clostridium clostridiiforme</i>	1	1.61
<i>Clostridium difficile</i> + <i>Clostridium clostridiiforme</i>	1	1.61
Total	62	

Table 2: Prevalence of *Clostridium perfringens* strains isolated in fecal samples of diarrhoeic and healthy dogs

	No. <i>C. perfringens</i> strains	%
Diarrhoeic dogs not subjected to antibiotic therapy	5	35.7
Diarrhoeic dog subjected to antibiotic therapy*	1	7.2
Healthy dogs	8	57.1
Total	14	

* Dog with megaesophagus, from whom *C. difficile* was also isolated.

Table 3: Prevalence of *Clostridium difficile* strains isolated in fecal samples of diarrhoeic and healthy dogs

	No. <i>C. difficile</i> strains	%
Diarrhoeic dogs as a result of antibiotic therapy	4	40.0
Diarrhoeic dog subjected to antibiotic therapy**	1	10.0
Diarrhoeic dogs not subjected to antibiotic therapy	3	30.0
Non-diarrhoeic dog subjected to antibiotic therapy	1	10.0
Healthy dog	1	10.0
Total	10	

** Dog with megaesophagus, from whom *C. perfringens* was also isolated.

Discussion

In this epidemiological study we assessed the prevalence of *Clostridium* spp. in 95 canine diarrhoeic and non-diarrhoeic fecal samples. Except for *C. perfringens* and *C. difficile*, there are not important data in literature for the other *Clostridium* spp. On the contrary, *C. perfringens* and *C. difficile* are common causes of enteritis and enterotoxemias in both domestic animals and humans. These microorganisms have been associated with acute and chronic large and small bowel diarrhoea, and acute hemorrhagic diarrhoeal syndrome in the dog [8].

In our study, *Clostridium perfringens* was commonly cultured from feces of dogs (15.7%). Percentages of positive cultures were enough similar in healthy dogs and in diarrhoeic dogs (8 of 14, 57.1%, versus 6 of 14, 42.9%, respectively). This difference is not significant ($P=0.571$, Chi-square test). Since we didn't assess the enterotoxin (CPE) production from *C. perfringens* isolates, we cannot correlate the *C. perfringens* isolation with clinical disease in dogs, also considering that this microorganism may be part of the normal flora [6]. Actually, current diagnosis of *C. perfringens*-associated diarrhoea in dogs and cats is made on detection of CPE in fecal samples in conjunction with clinical signs of disease [6].

Relatively to *C. difficile*, the isolation rates of this microorganism from diarrhoeic dogs (8/10, 80.0%) and non-diarrhoeic dogs (2/10, 20.0%) were statistically

different ($P= 0.023$, Fisher's test). This is in disagreement with previous reports in which significant differences were not found in the isolation rates of *C. difficile* between the 2 groups [3]. Four of ten *C. difficile*-positive dogs expressed enteritis after antibiotic therapy. Probably, antibiotic administration caused the overgrowth of *C. difficile* in intestine of the dogs, predisposing the animals to enteritis. In fact, a previous study has reported that the carriage rate of *C. difficile* and toxins in animals including dogs that had recently received antibiotics was higher than in the nonantibiotic-treated group, although these differences were not statistically significant [3]. Another study has indicated that the presence of *C. difficile* in canine feces was evident only after administration of antibiotic [9]. However, results of several studies have supported the notion that antimicrobial treatment is not required for *C. difficile*-associated disease (CDAD) development in dogs [3].

Since we did not research the toxins A and B (neither *in vivo* directly in feces nor *in vitro* from the *C. difficile* isolates), which seem the primary virulence factors involved in the pathogenesis of CDAD, we cannot correlate the *C. difficile* isolation with dog illness. However, we performed on the 10 *C. difficile* isolates a duplex PCR for the revelation of *tcdA* and *tcdB* genes, encoding for toxin A and toxin B, respectively [11]. The majority of *C. difficile* strains (6/10, 60.0%) were toxigenic (*tcdA*+/*tcdB*+) on the basis of the results of PCR assay (data not shown). The carriage rates of toxigenic isolates in diarrhoeic dogs (5/6, 83.3%) were higher than those in non-diarrhoeic dogs (1/6, 16.7%). However, this difference was not statistically significant ($P= 0.08$, Fisher's test).

It could be interesting to verify if *tcdA/tcdB*-positive strains by PCR will be able to produce the two toxins also *in vitro*, because the presence of genes is not always correlated with their expression.

Conclusions

It is particularly important to seek *C. perfringens* and *C. difficile* presence in canine fecal samples. However, *C. perfringens*-associated diarrhoea in the dog seems to be a complex disease, the pathogenesis of which is still poorly understood. Furthermore, despite various reports that have documented an association between the detection of CPE and the presence of diarrhoea, it is still unclear whether or not *C. perfringens* is a primary cause of canine diarrhoea or a secondary determinant. Much work still needs to be done to clarify the exact role of *C. perfringens* in canine diarrhoea. Based on the results of several studies, the optimum diagnostic approach for canine *C. perfringens*-associated diarrhoea is the use of a CPE ELISA in conjunction with PCR for detection of enterotoxigenic strains procured after a heat shock or alcohol shock treatment [7]. To date, different PCRs (duplex and multiplex) were evaluated for the revelation of genes encoding for *C. perfringens* toxins (CPE, toxin α , toxin β , toxin β 2, toxin ι and toxin ϵ) only for research purposes [2, 4]. It will be useful to evaluate these methods on our isolates for the presence of *C. perfringens* toxin genes, especially of the CPE gene. The production *in vivo* and/or *in vitro* of CPE should be also investigated to correlate the *C. perfringens* isolation with diarrhoea in dogs.

C. difficile is a significant enteropathogen in human beings and horses, where infection is most commonly associated with disruption of the normal microflora, followed by colonization by toxigenic strains. The role that this microorganism plays in dogs is not well defined, and only a few studies evaluating the presence of toxins in diarrhoeic and non-diarrhoeic animals have been done [7].

There is no consensus between veterinary diagnostic laboratories regarding diagnosis of *C. difficile*-associated diarrhoea in the dog. The apparently high prevalence of ELISA-positive, culture-negative canine specimens obtained with some assays is questionable, considering that these commercial assays have never been validated in the dog; therefore, such data may represent the consequence of false-positive results [7].

Ideally, the application of PCR assays directly on diarrhoeic fecal specimens and/or on *C. difficile* isolated strains for the detection of toxin A and B genes combined with ELISA tests for the demonstration of toxin production (*in vivo* and *in vitro*) should be implemented for diagnosing canine CDAD.

Acknowledgements

The authors wish to thank Mrs Cinzia Reverberi and Mr. Roberto Lurisi for their technical support.

Ringraziamenti

Si ringrazia la sig.ra Cinzia Reverberi ed il sig. Roberto Lurisi per l'assistenza tecnica prestata.

References

1. Batt R.M., Rutgers C. (1997) Bacteria and intestinal disease in dogs. GDBA Technical Review no 11. UK.
2. Baums C.G., Shotte U., Amsberg G., Goethe R. (2004) Diagnostic multiplex PCR for toxin genotyping of *Clostridium perfringens* isolates. Vet. Microbiol., 100: 11-16.
3. Chouicha N., Marks S.L. (2006) Evaluation of five enzyme immunoassays compared with the cytotoxicity assay for diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in dogs. J. Vet. Diagn. Invest., 18: 182-188.
4. Fach P., Popoff M.R. (1997) Detection of enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in food and fecal samples with a duplex PCR and the slide latex agglutination test. Appl. Environ. Microbiol., 63: 4232-4236.
5. Hackett T., Lappin M.R. (2003) Prevalence of enteric pathogens in dogs of North-Central Colorado. J. Am. Anim. Hosp. Assoc., 39: 52-56.
6. Marks S.L. (2003) Bacterial gastroenteritis in dogs and cats. In Proceedings of 28th World Congress of the World Small Animal Veterinary Association. Bangkok, Thailand, October 24-27, 2003.
7. Marks S.L., Kather E.J. (2003) Bacterial-associated diarrhea in the dog: a critical appraisal. Vet. Clin. Small Anim., 33: 1029-1060.
8. Marks S.L., Kather E.J. (2003) Antimicrobial susceptibilities of canine

- Clostridium difficile* and *Clostridium perfringens* isolates to commonly utilized antimicrobial drugs. Vet. Microbiol., 94: 39-45.
9. Martirosian G., Sokol-Leszczynska B., Mierzejewski J., Meisel-Mikolajczyk F. (1992) Occurrence of *Clostridium difficile* in the digestive system of dogs. Med. Dosw. Mikrobiol., 44: 49-54.
 10. Mentula S. (2005) Analysis of canine small intestinal and fecal microbiota. Prevention of ampicillin-induced changes with oral β -lactamase. Academic Dissertation. Publication of the National Public Health Institute, KTL A8, June 2005, 1-85.
 11. Spigaglia P., Mastrantonio P. (2002) Molecular analysis of the pathogenicity locus and polymorphism in the putative negative regulator of toxin production (TcdC) among *Clostridium difficile* clinical isolates. J. Clin. Microbiol., 40: 3470-3475.

ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF *Listeria monocytogenes* ISOLATED FROM FOOD AND FOOD-PROCESSING ENVIRONMENT

Conter Mauro¹, Paludi Domenico², D'Orio Vincenzo², Vergara Alberto², Ianieri Adriana¹

Key words:

Listeria monocytogenes; antibiotic resistance; food; environment.

Parole chiave:

Listeria monocytogenes; resistenza antimicrobica; alimenti; ambiente

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the susceptibility of 38 *L. monocytogenes* strains isolated from 542 food and food-processing environmental samples to 22 antibiotics currently used in veterinary and human therapy. Susceptibility tests were performed by an agar plate antibiotic disk diffusion method according to Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines. At least 97.4% of strains resulted resistant to oxacillin, lincomycin, flumequine, and clindamycin, regardless of both source and serotype. Sulphafurazole resulted significantly more active against environmental isolates than to meat- and fish-isolates (63.7% vs 41.2% and 30%, respectively). With regard to serotype, both 4b and 1/2c strains resulted significantly more resistant to sulphafurazole, compared to the other serotypes found. This study shows that *L. monocytogenes* strains from food and food-environments are susceptible to the antibiotics commonly used in veterinary and human listeriosis treatment. Considering that *L. monocytogenes* is slowly becoming antibiotic resistant, a continued surveillance of emerging antimicrobial resistance of this pathogen is important to ensure effective treatment of human listeriosis. These data are useful in improving background data on antibiotic resistance of strains isolated from food and food environment.

RIASSUNTO

L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare la sensibilità agli antibiotici di 38 ceppi di *L. monocytogenes* isolati da 542 campioni provenienti da alimenti e ambienti di lavorazione, nei confronti di 22 antibiotici comunemente impiegati in terapia umana e veterinaria. La sensibilità è stata valutata in vitro mediante il metodo della diffusione in agar, in accordo alle linee guida del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Il 97.4% dei ceppi si è dimostrato resistente a oxacil-

¹ Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti, Università degli Studi di Parma

² Dipartimento di Scienze degli Alimenti. Università degli Studi di Teramo

lina, lincomicina, fumechina e clindamicina, indipendentemente dalla provenienza o dal sierotipo. Il 55,3% dei ceppi si è rivelato resistente al sulfafurazolo che si rivelava maggiormente attivo verso gli isolati ambientali rispetto ai ceppi isolati dalle carni o dai prodotti ittici (63,7% contro 41,2% e 30%, rispettivamente). Relativamente al sierotipo, sia i ceppi appartenenti ai sierotipi 4b e 1/2c risultavano significativamente più resistenti al sulfafurazolo rispetto agli altri sierotipi. Questo studio mostra che i ceppi isolati di *L. monocytogenes* sono risultati sensibili agli antibiotici comunemente impiegati in terapia per il trattamento delle listeriosi. Considerando che la resistenza di *Listeria monocytogenes* agli antibiotici sta lentamente aumentando, risulta fondamentale una continua sorveglianza di questo patogeno per monitorare l'efficacia dei trattamenti delle listeriosi. Questi dati possono essere utilizzati per migliorare le conoscenze sull'antibiotico resistenza dei ceppi isolati dagli alimenti e dai relativi ambienti di lavorazione.

INTRODUCTION

The genus *Listeria* consists of a group of Gram-positive bacteria of low G + C content. Six species have been identified: *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, and *L. grayi*, but only *L. monocytogenes* and *L. ivanovii* are considered virulent. *L. monocytogenes* is an important foodborne pathogen (Swaminathan, 2001) and has been isolated from a variety of food products. Meat, poultry, dairy, and vegetable products have all been implicated as vehicles of listeriosis (Schlech et al., 1983, Bula et al., 1995; Kiss et al., 2006; Thévenot et al., 2006; Arslan et al., 2008). Since foodborne listeriosis was first reported in 1981 (Schlech et al., 1983), numerous foodborne outbreaks of *L. monocytogenes* have been documented worldwide (Farber and Peterkin, 1991; Jacquet et al., 2002).

L. monocytogenes is usually susceptible to a wide range of antibiotics (Hof et al., 1997), but since the first isolation of a multiresistant strain in France in 1988 (Poyart-Salmeron et al., 1990), other strains resistant to one or more antibiotics have been recovered from food, environment and from sporadic cases of human listeriosis (Hadorn et al., 1993; Franco Abuin et al., 1994; Charpentier et al., 1995). Antibiotics to which some *L. monocytogenes* are resistant include tetracycline, gentamicin, penicillin, ampicillin, streptomycin, erythromycin, kanamycin, sulphonamide, trimethoprim, and rifampicin (Charpentier and Courvalin, 1999). Little information is available on the antimicrobial susceptibility of *L. monocytogenes*, particularly on strains isolated from food and food environment, indicating the necessity of monitoring the antimicrobial susceptibility of this pathogen. Moreover, apart from penicillins and folate pathway inhibitors, the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) does not provide any clinical breakpoints for *Listeria* susceptibility testing.

The present study aimed to evaluate the susceptibility of 38 *L. monocytogenes* strains isolated from food and food-processing environments to 22 antibiotics currently used in veterinary and human therapy.

MATERIALS AND METHODS

Strains were isolated from 542 food and environmental samples (44.7% from meat, 26.3% from fish, and 29% from food-processing environments). Strain isolation and identification were performed according to the ISO 11290-1 method. *Listeria* isolates were then analyzed by a multiplex PCR using a modification of the method described by Border et al. (1990). Primers LI1 and U1 are based on 16S rRNA sequence data and is specific to the genus *Listeria*, while primers LM1 and LM2 are based on listeriolysin O gene sequence data and is specific for *L. monocytogenes* (Border et al., 1990). Strain serotyping was conducted by the ELISA-based method and confirmed by multiplex PCR amplification technique according to Doumith et al. (2004). Stock cultures were maintained at -80°C in Microbank bead vials (Biolife Italiana, Milan, Italy) until use. As needed, stocks were thawed and sub-cultured twice on Trypticase Soy Agar (TSA) (Oxoid, Garbagnate Milanese, Milan, Italy) before use.

Susceptibility tests were performed by standard disk diffusion method on Mueller Hinton Agar (MHA) (Oxoid), following the procedures recommended by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2006a and 2006b). *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 was used as control strain. Twenty-two antibiotics were chosen: Amikacin 30 µg, Amoxicillin 10 µg, Ampicillin 10 µg, Clindamycin 2 µg, Chloramphenicol 30 µg, Cephalotin 30 µg, Erythromycin 15 µg, Enrofloxacin 5 µg, Flumequine 30 µg, Gentamicin 10 µg, Lincomycin 2 µg, Oxacillin 1 µg, Penicillin 10 µg, Rifampicin 5 µg, Spiramicin 100 µg, Streptomycin 10 µg, Sulphafurazole 300 µg, Tetracycline 30 µg, Tobramycin 10 µg, Trimet + Sulf 1.25/23.75 µg, Vancomycin 30 µg, Kanamycin 30 µg. All antibiotic disks used were obtained from Oxoid.

All statistical analysis was made using SPSS (Chicago, IL) ver. 13.0.

RESULTS AND DISCUSSION

A total of 542 samples food and environmental samples were examined for the presence of *Listeria*. *Listeria monocytogenes* was isolated from 38 (7.01%) samples. In particular, 44.7% of the strains were isolated from meat, 26.3% from fish, and 29% from food-processing environments. Isolated strains belonged to serotypes 1/2a (42%), 1/2b (29%), 1/2c (18%), and 4b (11%).

Antimicrobial susceptibility of the 38 isolated strains of *Listeria monocytogenes* was then evaluated by the standard disk diffusion method. Figure 1 summarizes the antimicrobial susceptibility profiles of the isolated strains: resistance to 6 out of 22 antimicrobial agents tested was observed. Overall, the majority of the strains were resistant to oxacillin, lincomycin, flumequine, and clindamycin, whereas some half of the strains were resistant to sulphafurazole. Only one strain was resistant to rifampicin. All tested isolates were sensitive to the other antibiotics.

Sulphafurazole resulted significantly more active against environmental isolates than to meat- and fish-isolates (63.7% vs 41.2% and 30%, respectively; $P < 0.001$) (Figures 2, 3 and 4). With regard to serotype, both 4b and 1/2c strains resulted significantly ($P < 0.01$) more resistant to sulphafurazole, compared to other serotypes

found. Chloramphenicol exhibited decreased activity against 25% of 4b strains only.

Ampicillin, rifampin, or penicillin plus gentamicin remain the treatment of choice for most manifestations of listeriosis. Co-trimoxazole is considered to be a second-choice therapy. Vancomycin and erythromycin are also used, respectively, to treat bacteremia and pregnant women diagnosed with listeriosis (Charpentier E. and Courvalin P., 1999). In general, most *L. monocytogenes* strains isolated in this study are susceptible to the antibiotics commonly used in veterinary and human listeriosis treatment. The main exception was one strain resistant to rifampicin and sulphafurazole. A similar pattern of resistance was also been found by other authors (Facinelli et al., 1991; Morse et al., 1999) suggesting the worldwide increase in antibiotic resistance.

Considering that *L. monocytogenes* is slowly becoming antibiotic resistant by acquisition of known antibiotic resistance genes from gram-positive bacteria, a continued surveillance of emerging antimicrobial resistance of this pathogen is important to ensure effective treatment of human listeriosis. These data can be used to improve background data on antibiotic resistance of strains isolated from food and food environment and for epidemiological and public health studies of *L. monocytogenes*.

References

- 1) Arslan S., Ozdemir F., 2008. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria* spp. In homemade white cheese. *Food Control* 19, 360-363.
- 2) Border, P.M., Howard J.J., Plastow G.S. and Siggins K.W., 1990. Detection of *Listeria* species and *Listeria monocytogenes* using polymerase chain reaction. *Letters in Applied Microbiology* 1, 158-162
- 3) Bula C.J., Bille J. and Glauser M.P., 1995. An epidemic of food-borne listeriosis in western Switzerland: description of 57 cases involving adults. *Clinical Infectious Diseases* 20, 66-72.
- 4) Charpentier E., Gerbaud G., Jacquet C., Rocourt J. and Courvalin P., 1995. Incidence of antibiotic resistance in *Listeria* species. *Journal of Infectious Diseases* 172, 277-281.
- 5) Charpentier E. and Courvalin P., 1999. Antibiotic resistance in *Listeria* spp., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 43, 2103-2108.
- 6) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2006a. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; Approved guideline (M45-A). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- 7) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) 2006b. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standard – Ninth edition (M2-A9). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- 8) Doumith, M., Buchrieser C., Glaser P., Jacquet J. and Martin P., 2004. Differentiation of the major *Listeria monocytogenes* serovars by multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 42, 3819-3822.
- 9) Facinelli B., Giovanetti E., Varaldo P.E., Casolari P., Fabio U., 1991. Antibiotic

- resistance in foodborne *Listeria*. *The Lancet* 338, 1272.
- 10) Farber J.M. and Peterkin P.I., 1991. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen, *Microbiological Reviews* 55, 476–511
 - 11) Franco Abuin C.M., Quinto Fernandez E.J., Fente Sampayo C., Rodriguez Otero J.L., Dominguez Rodriguez L. and Cepeda Saez A., 1994. Susceptibilities of *Listeria* species isolated from food to nine antimicrobial agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 38, 1655–1657.
 - 12) Hadorn K., Hachler H., Schaffner A. and Kayser F.H., 1993. Genetic characterization of plasmid-encoded multiple antibiotic resistance in a strain of *Listeria monocytogenes* causing endocarditis. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 12, 928–937.
 - 13) Hof H., Nichterlein T. and Kretschmar M., 1997. Management of listeriosis, *Clinical Microbiology Reviews* 10, 345–357
 - 14) Jacquet C., Gouin E., Jeannel D., Cossart P. and Rocourt J., 2002. Expression of ActA, Ami, InlB, and listeriolysin O in *Listeria monocytogenes* of human and food origin. *Applied and Environmental Microbiology* 68, 616–622.
 - 15) Kiss R., Tirczkab T., Szitac G., Bernáthd S., Csikó G., 2006. *Listeria monocytogenes* food monitoring data and incidence of human listeriosis in Hungary, 2004. *International Journal of Food Microbiology* 112, 71-74.
 - 16) Morse R., O'Hanlon K., Virji M., Collins M.D., 1999. Isolation of rifampin-resistant mutants of *Listeria monocytogenes* and their characterization by *rpoB* gene sequencing, temperature sensitivity for growth, and interaction with an epithelial cell line. *Journal of Clinical Microbiology* 37, 2913-2919.
 - 17) Poyart-Salmeron C., Carlier C., Trieu-Cuot P., Courtieu A.L. and Courvalin P., 1990. Transferable plasmid-mediated antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. *Lancet* 335, 1422–1426.
 - 18) Schlech W.F., Lavigne III P.M., Bortolussi R.A., Allen A.C., Haldane E.V., Wort A.J., Hightower A.W., Johnson S.E., King S.H., Nicholls E.S. and Broome C.V., 1983. Epidemic listeriosis - evidence for transmission by food. *New England Journal of Medicine* 308, 203–206.
 - 19) Swaminathan B., 2001. Foodborne pathogenic bacteria: *Listeria monocytogenes*. In: M.P. Doyle, L.R. Beuchat and T.J. Montville, Editors, *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* (2nd ed.), ASM Press, Washington, DC, 337–352.
 - 20) Thévenot D., Dernburg A., Vernozy-Rozand C., 2006. An updated review of *Listeria monocytogenes* in pork meat industry and its products. *Journal of Applied Microbiology* 101, 7-17.

Figure 1: Overall results of antimicrobial resistance

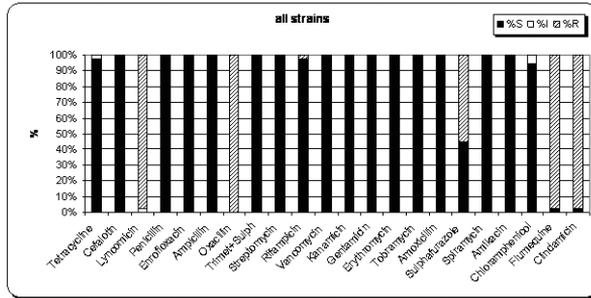


Figure 2: Antimicrobial resistance of meat isolates

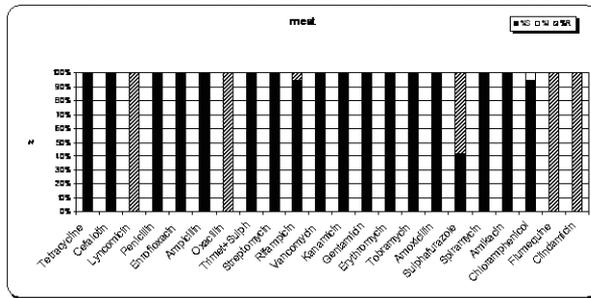


Figure 3: Antimicrobial resistance of fish isolates

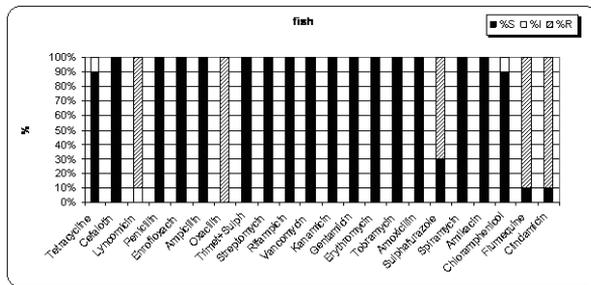
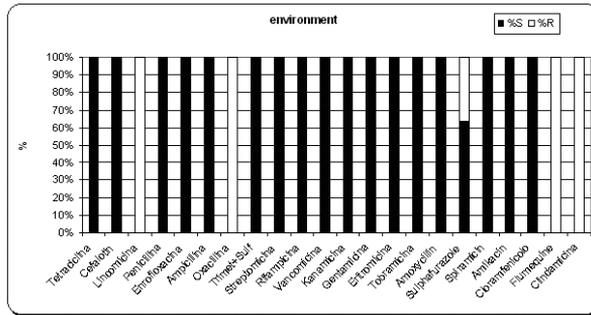


Fig. 4: Antimicrobial resistance of environmental isolates



VALUTAZIONE DELLA EFFICACIA DI DISSANGUAMENTO DELLE CARCASSE DI SUINI AFFETTI DA PERICARDITE: STUDIO PRELIMINARE

BLEEDING OUT EFFICACY IN SLAUGHTER PIGS WITH PERICARDITIS: PRELIMINARY STUDY

SCIARRONE FRANCESCO¹, STELLA SIMONE², BONARDI SILVIA³

PAROLE CHIAVE: dissanguamento, carni, pericardite, suino

KEY WORDS: bleeding out, meat, pericarditis, pig

RIASSUNTO:

Gli autori in questo studio preliminare hanno voluto evidenziare l'esistenza di una correlazione tra il rilievo post mortem di pericardite in suini macellati e grado di dissanguamento delle carni, utilizzando il metodo istologico basato sulla quantità di eritrociti presenti nei vasi della muscolatura striata.

Allo scopo sono stati allestiti dieci preparati istologici da muscolo striato di animali con lesioni riferibili a pericardite e dieci preparati istologici da animali che non presentavano lesioni. Si è constatata una maggiore presenza di eritrociti nel letto vascolare del gruppo di soggetti affetti da patologia pericardica rispetto agli animali sani.

SUMMARY:

In this study the authors described a correlation between the presence of pericarditis lesions in pig carcasses and the degree of bleeding out in pork meats, by using an histological method for the quantification of erythrocytes in blood vessels of skeletal muscle.

A total of ten histological samples from skeletal muscle of animals with pericarditis and other ten samples from healthy animals were prepared. The authors detected a higher number of erythrocytes in the blood vessels of the first group of animals, thus demonstrating a poor exsanguination of pericarditis affected pigs.

PREMESSA

I processi patologici a carattere infettivo che interessano gli organi della cavità toracica sono considerati un grave problema nell'allevamento suino.

1 MEDICO VETERINARIO, SPECIALISTA IN ISPEZIONE DEGLI ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE, LIBERO PROFESSIONISTA REGGIO EMILIA, e-mail: france-sciarro@libero.it

2 DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE VETERINARIE PER LA SICUREZZA ALIMENTARE, UNIVERSITA' DI MILANO

3 PROFESSORE ASSOCIATO DI ISPEZIONE DEGLI ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE

Il danno più grave derivante da essi è sicuramente di tipo economico, sia per le più o meno importanti caratteristiche di morbilità e mortalità, correlate al tipo di processo infettivo, che per lo scarso incremento ponderale giornaliero nei suini affetti da tali problematiche.

Con questo lavoro si è presa in considerazione una patologia di frequente riscontro durante l'attività ispettiva al macello (12): la pericardite sierosa fibrinosa. Tale processo patologico raramente è conseguenza di una localizzazione primaria di un patogeno, essendo per lo più associato a lesioni primarie a livello polmonare, la cui localizzazione pericardica avviene per contiguità.

Lo scopo di questo lavoro è di valutare se tale condizione patologica possa avere una influenza sul dissanguamento della carcassa, considerando la diminuzione della fisiologica azione di scivolamento dei due foglietti sierosi del cuore: l'epicardio ed il pericardio.

RICHIAMI EZIO-PATOGENETICI

Si intende con pericardite il processo infiammatorio che interessa entrambe le sierose che delimitano la cavità pericardica, cioè la parte più interna del pericardio e l'epicardio (6).

Tale infiammazione si può presentare isolata rispetto a lesioni ad altri organi o in associazione con pleuro-polmonite.

Secondo Marcato (1995) dal punto di vista anatomo-patologico nel suino le pericarditi si possono dividere come segue:

PERICARDITE SIEROSA: caratterizzata dall'accumulo di liquido ricco di proteine e cellule infiammatorie, queste ultime presenti anche nel tessuto sieroso pericardico.

Il quadro è associato ad iperemia dei vasi pericardici o flogosi localizzata. Casi di pericardite sierosa pura non sono comuni; è molto più probabile ascriverla nel quadro iniziale di una pericardite sierofibrinosa.

PERICARDITE SIEROFIBRINOSA E FIBRINOSA: è il quadro di più facile riscontro, che si presenta in varie patologie del suino. Microscopicamente è caratterizzata dalla presenza di variabili quantità di liquido sieroso, con esteso deposito di fibrina su entrambi i foglietti sierosi (pericardio ed epicardio) che tendono, con l'evolversi della patologia, a fondersi assieme; tale organizzazione residua anche durante la fase cronica della patologia, divenendo una condizione permanente anche in seguito a guarigione. La pericardite sierofibrinosa e fibrinosa presenta una eziologia varia.

PERICARDITE PURULENTA: consegue spesso alla localizzazione pericardica di emboli settici associati a quadri piemici. In questo contesto un essudato purulento misto a fibrina occupa lo spazio pleurico e tale processo piogeno si estende spesso al mediastino. In caso di superamento della fase acuta, l'evoluzione porta ad una organizzazione del fenomeno flogistico con adesione dei foglietti come prima menzionato (6).

Da un punto di vista eziopatogenetico le pericarditi in genere si possono classificare in idiopatica, traumatica, iatrogena, infettiva, neoplastica. Nel suino sicuramente le pericarditi infettive sono di gran lunga le più frequenti, sostenute da

diversi agenti infettivi quali: *Mycoplasma hyorhinis*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, e batteri appartenenti ai generi *Haemophilus* (13) (8), *Pastorella*, *Streptococcus*, *Salmonella*. (5)

CONSIDERAZIONI RIGUARDO AL DISSANGUAMENTO DELLE CARNI

Durante il processo di macellazione delle diverse specie animali atte alla produzione di carne da destinarsi al consumo umano, gioca un ruolo fondamentale l'operazione di dissanguamento della carcassa. (1)

La presenza di sangue all'interno delle carni, dovuta al riscontro di lesioni traumatiche (ecchimosi), emorragie, ristagno extravasale di sangue, costituisce una delle principali problematiche qualitative delle carni, sia dal punto di vista organolettico (il colore delle carni è infatti uno dei principali criteri di scelta per il consumatore), che da quello tecnologico (riduzione della shelf life, maggiore crescita microbica) (4).

Un dissanguamento non corretto causa modificazioni del prodotto poco gradite al consumatore. Dal punto di vista visivo si può presentare un'eccessiva quantità di sangue nelle confezioni di carne porzionata, mentre nelle carni bianche la colorazione appare più scura rispetto alla norma.

La valutazione di un corretto dissanguamento della carcassa prende in considerazione due parametri. Il primo parametro è la quantità di sangue persa dalla carcassa in seguito a iugulazione, che però non considera il sangue presente a livello della cute, cuore, fegato, milza (7). Il secondo parametro, sicuramente più attendibile, è rappresentato dalla quantità di emoglobina residua. Si considera inoltre attendibile la valutazione istologica della presenza di eritrociti all'interno del letto vascolare su sezioni di tessuto muscolare.

Un lavoro del 1985 Griffiths e coll. hanno preso in considerazione le diverse variabili capaci di influenzare il dissanguamento del tessuto muscolare nel pollo. Tali variabili comprendevano le diverse tecniche usate per lo stordimento e l'abbattimento degli animali, infatti il loro gruppo di studio prendeva in considerazione lo stordimento tramite elettrocuzione con voltaggio di 55, 80, 105 volt e successiva iugulazione; l'abbattimento tramite elettrocuzione con voltaggio di 240 volt e successiva iugulazione, l'anestesia tramite barbiturici e successiva iugulazione.

Le conclusioni tratte tramite la misurazione dell'emoglobina nel tessuto muscolare furono che il metodo di abbattimento non influisce sul corretto dissanguamento del muscolo; la scelta del metodo più appropriato deve quindi mantenere un alto livello di benessere animale (2).

In un lavoro simile Warris e coll. (1978), valutarono l'influenza di differenti metodi di stordimento (elettronarcosi e proiettile captivo) e differenti posizioni di iugulazione (con l'animale sdraiato o appeso) per valutare il dissanguamento del muscolo nella pecora.

Anche essi tramite la misurazione della quantità di emoglobina nel muscolo appurarono che non vi è una rilevante influenza dei differenti metodi sul risultato finale (14).

Il presente lavoro condotto sul suino vuole appurare se patologie cardiache di frequente riscontro in sede ispettiva post-mortem, quali pericarditi sierofibrinose

o fibrinose, possano influenzare l'efficacia di dissanguamento del muscolo in seguito all'impedimento meccanico di scivolamento dei foglietti pericardici causato appunto da tali patologie.

La valutazione dell'esecuzione di un corretto dissanguamento degli animali viene effettuata solitamente mediante la ricerca dei pigmenti tipici del tessuto muscolare, ovvero mioglobina ed emoglobina; quest'ultima rappresenta, in normali condizioni di dissanguamento della carcassa, circa il 10% dei pigmenti totali delle carni (15). I metodi utilizzati sono numerosi: spettrofotometrici, filtrazione su gel, cromatografia a scambio ionico, HPLC, metodi immunologici (11) (10) (3) (4).

Lo scopo di queste tecniche è comunque quello di separare le molecole di emoglobina da quelle, estremamente simili, di mioglobina; la separazione è comunque molto difficoltosa, soprattutto a causa della netta sproporzione nel contenuto relativo dei due pigmenti.

Neumann e Beutling (2001) hanno confrontato carni di pollo ben dissanguate, inadeguatamente dissanguate e non dissanguate, mediante il dosaggio dell'emoglobina e del contenuto di sangue all'interno del tessuto muscolare, trovando una buona corrispondenza tra i due metodi di dosaggio.

Allo scopo di valutare direttamente la quantità di sangue all'interno del tessuto muscolare, si è pensato quindi di utilizzare l'analisi istologica, valutando sia la componente tessutale muscolare striata, sia il letto vascolare compreso all'interno del tessuto (9).

MATERIALI E METODI

Nel periodo Gennaio 2006 - Aprile 2006 sono stati prelevati presso uno stabilimento di macellazione industriale di suini, 20 campioni di tessuto muscolare provenienti da miocardio, diaframma e muscolo sternocefalico. I campioni provenivano da due gruppi di animali. Al primo gruppo appartenevano suini affetti da pericardite fibrinosa di media gravità (10 campioni), mentre del secondo gruppo facevano parte animali che non presentavano lesioni (10 campioni).

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Presso la sezione di anatomia patologica del Dipartimento di patologia animale, igiene sanità pubblica veterinaria della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università degli Studi di Milano, da ogni campione di tessuto muscolare è stata prelevata un'aliquota, fissata in formalina (soluzione di formaldeide al 10%), per un periodo minimo di 3 giorni.

In seguito è stato eseguito il lavaggio del campione in soluzione PBS (tampono fosfato) pH 7.6, a 4°C per una durata minima di 24 ore. A questo segue la graduale disidratazione del campione, mediante una serie di lavaggi nelle seguenti soluzioni: etanolo 70°: 3 lavaggi della durata di 45-60 minuti ciascuno; etanolo 80°: 3 lavaggi della durata di 45-60 minuti ciascuno; etanolo 90°: 3 lavaggi della durata di 45-60 minuti ciascuno; etanolo 100°: 4 lavaggi della durata di 45-60 minuti ciascuno; etanolo 100°/xilolo (1/1): 2 lavaggi della durata di 45-60 minuti ciascuno; xilolo: 3 lavaggi della durata di 45-60 minuti ciascuno.

Viene quindi effettuata l'immersione in paraffina liquida (62°C) per 24 ore

ed un secondo passaggio sempre in paraffina, della durata di 8 ore, allo scopo di eliminare le tracce di xilolo. Al termine vengono quindi allestiti blocchetti di paraffina contenenti il campione.

TAGLIO

I blocchi di paraffina contenenti i tessuti sono tagliati in sezioni da 5 micron mediante microtomo. Le sezioni vengono distese in un bagno di acqua tiepida in modo da eliminare possibili pieghe e successivamente sono trasferite su un vetrino portaoggetti.

DE-PARAFFINIZZAZIONE

Per consentire ai coloranti idrosolubili di penetrare nei tessuti, le sezioni vengono reidratate mediante i seguenti passaggi: xilolo per 15'; alcol assoluto per 5'; alcol assoluto per 5'; alcol 96° per 2'; alcol 70° per 2'; ed infine risciacquo in acqua distillata.

COLORAZIONE

I preparati a questo punto vengono colorati tramite immersione in emallume per 25', lavaggio in acqua corrente per 5', immersione in eosina per 4' ed infine lavaggio in acqua corrente per 1'.

DISIDRATAZIONE

Dopo la colorazione è necessario disidratare nuovamente i tessuti mediante i seguenti passaggi. Alcol 96° per 30"; alcol assoluto per 1'; alcol assoluto per 5'; xilolo per 5'; xilolo per 10'.

Infine i vetrini possono essere montati con il coprioggetto e sono osservabili al microscopio.

DISCUSSIONE

La presenza di sangue residuo nelle carcasse è difficilmente dimostrabile con l'utilizzo delle metodiche istologiche. L'esame dei campioni analizzati ha infatti mostrato una certa quantità di sangue residuo nei vasi muscolari, sia nei campioni provenienti da animali sani che da animali che presentavano una pericardite fibrinosa medio-grave.

Le analisi istologiche effettuate sui campioni appartenenti al primo gruppo (suini affetti da pericardite), hanno dimostrato maggiore presenza di sangue nei vasi, evidenziata da un maggior numero di globuli rossi, come visibile nelle fotografie n°1 e 2.

Tuttavia, la differenza tra campioni provenienti da suini sani ed affetti da pericardite non è molto evidente, e pertanto è difficile, su questa base, effettuare uno screening tra le due categorie di animali. Inoltre, con la metodica istologica è sicuramente molto indaginoso valutare la quantità di emazie presenti nei campioni prelevati dagli animali sani e da quelli affetti da flogosi del pericardio.

Per quantificare l'entità dell'insufficiente dissanguamento degli animali, è necessario utilizzare metodiche chimiche, che permettono di rilevare la quantità di pigmenti totali e, selettivamente, di emoglobina.

Queste metodiche hanno però l'inconveniente della complessità, dovuta alla notevole somiglianza delle molecole di emoglobina e mioglobina. Quest'ultima, che rappresenta praticamente la totalità dei pigmenti porfirinici nel tessuto

muscolare di animali ben dissanguati, ha infatti una struttura estremamente simile a quella dell'emoglobina (10) (4).

A tale proposito, va comunque ricordato che gli studi che si sono avvalsi di metodiche di tipo chimico per quantificare l'emoglobina come marker del dissanguamento degli animali, sono stati effettuati in condizioni particolari. Sono stati, infatti, allestiti gruppi di animali appositamente trattati in modo da essere insufficientemente dissanguati o addirittura non dissanguati, per poter giungere a risultati che indicassero in maniera inequivocabile le caratteristiche chimiche (quantità di emoglobina) di una carcassa correttamente dissanguata (9).

Nel caso di animali che apparentemente non presentano alterazioni da insufficiente dissanguamento, invece, come nel presente studio, le differenze tra gruppi di animali sani e malati può non essere necessariamente marcata.

Il rilievo istologico di una maggiore presenza di sangue residuo nei vasi dei campioni patologici, rispetto a quelli sani, dovrebbe essere quantificata con metodiche chimiche al fine di individuare le eventuali differenze, seppur lievi, tra i due gruppi.

CONCLUSIONI

L'interesse a limitare il numero di animali che in sede di macellazione presentano lesioni da pericardite fibrinosa di una certa entità viene comunque mantenuto in quanto, seppur il riscontro di alterazioni organolettiche delle carni non sia frequente, la permanenza di sangue all'interno delle carni può aumentare il carico microbico e favorire lo sviluppo batterico all'interno della massa muscolare, portando ad una notevole diminuzione della shelf life delle carni ed al riscontro di alterazioni tardive nelle stesse o nei prodotti derivati.

I risultati ottenuti con questo lavoro giustificano un approfondimento delle tematiche considerate, valutando un numero significativo di campioni e affiancando alla tecnica istologica una più sensibile metodica chimica di dosaggio dell'emoglobina.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Alvarez D., Garrido M. D., Banon S., Laencina J. (2005): Animal welfare and pork carcass quality according to stunning system - *An. De Vet. De Murcia*, 21, 77-85.
- 2) Griffiths G.L., McGrath M., Softly A., Jones C. (1985): Blood content of broiler chicken carcasses prepared by different slaughter methods - *Vet. Rec. Oct.*, 12, 382-385.
- 3) Han D., McMillin K.W., Godber J.S. (1994): Hemoglobin, myoglobin and total pigments in beef and chicken muscles chromatographic determination - *J. Food Sci.*, 59, 1279-1282.
- 4) Kranen R.W., Van Kuppelvelt T.H., Goedhart H.A., Veerkamp C.H., Lambooy E., Veerkamp J.H. (1999): Hemoglobin and myoglobin content in muscles of broiler chickens - *Poultry Scie.*, 78, 467-476.
- 5) Leman A.D., Straw B.E., Mengeling W.L., D'Allaire S., Taylor D.J. (1996): in: *Malattie del suino*.

- 6) Marcato P.S. (1995): in: *Patologia animale e ispezione sanitaria delle carni fresche*. Ed agricole, Bologna.
- 7) Meiler D., Troeger K., Moje M., Dederer I., Peschke W., Gotz K. U., Stolle A. (2005): *Quality assurance of sticking in pig slaughter effect on meat quality - Tehnol. Mesa*, 46, 45-50.
- 8) Nedbalcova K., Satran P., Jaglic Z., Ondriasova R., Kucerova Z. (2006): *Haemophilus parasuis and Glasser's disease in pigs: a review- Vet. Med.*, 51, 168-179.
- 9) Neumann A., Beutling D. (2001): *Determination of haemoglobin content in well-bled, inadequately bled and non-bled chicken breast muscle- Fleishwirt.*, 81, 82-85.
- 10) Oellingrath I.M., Iversen A., Skrede G. (1990): *Quantitative determination of myoglobin and hemoglobin in beef by high performance liquid chromatography - Meat Sci.*, 28, 313-320.
- 11) Schuder S., Wittenberg J.B., Haseltine B., Wittenburg B.A. (1979): *Spectrophotometric determination of myoglobin in cardiac and skeletal muscle: separation from hemoglobin by subunit-exchange chromatography - Anal. Biochem.*, 92, 473-481.
- 12) Stocchi R., Rea S., Cecchini S., Ballistreri L., Virgulti M., Loschi A. R. (2006): *Applicabilità di metodi ispettivi semplificati nel suino. Indagine epidemiologica al mattatoio come strumento di verifica - Obb. e Doc. Vet.*, 27, 11-17.
- 13) Turni C., Blackall P. J. (2007): *Comparison of sampling sites and detection methods for Hemophilus parasuis - Aus. Vet. Jour.*, 85, 177-184.
- 14) Warriss P.D., Leach T.M. (1978): *The influence of slaughter method on the residual blood content of meat - J. Sci. Food Agric.*, 29, 608-610.
- 15) Warriss P.D., Rhodes D.N. (1977): *Haemoglobin concentrations in beef - J. Sci. Food Agric.*, 28, 931.

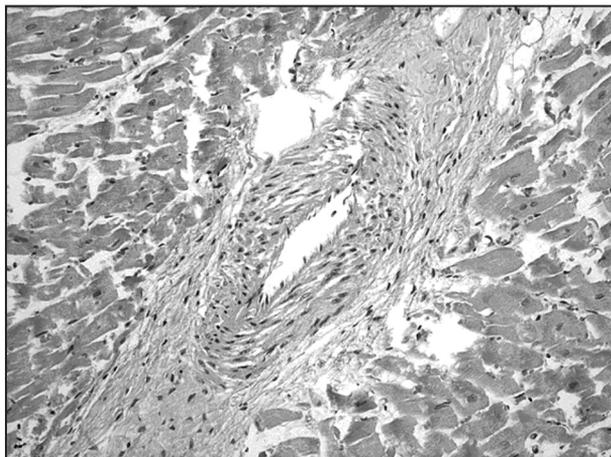


Fig. 1: campione di tessuto muscolare di suino

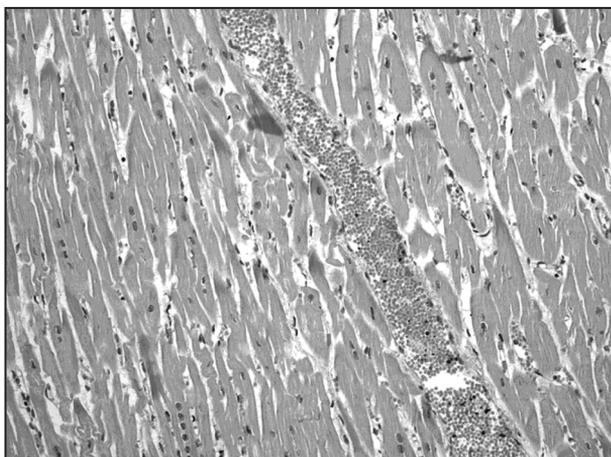


Fig. 2: campione di tessuto muscolare di suino con lesioni di pericardite fibrinosa di media gravità

**ROE DEER (*CAPREOLUS CAPREOLUS*)
IN PARMA PROVINCE:
MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF ANIMALS
WITH KNOWN MITOCHONDRIAL HAPLOTYPE**

**POPOLAZIONE DI CAPRIOLO (*CAPREOLUS CAPREOLUS*)
DELL'APPENNINO PARMENSE:
CARATTERIZZAZIONE MORFOLOGICA DI SOGGETTI
CON APLOTIPO MITOCONDRIALE NOTO**

Soffiantini Chiara Serena¹, Malacarne Massimo¹, Gandolfi Greta², La Fata Isabella², Pisani Giovanni Maria¹, Beretti Valentino¹, Sabbioni Alberto¹.

Key words:

Capreolus capreolus, Parma, body traits, skull measurements, D-loop.

Parole chiave:

Capreolus capreolus, Parma, misure biometriche, misure craniometriche, D-loop.

Abstract

The aim of the study was to characterize biometric features of the population of Parma roe deer (*Capreolus capreolus*) as related to their haplotypic pattern. Fifty-four male roe deer were analyzed for body traits (weight, body length, height at withers, chest circumference, ear length, fore leg length, hind leg length and circumference of neck's base). On 21 animals out of 54, 16 skull measurements were collected as well. The mitochondrial haplotypes of individuals (Central-Europe or Central-Southern Italy group) were known. All morphological measures were analysed with ANOVA considering as fixed factor the D-loop haplotype. No significant differences between the two haplogroups were detectable.

Riassunto

Lo scopo del lavoro è stato di caratterizzare la popolazione di capriolo (*Capreolus capreolus*) di una zona dell'Appennino parmense sotto il profilo morfologico, in relazione all'aplotipo mitocondriale presentato dagli individui considerati. Sono state analizzate le schede biometriche di abbattimento di 54 caprioli

¹ Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti - Università degli Studi di Parma.

² Dipartimento di Biologia Evolutiva – Università degli Studi di Parma.

Indirizzo per corrispondenza - Corresponding Author: Dott.ssa Chiara Serena Soffiantini - Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti – Via del Taglio 8, 43100 Parma – Tel: +39-521-032615 – e-mail: chiaraserena.soffiantini@nemo.unipr.it

maschi, attraverso le seguenti misure morfologiche: lunghezza totale, altezza al garrese, circonferenza toracica, lunghezza orecchio, lunghezza arto anteriore e posteriore e circonferenza base collo. Di 21 dei 54 campioni è stato possibile raccogliere anche 16 misure craniometriche. Di ciascuno degli individui era noto l'aplotipo mitocondriale (D-loop) e quindi l'appartenenza a uno dei due gruppi aplotipici principali: l'aplotipo dell'Europa centrale e l'aplotipo dell'Italia centro-meridionale. Il peso pieno e le misure lineari (corporee e del cranio) sono stati analizzati con ANOVA, considerando l'aplotipo D-loop come fattore fisso. Nessuna differenza significativa a carico delle misure somatiche è stata rilevata fra i due aplogruppi.

Introduction

The roe deer (*Capreolus, Artiodactyla, Cervidae*) is distributed in the Euro-Asiatic continent; it includes European roe deer (*Capreolus capreolus*), distributed in Western Europe, and Siberian roe deer (*Capreolus pygargus*), distributed in Asia and Eastern Europe (Randi *et al.*, 1998).

The European roe deer shows wide morphological variability (Sokolov & Gromov, 1990). The study of body traits of roe deer population of Castelporziano (Rome) (Festa, 1925) and Orsomarso (north of Calabria) (Lehmann, 1973) suggested the presence of a subspecies, defined *C.c. italicus*. The analysis of the control region of mitochondrial DNA (D-Loop mtDNA) substantially confirmed that roe deer populations in Southern Italy ("Italicus", from Castelporziano, Orsomarso, Gargano) are different from other Italian and Central European populations ("Central-European" group) (Randi *et al.* 1998; Vernesi *et al.*, 2002). Furthermore, according to Lorenzini *et al.* (2002), roe deer populations in many Italian areas have to be considered as an admixture of *C.c. italicus* and "Central-European" animals, in consequence of reintroductions, restocking and translocations of allochthonous subjects for hunting purposes. In Parma province as well, roe deer are historically believed to originate from subjects coming from the North of Italy and Eastern Europe. However, Soffiantini *et al.* (2006) found both "Central-European" and "Italicus" mtDNA haplotype in Parma Apennines.

The aim of the study was to characterize biometric features (body traits and skull parameters) of the population of Parma with relation to haplotypic pattern.

Material and Methods

The research was carried out on 54 male roe deer (*Capreolus capreolus*) shot in a Hunting District of Parma (ATC PR 4) during 2005 and 2006.

The animals were characterized for their haplotype by Gandolfi *et al.* (2007) and Gandolfi (2007). Those authors evidenced the presence of haplotypes corresponding to the two main mtDNA haplogroups reported by Randi *et al.* (1998): "Central-European" (West Alps and Central Europe) and "Italicus" (Central and southern Italy), and haplotype frequencies were 23% and 77%, respectively.

Body weight and linear parameters were measured on each animal: body length, height at withers, chest circumference, ear length, fore leg length, hind leg

length and circumference of neck's base (Figure 1). On 21 out 54 male roe deer, skull measurements (Figure 2) were registered with a sliding calliper.

ANOVA univariate GLM (package SPSS, vers.15.0, SPSS Inc., Chicago, IL, US) was employed to check the effect of mitochondrial haplotype on morphology (body weight, linear parameters and skull measurements), according to the following model:

$$y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \varepsilon_{ijkl}$$

y_{ijkl} = dependent variable

μ = common mean

α_i = effect of factor "class of age" ($i = 0, \dots, 3$)

β_j = effect of factor "area" ($j = 1, \dots, 5$)

γ_k = effect of factor "mitochondrial haplotype" ($k = 1, 2$)

ε_{ijkl} = residual error

The factor "class of age" was divided into 4 levels:

0 = class 0 = 1st -11th month;

1 = class 1 = 12th -23rd month;

2 = class 2 = 2-7 years;

3 = class 3 = over 7 years.

As all the skulls were obtained from adults roe deer (>2 years), for the analysis of skull measurements the factor "class of age" was not included in the GLM model.

The factor "area" was divided into 5 levels according to the number of zones that constitute ATC PR 4.

The factor "mitochondrial haplotype" was divided into 2 levels according to the results of the mitochondrial analysis, performed by Gandolfi *et al.* (2007) and Gandolfi (2007):

1 = "Italicus" haplotype;

2 = "Central-European" haplotype.

Results and Discussion

Tables 1, 2 and 3 show the mean values of body traits and skull measurements of roe deer with "Italicus" and "Central-European" haplotypes. ANOVA univariate did not show any difference ($P > 0.05$) between the two groups, for none of the considered measurements.

Preliminary results of this research contradict the hypothesis of Festa about the possibility to distinguish *C.c. italicus* ("Italicus" haplotype) from *C.c. capreolus* ("Central-European" haplotype) on the basis of body traits.

According to Vernesi *et al.* (2002) and Lorenzini *et al.* (2002), populations of Castelporziano should be genetically similar to populations from Tuscany Maremma (*Capreolus capreolus italicus*), while populations of Eastern Alps should be distinguishable both from Castelporziano+Tuscany Maremma and from Tuscany Apennines populations. Montanaro *et al.* (2003) applying linear discriminant analysis to some skull measures were able to distinguish roe deer living in the area corresponding to Castelporziano and Tuscany Maremma (Siena and Grosseto

provinces) from animals living in eastern Alps or in Tuscany Apennine. Not so clear was the possibility to discriminate those two last populations between themselves. In relation to those observations, *Capreolus capreolus italicus* (Castelporziano+Tuscany Maremma) seems to show differences concerning skull measurements compared with *Capreolus capreolus capreolus*, when animals living in different areas are considered. The present research evaluates skull differences between animals with distinct haplotype (“Italicus” and ”Central-European”), living in the same *habitat* (Parma province, ATC PR 4). Results here observed suggest that, as regards animals living in the same habitat, skull measurements don’t show any difference (Table 3). This could mean that differences found by other authors between Alpine populations and Central Italy populations (Castelporziano+Tuscany Maremma) could partly depend on the habitat and not (or not only) on the haplotype.

On the definition of roe deer morphology, *habitat* seems to play a bigger role than the belonging to a certain haplogroup: concerning animals living in Parma province (ATC PR 4), despite the clear differentiation at mitochondrial DNA (Gandolfi *et al.*, 2007; Gandolfi, 2007), no morphological distinction was found.

In any case the results of the present investigation have to be considered as preliminary: sample dimension should be improved, most of all concerning “Central-European” roe deer. Furthermore, investigation at nuclear level should be carried out in order to evaluate the admixture degree between “Italicus” and “Central-European” population.

References

- 1) Aragon S, Blaza F, San Joe C, Fandos P (1997). *Variation in skull morphology of roe deer (Capreolus capreolus) in Western and Central Europe*, Journal of Mammology, 79: 131-140.
- 2) Douzery E, Randi E (1997). *The mitochondrial control region of Cervidae: evolutionary patterns and phylogenetic content*. Molecular Biology and Evolution, 14: 1154-1166.
- 3) Festa E (1925). *Il capriolo dell’Italia Centrale*. Bollettino del Museo di zoologia dell’Università di Torino, vol. XL, Nuova Serie, N. 37 (Napoli).
- 4) Gandolfi G (2007). *Origini e struttura di popolazioni di capriolo (Capreolus capreolus) dell’Appennino tosco-emiliano, attraverso marcatori mitocondriali e nucleari*. Tesi di laurea specialistica in ecologia, Università degli Studi di Parma.
- 5) Gandolfi G, Soffiantini CS, Malacarne M, Casagrande S, La Fata I, Apollonio M, Tagliavini J (2007). *Caratterizzazione molecolare di Capreolus capreolus Linneo, 1758, dell’Appennino parmense*. Lecce, IX Congresso Nazionale dell’Unione Zoologi Italiani (UZI).
- 6) Lehmann (von) E (1973). *Die Säugetiere der Hochlagen des Monte Caramolo (Lucanischer Apennin, Nordkalabrien)*. Suppl. Ricerche Biol. Selvaggina, Vol. V, N. 4 (Bologna).
- 7) Lorenzini R, Mattioli L, Rustoni M, Patalano M (1996). *Allozyme and cranio-metric variability in the Roe Deer (Capreolus capreolus L.) from Central Italy*.

- Zeitschrift für Säugetierkunde – International Journal of Mammalogy, 61: 7-24.
- 8) Lorenzini R, Lovari S, Masetti M (2002). *The rediscovery of the Italian roe deer: genetic differentiation and management implications*. Italian Journal of Zoology, 69: 367-379.
 - 9) Montanaro P, De Marinis AM, Riga F, Focardi S (2003). *Variabilità craniometrica in alcune popolazioni italiane di capriolo*. Hystrix, Italian Journal of Mammalogy, 14(s.i.): 169-170
 - 10) Randi E, Pierpaoli M, Danilkin A (1998). *Mitochondrial DNA polymorphism in populations of Siberian and European roe deer (Capreolus pygargus and C. capreolus)*. Heredity, 80: 429-437.
 - 11) Randi E, Alvez PC, Carranza J, Milosevic- Zlatanovic S, Sfougaris A, Mucci N (2004). *Phylogeography of Roe Deer (Capreolus capreolus) populations: the effects of historical genetic subdivision and recent nonequilibrium dynamics*. Molecular Ecology, 13: 3071-3083.
 - 12) Soffiantini CS, Pisani GM, Malacarne M, Gandolfi G, Sabbioni A & Tagliavini J (2006). *Genetic characterisation of roe deer (Capreolus capreolus) population of Parma Apennines*, Advances in Deer Biology, Atti del convegno “The 6th International Deer Biology Congress”, 88.
 - 13) Sokolov VE, Gromov VS (1990). *The contemporary ideas on roe deer (Capreolus Gray, 1821) systematization: morphological, ethological and hybridological analysis*. Mammalia, 54: 431-444.
 - 14) Vernesi C, Pecchioli E, Caramelli D, Tiedemann R, Randi E, Bertorelle G (2002). *The genetic structure of natural and reintroduced roe deer (Capreolus capreolus) population in the Alps and Central Italy, with reference to the mitochondrial DNA phylogeography of Europe*. Molecular Ecology, 11: 1285-1297.

Table 1 – Least square mean values of body traits (body weight, body length, height at withers, chest circumference) of roe deer shot in Parma province (ATC PR4): comparison between subjects with “Italicus” haplotype and subjects with “Central-European” (CE) haplotype.

Parameter	Body weight (kg)		Body length (cm)		Height at withers (cm)		Chest circumference (cm)	
	Italicus	CE	Italicus	CE	Italicus	CE	Italicus	CE
mtDNA haplotype*								
No.	41	13	41	13	41	13	41	13
Class of age**:								
1	21.7	24.2	112.4	117.5	67.4	69.0	63.2	64.0
2	25.3	24.2	117.2	119.3	68.7	69.0	67.2	64.3
3	26.0	26.5	123.5	118.2	72.0	67.5	68.0	63.5
ES	0.5	0.7	1.2	1.5	1.3	1.6	1.0	1.2

*mitochondrial DNA (mtDNA) haplotype was characterised analysing the control region (D-loop), Gandolfi *et al.* (2007) and Gandolfi (2007).

** class 1: from 12th to 23rd month; class 2: from 2nd to 7th year; class 3: over 7th year.

Table 2 – Least square mean values of body traits (ear length, fore leg length, hind leg length, circumference of neck's base) of roe deer shot in Parma province (ATC PR4): comparison between subjects with “Italicus” haplotype and subjects with “Central-European” (CE) haplotype.

*mitochondrial DNA (mtDNA) haplotype was characterised analysing the control region (D-

Parameter	Ear length (cm)		Fore leg length (cm)		Hind leg length (cm)		Circumference of neck's base (cm)	
	Italicus	CE	Italicus	CE	Italicus	CE	Italicus	CE
mtDNA haplotype*								
No.	41	13	41	13	41	13	41	13
Class of age**:								
1	14.6	16.5	26.4	27.0	34.7	35.5	33.6	38.0
2	15.8	15.0	26.6	26.7	34.6	34.7	35.3	36.0
3	15.5	16.0	27.0	27.2	37.0	35.2	36.0	38.5
ES	0.4	0.4	0.4	0.5	0.4	0.5	1.0	1.3

loop), Gandolfi *et al.* (2007) and Gandolfi (2007).

** class 1: from 12th to 23rd month; class 2: from 2nd to 7th year; class 3: over 7th year.

Table 3 – Least square mean values of skull measurements of roe deer shot in Parma province (ATC PR4): comparison between subjects with “Italicus” haplotype and subjects with “Central-European” (CE) haplotype.

	Italicus	CE	ES
N.	4	17	
Skull measurements (mm) ¹ :			
A	190.2	185.8	1.4
B	200.0	193.5	1.5
C	75.0	76.4	0.7
D	115.5	115.2	0.7
E	47.5	46.4	0.8
F	21.8	23.9	0.8
G	22.5	23.9	0.7
H	61.8	61.2	0.5
I	92.8	92.6	0.8
J	25.0	24.7	0.4
K	177.0	175.7	1.2
L	35.8	36.3	0.3
M	152.5	149.1	1.1
N	88.0	87.9	0.8
O	26.8	26.5	0.6
P	52.8	53.4	0.4

¹ See figure 2

Figure 1 – Body traits: p.p. = total weight; l.t. = body length; a.g. = height at withers; c.t. = chest circumference; l.a.a. = fore leg length; l.a.p. = hind leg length; c.c. = neck's base circumference.

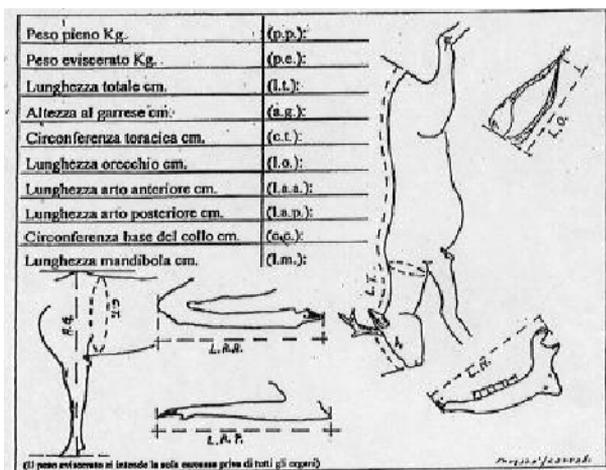
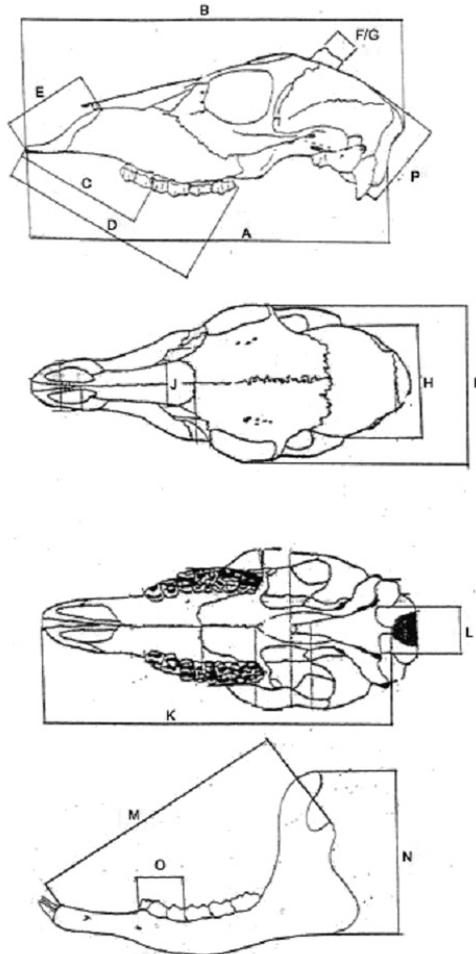


Figure 2 – Skull measurements (Lorenzini *et al.*,1996; Aragon *et al.*, 1997): A condylobasal length; B total skull length; C length from prosthion to P2; D length from prosthion to M3; E greatest prosthion length; F width of the right pedicle; G width of the left pedicle; H neurocranium width; I zygomatic width; J greatest width across the nasals; K basal length; L width of the occipital condyles; M length of the mandible from infradentale to condyle; N height of mandible; O length of the premolar row of the mandible; P neurocranium height.



VARIATIONS OF NITROGEN FRACTIONS, PROTEOLYSIS AND RENNET-COAGULATION PROPERTIES OF MILK WITH DIFFERENT SOMATIC CELL VALUES¹

Malacarne M^{2*}, Franceschi P², Formaggioni P², Fieni S³, Summer A², Mariani P²

Keywords:

cow milk, somatic cell content, nitrogen fractions, proteolysis, rennet-coagulation, curd firming time

Parole chiave:

latte di vacca, contenuto cellule somatiche, frazioni azotate, proteolisi, coagulazione presamica, tempo rassodamento

RIASSUNTO

Sono state studiate le variazioni di alcune componenti azotate e delle principali caratteristiche di coagulazione presamica del latte in rapporto al contenuto di cellule somatiche. La ricerca è stata condotta su 60 campioni di latte individuale classificati in base al loro contenuto di cellule somatiche: basso (L), fino a 250000; medio (M), da 250000 a 750000; elevato (H), sopra 750000 unità/mL. Il latte ad elevato contenuto di cellule somatiche è risultato povero di lattosio (4,85 L vs 4,66 M vs 4,57 H, g per 100 g; $P < 0,0001$), ricco di cloruri (98,5 L vs 111,5 M vs 117,9 H, mg Cl⁻ per 100 g; $P < 0,0001$) e contraddistinto da un basso indice di caseina (77,36 L vs 76,16 M vs 74,87 H; $P < 0,001$). I lattini individuali ad elevato contenuto di cellule somatiche hanno fatto registrare una maggiore proteolisi con relativo accumulo di proteoso-peptoni (N proteoso-peptoni: 11,5 L vs 15,9 M vs 17,6 H, mg per 100 g; $P < 0,05$). Gli stessi, inoltre, contraddistinti da una minore acidità titolabile (3,61 L vs 3,38 M vs 3,17 H; °SH/50mL; $P < 0,0001$) e da un pH più elevato (6,64 L vs 6,69 M vs 6,73 H; unità; $P < 0,01$), sono risultati caratterizzati da un tempo di rassodamento significativamente più lungo (3,90 L vs 4,64 M vs 7,74 H; min; $P < 0,001$), chiaro indice di una minore capacità di aggregazione delle micelle di paracaseina, conseguente ad una profonda alterazione del sistema micellare.

ABSTRACT

The variations of some nitrogen components and the principal rennet-coagulation properties of milk in relation to somatic cell content were studied. The research

* massimo.malacarne@unipr.it

¹ Oral communication at the "24th World Buiatrics Congress", Nice, France, October 15-19, 2006. Comunicazione orale al "24° Congresso Mondiale di Buiatria", Nizza, Francia, 15-19 ottobre 2006.

² Sezione di Scienza e Tecnologie Lattiero Casearie. Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti, Università degli Studi di Parma. Via del Taglio 8, 43100 Parma, Italy.

³ Centro Lattiero Caseario. Via Torelli 17, 43100 Parma, Italy.

was carried out on 60 individual milk samples grouped according to their somatic cell count: low (L), up to 250000; moderate (M), from 250000 to 750000; high (H), over 750000 units/mL. Milk with a high somatic cell count was poor in lactose (4.85 L vs 4.66 M vs 4.57 H, g per 100 g; $P < 0.0001$), rich in chloride (98.5 L vs 111.5 M vs 117.9 H, mg Cl^- per 100 g; $P < 0.0001$) and characterised by a low casein number (77.36 L vs 76.16 M vs 74.87 H; $P < 0.001$). Individual milk samples with a high somatic cell content showed a higher degree of proteolysis, as demonstrated by the relative greater accumulation of proteose-peptones (proteose-peptone N: 11.5 L vs 15.9 M vs 17.6 H, mg per 100 g; $P < 0.05$). Moreover, the same samples were characterised by a lower titratable acidity (3.61 L vs 3.38 M vs 3.17 H; $^{\circ}\text{SH}/50\text{mL}$; $P < 0.0001$), a higher pH values (6.64 L vs 6.69 M vs 6.73 H; units; $P < 0,01$) and showed a significantly longer curd firming time (3.90 L vs 4.64 M vs 7.74 H; min; $P < 0.001$), clear index of a lower aggregation capacity of the para-casein micelles, consequence of an alteration of the micellar system.

INTRODUCTION

Quantitative and qualitative variations of milk casein markedly affect the rheological properties of curd, with repercussion on texture and, consequently, on cheese quality.

The rennet-coagulation aptitude of milk plays a key role in Parmigiano-Reggiano cheese manufacture, whose production is based on the formation and syneresis of a lactic-rennet curd [1].

In this regard, the structural characteristics of the micellar system are of primary interest. These characteristics are mainly of genetic origin. The integrity of the native casein, which is mainly related to the functional condition of the mammary gland, plays a relevant role as well [2].

In particular physiological conditions (e.g. end of lactation) and, above all, as a consequence of mammary infections, functional alterations are mainly related to hydrolytic degradation of casein by the alkaline protease of milk, with strong repercussion on the processing properties of milk [3-8]. Among degradation products, γ -caseins and proteose-peptones which arise from the selective hydrolysis of β -casein [9, 10] have to be considered.

The aim of this research was to study the variations of nitrogen fractions (those related to the integrity state of the micellar system) and rennet-coagulation characteristics of individual milk samples in relation to the content of somatic cells.

MATERIALS AND METHODS

The research was carried out on 60 "individual" milk samples. The samples were grouped in 3 classes according to their somatic cell count (SCC): low (L), up to 250 000 cell/mL, moderate (M), from 250000 to 750000 cell/mL, high (H), above 750000 cell/mL.

Milk samples were collected throughout a one year period, from Italian Friesian cows reared in both small and medium size herds which were located in the

province of Parma, in both the plain and in hill zones.

On each milk sample the following parameters were determined:

- pH with a potentiometer, titratable acidity with 0.25 M-NaOH using the Soxhlet-Henkel method [11]

- Fat and lactose by infrared analysis [12] with a Milk-o-Scan 134 A/B (Foss Electric, DK-3400 Hillerød, Denmark)

- Somatic cell count (SCC), by means fluoro-opto-electronic method [13] with Fossomatic 250 (Foss Electric, Hillerød, Denmark);

- Total nitrogen (TN) in milk and non-casein nitrogen (NCN) in acid whey at pH 4.6 were determined by the Kjeldahl method [14]; from which casein nitrogen ($CN = TN - NCN$) and casein number ($CN \cdot 100 / TN$)

- Proteose-peptone nitrogen (PPN) according to Aschaffenburg and Drewry [14]. Briefly, anhydrous sodium sulphate was added to pH 4.6 acid whey of milk to precipitate proteose-peptone fraction. Its content was determined as difference.

- Milk coagulation properties: to milk samples (10 mL) 0.2 mL (1 : 100) a rennet solution (1 : 19 000; Chr. Hansen, I-20094 Corsico MI, Italy) was added. Milk clotting time (r), curd firming time (k_{20}) and curd firmness (a_{30}), were measured at 35 °C [15] using a Formagraph (Foss Electric): r is the time from the addition of rennet to the onset of gelation; k_{20} is the time from the onset of gelation till the signal attains a width of 20 mm; a_{30} is the width of the signal 30 min (a_{30}) after the addition of rennet.

Statistical significance of differences were tested with univariate ANOVA considering as fixed factors somatic cell class (low, moderate and high).

RESULTS AND DISCUSSION

The contents of lactose and chloride were different ($P < 0.05$) among L, M and H individual milk samples. Lactose was lower in M and H milks than in L milk (4.85 L vs 4.66 M vs 4.57 H, g/100 g; $P < 0.0001$). On the other hand, M and H milks were characterised by a higher chloride content than L milk (98.5 L vs 111.5 M vs 117.9 H, mg Cl^- /100 g; $P < 0.0001$). In H milk lactose content was 6% lower and the chloride content resulted 20% higher than in L milk.

As far as nitrogen fractions are concerned, the increase of somatic cell count was related to a progressive increase of non-casein nitrogen content (112.8 L vs 120.0 M vs 125.5 H, mg/100 g; $P < 0.01$). A positive correlation between somatic cell values and pH 4.6 soluble nitrogen was reported by Somers et al. [16] in a study focused on individual milk samples.

On the other hand, variations of casein nitrogen content were not significant, even if milk with the highest value of somatic cells showed, on average, a lower concentration of casein (374.3 mg/100 g).

The combined effects of these two phenomena determined significant variations of the casein number among L, M and H milks (77.36 L vs 76.16 M vs 74.87 H; $P < 0.001$). In fact, in L milk the value of casein number was markedly lower when compared to H milk.

When compared to L milk, M and H milks were characterised by a higher

content of proteose-peptone N (11.5 L vs 15.9 M vs 17.6 H, mg/100 g; $P < 0.05$).

Proteose-peptone represented an increasing quota of casein nitrogen as milk somatic cell content increased. This suggests a possible degradation of the organic component of the micellar system by the plasmin.

This latter hypothesis is indirectly supported by the observations reported by Urech et al. [17]. These authors reported an increase of the relative proportion of γ -casein in quarter milk samples with high somatic cell count with respect to quarter milk samples CMT (California Mastitis Test) negatives and with low somatic cell count.

The titratable acidity values were markedly different ($P < 0.0001$) among L, M and H individual milks (3.61 L vs 3.38 M vs 3.17 H; °SH/50mL) (Table1).

The values of pH resulted higher in H milk than L and M milks (6.64 L vs 6.69 M vs 6.73 H; units; $P < 0.01$).

In general, M milk and, in particular, H milk showed physico-chemical alterations, particularly at the level of acidity, such as to influence the rennet-coagulation properties. In fact, both milks were characterised by higher clotting time (15.45 L vs 18.38 M vs 20.43 H; min; $P < 0.01$) when compared to L milk.

Differences in curd firming time are remarkable (3.90 L vs 4.64 M vs 7.74 H; min; $P < 0.001$): H milk value was almost twice with respect to L milk value. This is an index of deep modifications at the level of the aggregation capacity of paracasein micelles of H milk, probably related to structural alterations of the micellar system of this milk.

These observations agree with those reported by Srinivasan and Lucey [18] about the marked alterations of rheological properties of rennet-curd as a consequence of the hydrolytic action of the plasmin on native micellar casein.

The variations of curd firmness measured 30 minutes after rennet addition were remarkable as well (34.6 L vs 28.6 M vs 23.3 H; mm; $P < 0.01$).

CONCLUSIONS

A marked alteration of those milk characteristics related to functional conditions of the mammary gland was observed in milks with moderate and high somatic cell content.

As far as nitrogen fractions, an increase of non-casein nitrogen and, as a consequence, a decrease of casein number was observed. A significant increase of the proteose-peptone content in the milk and its proportion, with respect to casein, were registered as well. This latter variation clearly demonstrate that the increase of the proteolytic activity in mastitic milk is the result of the increased activity of the alkaline protease.

The worsening of rennet-coagulation properties of milk with a high content of somatic cell is probably the result of an alteration of the integrity of the micellar system.

Ringraziamenti:

Lavoro eseguito nell'ambito del programma di sperimentazione della regione

Emilia-Romagna, con il coordinamento tecnico-organizzativo del Centro Ricerche Produzioni Animali di Reggio Emilia.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Mariani P, Summer A, Formaggioni P, Malacarne M, Battistotti B (2000). Rilievi sui principali requisiti tecnologico-caseari del latte per la produzione di formaggio grana. *Sci. Tecn. Latt.-Cas*, 52, 49-91.
- 2) Mariani P, Pecorari M (1987). Genetic factors, milk cheesemaking aptitude and cheese yield. *Sci. Tecn. Latt.-Cas.*, 38, 286-326.
- 3) Ali AE, Andrews AT, Cheeseman GC (1980). Influence of storage of milk on casein distribution between the micellar and soluble phases and its relationship to cheese-making parameters. *J. Dairy Res.*, 47, 371-382.
- 4) Politis I, Ng-Kwai-Hang KF (1988). Association between somatic cell count of milk and cheese-yielding capacity. *J. Dairy Sci.*, 71, 1720-1727.
- 5) Barbano DM, Rasmussen RR, Lynch JM (1991). Influence of milk somatic cell count and milk age on cheese yield. *J. Dairy Sci.*, 74, 369-388.
- 6) Ballou LU, Pasquini M, Bremel RD (1995). Factors affecting herd milk composition and milk plasmin at four levels of somatic cell counts. *J. Dairy Sci.*, 78, 2186-2195.
- 7) Bastian ED, Brown RJ (1996). Plasmin in milk and dairy products: an update. *Int. Dairy Journal*, 6, 435-457.
- 8) Nicholas GD, Auldism MJ, Molan PC, Stelwagen K, Prosser CG (2002). Effects of stage of lactation and time of year on plasmin-derived proteolytic activity in bovine milk in New Zealand. *J. Dairy Res.*, 69, 533-540.
- 9) Eigel WN (1977). Formation of γ 1-A2, γ 2-A2 and γ 3-A caseins by in vitro proteolysis of β -casein A2 with bovine plasmin. *Int. J. Biochem.*, 8, 187-192.
- 10) Pâquet D (1989). *Revue bibliographique: la fraction protéose-petpones du lait. Le Lait*, 69, 1-21.
- 11) Anon. (1963). Determinazione del grado di acidità del latte secondo Soxhlet-Henkel. *Milchwissenschaft*, 18, 520.
- 12) Biggs DA (1978). Instrumental infrared estimation of fat, protein and lactose in milk: collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 61, 1015-1034.
- 13) Schmidt-Madsen P (1975). Fluoro-opto-electronic cell-counting on milk. *J. Dairy Res.*, 42, 227-239.
- 14) Aschaffenburg R, Drewry J (1959). New procedure for the routine determination of the various non-casein proteins of milk. *XVth Int. Dairy Congr.*, 3, 1631-1637.
- 15) McMahon DJ, Brown RJ (1982). Evaluation of Formagraph for comparing rennet solutions. *J. Dairy Sci.*, 65, 1639-1642.
- 16) Somers JM, O'Brien B, Meaney WJ, Kelly AL (2003). Heterogeneity of proteolytic enzyme activities in milk samples of different somatic cell count. *J. Dairy Res.*, 70, 45-50.
- 17) Urech E, Puhán Z, Schällibaum M (1999). Changes in milk protein fractions as affected by subclinical mastitis. *J. Dairy Sci.*, 82, 2402-2411.
- 18) Srinivasan M, Lucey JA (2002). Effects of added plasmin on the formation and

reological properties of rennet-induced skim milk gels. *J. Dairy Sci.*, 85, 1070-1078.

Table 1 – Individual milk samples: basic composition, nitrogen fraction distribution, pH, titratable acidity and rennet-coagulation parameters according to three somatic cell levels. Mean±SD.

Tabella 1 - Latti individuali: caratteristiche di base, ripartizione delle frazioni azotate, pH, acidità titolabile e parametri di coagulazione secondo tre differenti livelli di cellule somatiche. Media±DS

		Low Basso (n = 15)	Moderate Medio (n = 15)	High Elevato (n = 15)	P
Somatic cells SCC <i>Cellule somatiche SCC</i>	10 ³ /mL	110± 52	529± 79	1699± 876	—
Protein TN x 6.38 <i>Proteina TN x 6,38</i>	g/100g	3.18± 0.20	3.21± 0.19	3.19± 0.20	NS
Fat <i>Grasso</i>	g/100g	3.03± 0.97	3.30± 0.60	3.39± 0.67	NS
Lactose <i>Lattosio</i>	g/100g	4.85± 0.11 b	4.66± 0.15 a	4.57± 0.16 a	****
Chloride, Cl ⁻ <i>Cloruri, Cl⁻</i>	mg/100g	98.5± 8.6 a	111.5± 8.8 b	117.9± 9.4 b	****
Total N TN <i>N totale TN</i>	mg/100g	498.3± 31.3	503.0± 30.1	499.8± 30.8	NS
Casein N CN <i>N caseina CN</i>	mg/100g	385.5± 26.0	383.0± 22.3	374.3± 25.6	NS
Non-casein N NCN <i>N non caseinico NCN</i>	mg/100g	112.8± 11.3 a	120.0± 8.7 ab	125.5± 10.9 b	**
Non-protein N NPN <i>N non proteico NPN</i>	mg/100g	25.3± 3.8	24.7± 3.2	24.0± 2.7	NS
Protease-peptone N PPN <i>N prot-peptoni PPN</i>	mg/100g	11.5± 4.9 a	15.9± 5.0 ab	17.6± 8.0 b	*
CN / TN	%	77.36± 1.83 c	76.16± 0.68 b	74.87± 1.72 a	***
PPN / CN	%	3.01± 1.32 a	4.16± 1.31 ab	4.73± 2.30 b	*
pH		6.64± 0.08 a	6.69± 0.06 a	6.73± 0.06 b	**
Titratable acidity <i>Acidità titolabile</i>	°Soxhlet-Henkel/50 mL	3.61± 0.24 c	3.38± 0.25 b	3.17± 0.19 a	****
Clotting time r <i>Tempo coagulazione r</i>	min	15.45± 3.10 a	18.38± 4.38 b	20.43± 3.69 b	**
Curd firming time k ₂₀ <i>Tempo rassodamento k₂₀</i>	min	3.90± 1.20 a	4.64± 1.65 a	7.74± 4.20 b	***
Curd firmness a ₃₀ <i>Consistenza coagulo a₃₀</i>	mm	34.56± 5.38 b	28.60± 8.57 ab	23.33± 9.85 a	**

NS, P>0.05; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; **** P<0.0001

a, b, c: values in the same row with different letters are different for P<0.05

a, b, c: valori con lettere diverse nella stessa riga differiscono per P<0,05.

CARATTERISTICHE NUTRITIVE DI PRATI-PASCOLI DELL'APPENNINO PARMENSE.

NUTRITIONAL VALUE OF NATURAL PASTURES IN PARMESAN APENNINES

Superchi Paola, Baratta Chiara, Beretti Valentino, Sabbioni Alberto

PAROLE CHIAVE:

Prati - pascoli - Valore nutritivo - Appennino parmense

Key words:

Natural pastures - Nutritive value - Parmesan Apennines

RIASSUNTO

Scopo della presente ricerca è stato quello di valutare le caratteristiche qualitative e quantitative delle produzioni, ottenute nel periodo giugno-settembre, di due ambienti pascolivi dell'Appennino parmense, situati rispettivamente nel comune di Monchio (Rigoso 1.128 m. s.l.m.) e in quello di Tizzano (M.Caio 1.312 m. s.l.m.).

Lo studio della composizione floristica e della sostanza secca prodotta è stato effettuato adottando il metodo del pascolamento delineato da Corral e Fenlon (1978), modificato da Acutis e Reyneri (1992). Il calcolo del carico di bestiame ovino è stato ricavato avvalendosi delle equazioni di stima proposte da Molle et al. (2001).

L'analisi floristica di entrambi i pascoli ha messo in luce una composizione sovrapponibile a quella considerata tipica per i pascoli appenninici e caratterizzata dalla presenza di piante a buono o elevato indice di qualità specifica (IS). La produzione totale di sostanza secca, nel periodo pascolativo, è stata pari a 0.564 t/ha per il cotico di Rigoso e a 0.474 t/ha per quello situato sul M. Caio. Sono state osservate variazioni nella composizione chimica, in rapporto al prelievo ed alla zona di provenienza; in particolare, i campioni di prato-pascolo del M. Caio, soprattutto in corrispondenza dei prelievi effettuati nel secondo bimestre, hanno denunciato, rispetto a quelli ottenuti nella zona di Rigoso, un progressivo aumento dei costituenti strutturali ed una riduzione del tenore di proteina greggia. Il valore nutritivo è stato mediamente superiore (+7%) per il prato pascolo di Rigoso.

Nel complesso il carico di bestiame ovino di razza Cornigliese è risultato basso-medio, oscillando da 0.97 a 3.93 capi/ha.

SUMMARY

The study had the aim to estimate quantitative and qualitative characteristics of the productions obtained in the period June-September of two natural pastures in parmesan Apennines, located, respectively, in the town of Monchio (Rigoso 1.128 m.a.s.l.) and in that of Tizzano (Caio mountain 1.312 m.a.s.l.).

Floristic characterization and dry matter production were carried out following the method of Corral and Felon (1978), amended by Acutis e Reyneri (1992). The calculation of the sheep load was derived by using the equations proposed by Molle et al. (2001). In general, floristic analysis of both pastures have revealed a composition typical for Apennine pastures and characterized by the presence of plants with good or high index of specific quality. During the productive period total dry matter production amounted to 0.564 t Ha⁻¹ for the Rigoso area and to 0.474 t Ha⁻¹ for the Caio mountain area. Variations in chemical composition have been observed, in relation to levy and area of origin. In particular, samples from Caio mountain pasture, especially in correspondence to the drawings made in the second two months, denounced a gradual increase in structural components and a reduction in the content of crude protein, compared to those obtained in the area of Rigoso. Nutritive value resulted higher (+7%), on average, for Rigoso pasture. Overall Cornigliese sheep load was low-medium (from 0.97 to 3.93 heads Ha⁻¹).

INTRODUZIONE

Consolidare il rapporto tra territorio, allevamento e produzioni locali tipiche, obiettivo che da diversi anni si sta cercando di perseguire nel nostro Paese, comporta scelte ben precise per le implicazioni di carattere sociale, economico e ambientale che da esso derivano.

Nelle zone collinari e montane, l'utilizzazione dei pascoli, consente uno sfruttamento razionale dei terreni e ciò non solo per il fatto che essi contribuiscono in maniera marcata alla stabilità dei suoli, riducendo l'erosione, ma anche perché sono in grado di fornire una produzione foraggera tale da permettere l'esercizio di attività zootecniche.

Parallelamente, l'allevamento di popolazioni locali, orientato ad una produzione tradizionale e più qualificata, consente di ottenere prodotti tipici che possono favorire la valorizzazione di particolari microeconomie locali. La salvaguardia delle razze autoctone evita infatti la perdita di specifiche combinazioni geniche, permette di sfruttare le peculiarità funzionali e produttive degli animali e quindi favorisce lo sviluppo di attività umane sul territorio (Pastore, 2002).

Lo studio primario della qualità dei pascoli, sia in termini di composizione chimico-nutrizionale, sia di associazioni di essenze botaniche, è necessario per valutare le potenzialità gestionali e produttive di aree nelle quali non è ipotizzabile uno sviluppo ispirato ai modelli di zootecnia intensiva. In particolare, bisogna valutare le risorse foraggere e la loro possibilità di mantenere un certo carico di bestiame, senza andare incontro a involuzioni del pabulum fitopastorale a causa di una sottostima del carico animale, per prelievo troppo modesto e selettivo, o di un sovraccarico, per pre-

lievi troppo frequenti. Nella realtà dell'Appennino parmense lo sfruttamento di aree pascolative può avvenire favorendo l'allevamento di ruminanti minori, appartenenti a razze locali, tra le quali viene annoverata la pecora di razza Cornigliese, a triplice attitudine, iscritta nel Registro nazionale per le popolazioni ovi-caprine autoctone a limitata diffusione dell'ASSONAPA che, nella Provincia di Parma, trova il suo areale di diffusione tra i comuni di Palanzano, Corniglio e Monchio delle Corti.

Nella presente indagine, si sono voluti caratterizzare da un punto di vista chimico nutrizionale due cotici naturali, entrambi facenti parte del Parco Regionale delle Valli del Cedra e del Parma, destinati al pascolamento di pecore di razza Cornigliese.

Materiali e metodi

Allo scopo sono stati identificati un cotico naturale nel comune di Monchio ed uno in quello di Tizzano. Secondo il censimento dell'agricoltura del 2000 (fonte ISTAT), la superficie totale agraria del comune di Monchio è pari a 797,63 ha di cui 64,56 ha destinati a pascolo, mentre quella di Tizzano a 2339,11 ha di cui 43,08 ha a pascolo

L'indagine, effettuata nel corso del 2004, ha avuto una durata di quattro mesi (giugno – settembre), corrispondenti al periodo di pascolamento.

Nel comune di Monchio è stato individuato un pascolo in località Rigoso (m. 1128 s.l.m.), mentre per il comune di Tizzano è stata identificata un'area del Monte Caio (m. 1312 s.l.m.), aventi una superficie, rispettivamente, di 4000 mq e di 10.000 mq.

Per la caratterizzazione climatica delle zone interessate sono stati utilizzati i dati termopluviometrici ricavati dalle stazioni di Isola di Palanzano e del lago Balzano.

Su ciascun pascolo sono state effettuate valutazioni bisettimanali riguardanti la composizione floristica, la produttività e le caratteristiche nutritive.

La valutazione della composizione floristica e della sostanza secca prodotta nel periodo giugno-settembre, è stata effettuata adottando la tecnica del pascolamento simulato (intervallo di 28 giorni) proposta da Corral e Fenlon (1978) e, successivamente, modificata da Acutis e Reyneri (1992).

Rispetto al metodo originale, in cui si utilizzano quattro aree di saggio, l'intensità media settimanale di crescita (IC) è stata calcolata impiegando le informazioni ottenute da due serie di parcelle tagliate in successione ogni 14 giorni, anziché sulla scorta di produzioni utilizzate in 4 diversi tempi di inizio scalati di 7 giorni.

L'algoritmo di calcolo delle intensità settimanali di crescita (IC) è risultato pertanto il seguente:

$$IC = (a_1 Y_{t_1} + a_2 Y_{t_2}) \times 1/t_2 - t_0$$

Y= produzioni parcellari rilevate nei momenti t_1 e t_2 (secondo Acutis e Reyneri (1992) distanziati fra loro di 14 giorni)

$t_2 - t_0$ è la durata di un ciclo (28 giorni come previsto da Corral e Fenlon, 1978)

e infine $a_1 = a_2 = 1/2 = 0,50$

Rigoso e del M.Caio, nel periodo sottoposto ad indagine.

In entrambe le località, tra le Graminacee si è registrata la presenza di piante del genere *Lolium*, *Bromus* ed *Agrostis*; il genere *Festuca* è stato riscontrato solo a Rigoso e il genere *Phleum* solo sul M.Caio; tra le Leguminose, piante del genere *Trifolium*, *Onobrychis* e *Lathyrus*. Limitatamente al prato-pascolo del M.Caio si è osservata la presenza di *Vicia* spp.

Ben rappresentate, in entrambe le situazioni, altre famiglie botaniche, in gran parte comuni e, limitatamente al prato-pascolo di Rigoso, comprendenti Liliacee, Valerianacee, Geraniacee ed Equisetacee.

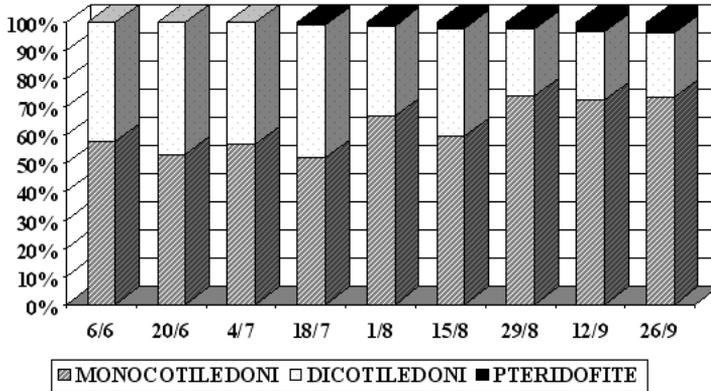
Tabella 1 - Facies fitopastorali rilevate nel periodo giugno-settembre.

	RIGOSO	M. CAIO
FANEROGAME	Graminacee: - <i>Lolium</i> - <i>Festuca</i> - <i>Bromus</i> - <i>Agrostis</i> Leguminosee: - <i>Trifolium</i> - <i>Onobrychis</i> - <i>Lathyrus</i> Umbelliferee Scrophulariacee Ranunculacee Primulacee Plantaginee Compositae Rosacee Asteracee Liliaceae Valerianacee Geraniacee	Graminacee: - <i>Phleum</i> - <i>Lolium</i> - <i>Bromus</i> - <i>Agrostis</i> Leguminosee: - <i>Trifolium</i> - <i>Onobrychis</i> - <i>Lathyrus</i> - <i>Vicia</i> Umbelliferee Scrophulariacee Ranunculacee Primulacee Plantaginee Compositae Rosacee Asteracee
PTERIDOFITE	Equisetaceae	

In generale, l'analisi floristica dei pascoli ha messo in luce una composizione pressoché sovrapponibile a quella rilevata da altri Autori in pascoli appenninici (Zi-liotto et al., 1992) e caratterizzata dalla presenza di piante a buono o elevato indice di qualità specifica (IS) (Cavallero et al., 1992).

In rapporto all'ambiente, il contributo produttivo delle principali classi botaniche è variato nel tempo come è possibile osservare dall'esame dei grafici 1 e 2.

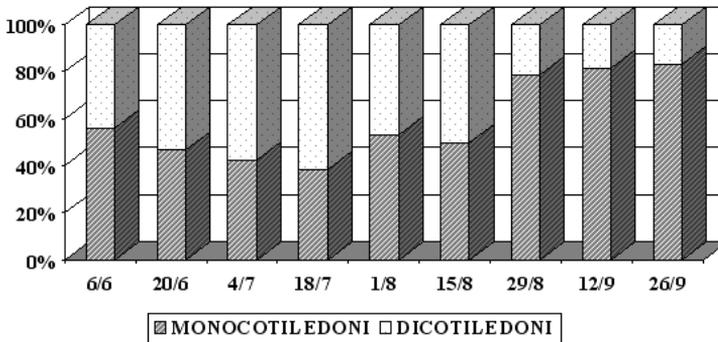
Grafico 1 - Contributo delle principali classi botaniche rilevate nel prato-pascolo di Rigoso in rapporto ai prelievi



A Rigoso la % di monocotiledoni, risultata sempre più elevata rispetto a quella delle dicotiledoni, è oscillata tra il 52% (prelievo del 18 luglio) e il 74% (prelievo del 29 agosto).

Le pteridofite, piante considerate tossiche per la loro capacità di produrre tiaminasi (Verona, 1984, Raimondo, 1991), sono comparse a partire dal secondo prelievo effettuato nel mese luglio e la loro presenza è aumentata progressivamente, andando a toccare il valore massimo del 3,8% nell'ultimo prelievo effettuato.

Grafico 2 - Contributo delle principali classi botaniche rilevate nel prato-pascolo del M. Caio in rapporto ai prelievi



La distribuzione delle classi botaniche nel prato-pascolo del M. Caio è stata caratterizzata, almeno sino alla metà di agosto, da una % di dicotiledoni nettamente superiore a quella delle monocotiledoni, nonostante la disponibilità idrica in questa zona sia stata più elevata rispetto a quella di Rigoso.

Il rapporto di/monocotiledoni si è invece invertito negli ultimi tre prelievi effettuati a partire da fine agosto.

La composizione chimica ed il relativo valore nutritivo, espresso in UFL e

UFC, i cui valori medi sono riportati nella tabella 2, risultano più favorevoli per il prato-pascolo di Rigoso

Tabella 2 – Tenore in umidità, composizione chimica, UFL e UFC (valori medi) e ingestione dei prato-pascoli.

		Monte Caio	Rigoso
Umidità	%	65.97	72.62
Proteina greggia	% s.s.	12.60	13.12
Cellulosa greggia	% s.s.	29.39	26.76
NDF	% s.s.	58.35	56.16
ADF	% s.s.	39.52	37.76
ADL	% s.s.	7.53	7.15
UFL	kg s.s.	0.69	0.74
UFC	kg s.s.	0.61	0.65
Ingestione di s.s.	g/kg ^{0.75}	1.78	1.82

Le variazioni più rilevanti nella composizione chimica, emerse dalla comparazione tra le due aree, in rapporto al momento del prelievo, hanno riguardato il prato - pascolo del Monte Caio per il quale si è assistito ad un progressivo aumento, a partire dalla metà di agosto, dei costituenti strutturali (NDF da 58,55 a 67,83% s.s.; ADL da 7,35 a 10,29% s.s.). che non trova piena giustificazione nei rispettivi rilievi riguardanti la distribuzione floristica. Infatti mentre è più che giustificato un aumento del tenore di cellulosa greggia e di NDF all'aumentare della % di graminacee, non altrettanto dicasi per l'aumento del tenore di lignina osservato in quanto è proprio in questi momenti che la percentuale di dicotiledoni, più ricche di lignina rispetto alle graminacee, è risultata, per quest'area pascolativa, particolarmente ridotta. Altri fattori, quali l'esposizione e l'altitudine del pascolo possono comunque avere influenzato la composizione dello stesso (Riganelli et al., 2002).

Il consumo di sostanza secca medio giornaliero (tabella 3), stimato a partire dal tenore di NDF, ha toccato valori che sono in linea di massima corrispondenti a quanto riportato dal Jarrige et al. (1995) per i ruminanti di piccola taglia. Tuttavia, come riportato da Avondo e Bondonaro (2001), l'ingestione volontaria effettiva dell'animale, oltre ad essere influenzata dal tenore di NDF, è anche determinata dall'apporto proteico e dalla sensibilità del gusto a determinati composti presenti nel foraggio stesso. In particolare, gli Autori riportano che valori di proteina grezza inferiori al 16% sulla sostanza secca, quasi costantemente osservati per i prati-pascolo oggetto di indagine nel corso dei prelievi effettuati, possano ridurre il livello di ingestione.

La presenza inoltre di zuccheri solubili anche in quote rilevanti nelle graminacee o di sostanze volatili in composite e crucifere può spingere gli animali a preferire essenze anche più lignificate rispetto ad altre a maggiore valore nutritivo.

Il contributo produttivo delle diverse famiglie botaniche, calcolato con il metodo "Corral" modificato (Acutis e Reyneri, 1992), ha permesso di toccare una produzione complessiva di sostanza secca, nel periodo giugno-settembre pari a 0,564 t/ha per il cotico di Rigoso e a 0,474 t/ha per quello situato sul Monte Caio.

Per entrambi gli areali, la maggiore produzione di biomassa (grafico 3) si

è avuta nel primo mese di utilizzazione, in concomitanza di condizioni ambientali particolarmente favorevoli.

Come conseguenza delle diverso apporto quanti-qualitativo di foraggio, il carico di ovini di razza Cornigliese per ettaro (tabella 3), risultato, nel complesso basso-medio (Molle et al.,2001), è stato, per il prato pascolo del Monte Caio, pari a 3,38 unità nel primo periodo di utilizzazione, si è ridotto a 0,97 unità nel periodo più siccitoso e poi è risalito a 1,33 unità nel mese di settembre. A Rigoso il numero sostenibile di animali, pur riducendosi nel tempo, è risultato complessivamente superiore a quello determinato per il pascolo del Monte Caio del 17%.

Tabella 3 - Produzione di sostanza secca (kg/ha) e carico di bestiame ovino (n. capi/ha) di razza Cornigliese.

	MONTE CAIO	RIGOSO
<u>1° ricaccio:</u>		
- produzione media	290.67	338.77
- n. medio capi	3.38	3.93
<u>2° ricaccio:</u>		
- produzione media	80.89	122.27
- n. medio capi	0.97	1.46
<u>3° ricaccio:</u>		
- produzione media	102.88	102.54
- n. medio capi	1.33	1.26

CONCLUSIONI

Nelle aree montane, il microambiente assume una valenza importante in relazione alle opportunità di reddito locali. Per esse si tratta di individuare gli strumenti migliori per impostare una zootecnia compatibile con gli obiettivi di salvaguardia dell'ambiente e, nel contempo, in grado di garantire un adeguato reddito attraverso le produzioni stesse.

Con la presente indagine si è voluto dare un contributo alla conoscenza dell'effettiva disponibilità foraggera di aree marginali del nostro appennino, auspicandone un loro adeguato sfruttamento zootecnico.

Lo studio di caratterizzazione, effettuato su due prati-pascolo, è stato per certi versi innovativo in quanto ha consentito di acquisire conoscenze non solo sulla vegetazione pabulare e sul potenziale produttivo, in parte già note, ma anche sulla composizione e sul valore nutritivo della biomassa corrispondente al periodo del pascolamento (giugno-settembre) da parte di ovini di razza Cornigliese.

La composizione floristica dei cotici studiati è risultata nel complesso buona e non particolarmente diversificata.

In rapporto al momento stagionale, il diverso contributo delle mono e dicotiledoni alla realizzazione delle due facies fitopastorali, ha influenzato la composizione chimica ed il valore nutritivo del foraggio.

L'entità della produzione vegetativa, pur considerando le variazioni registrate tra i due ambiti territoriali, risultata a favore del prato-pascolo di Rigoso (+ 19%), è stata, in ogni caso, tale da soddisfare i fabbisogni in sostanza secca di un numero limitato di animali.

I risultati ottenuti, pur non consentendo una valutazione generalizzata della situazione in tutto l'arco appenninico, ci portano comunque a concludere che difficilmente senza interventi mirati da parte dell'uomo (concimazione, trasemina, decespugliamento meccanico, ecc.) si possa prospettare un miglioramento dello sfruttamento quanti-qualitativo dei prati-pascoli e, conseguentemente, assicurare la salvaguardia di razze che proprio in queste zone hanno trovato un tempo le condizioni ambientali ideali per il loro sviluppo.

BIBLIOGRAFIA

- 1) ACUTIS M., REYNERI A. (1992) - Proposta di semplificazione operativa del metodo CORRALL per la caratterizzazione produttiva dei pascoli. Riv. di Agr. 26, suppl.3, 360-366.
- 2) ASSONAPA: Norme Tecniche Della Popolazione Ovina Cornigliese, http://www.assonapa.com/norme_ecc/OVINI-RA_Standard_WEB/Standard-Cornigliese.htm
- 3) AVONDO M. BONDONARO S. (2001) – L'ingestione alimentare. In "L'alimentazione degli ovini da latte" Pulina G. Avenue media, Bologna, 89-110.
- 4) CAVALLERO A., TALAMUCCI P., GRIGNANI C., REYNERI A. (1992) - Caratterizzazione della dinamica produttiva di pascoli naturali italiani. Riv. di Agron., 26, Suppl.3, 325-343.
- 5) CORRALL A.J., FENLON J.S. (1978) - A comparative method for describing the seasonal distribution of production from grasses. J.Agric. Camb., 91,61-67
- 6) I.N.R.A. (1988) - Alimentation des bovins, ovins et caprins, INRA, Paris.
- 7) JARRIGE R., DULPHY J.P., FAVERDIN P., BAUMONT R., DEMARQUILLY C. (1995) - Activités d'ingestion et de rumination. In "Nutrition des ruminants domestiques" Jarrige R. Ruckebusch Y., Demarquilly C., Farce M.H., Journet M. INRA Editions, Paris, 123-181.
- 8) MARTILLOTTI F., ANTONGIOVANNI M., RIZZI L., SANTI E., BITTANTE G. (1987) - Quaderni metodologici n.8, CNR-IPRA, Roma.
- 9) MOLLE G., DECANDIA M., LIGIOS S., FOIS N., SITZIA M. (2001) - Il pascolamento e il carico animale. In "L'alimentazione degli ovini da latte". Avenue media, Bologna, 275-304.
- 10) PASTORE E.(2002) - Le razze ovine autoctone del Veneto. Ed. Veneto Agricoltura, settore Ricerca e Sperimentazione Agraria ed Ittica.
- 11) RAIMONDO R. (1991) – La qualità pabulare delle specie prative della flora siciliana. Quad. Bot. Ambientale Appl., 2.
- 12) RIGANELLI N., MARTINO G., FORMIGONI A., CRISTOFANELLI S.,

- GROTTA L. (2002) - Dati preliminari sulla composizione chimica dei pascoli montani nel parco nazionale del Gran Sasso e monti della Laga. *Atti Soc. It. Sci. Vet.*, 56,439-440.
- 13) VERONA P.L. (1984) - Piante tossiche o dannose agli animali. *Edagricole*, Bologna, pp.126.
- 14) ZILLOTTO U., SCOTTON M., STRINGI L. (1992) - Caratterizzazione floristica di pascoli italiani . *Riv. di Agron.*, 26, Suppl.3, 295-324.

GENETIC VARIABILITY AND POPULATION STRUCTURE IN THE ITALIAN HAFLINGER HORSE FROM PEDIGREE ANALYSIS¹

Sabbioni Alberto², Beretti Valentino, Trezzi Maria Francesca, Superchi Paola

Key words:

horse, Italian Haflinger, pedigree analysis, inbreeding, blood lines

Parole chiave:

cavallo, Haflinger Italiano, analisi del pedigree, consanguineità, linee di sangue

Summary

By means of the use of pedigree analysis, the population structure was analyzed and the inbreeding coefficients were calculated for the Italian Haflinger horse breed. A total of 44,670 animals born between 1900 and 2004 were included, of which 9787 (8665 females) were alive. Base population (with one or both unknown parents) size was 2925 (2486.5 if considering 1 unknown parent as half founder). All blood lines within the breed (A, B, M, N, S, ST, W) were represented with different proportions, from 29.97% (line N) to 5.92% (line B). A maximum of 19 generations were traced (mean value 12.63), as complete generations were, on average, 3.36; the mean age of parents at the birth of offspring was 9.71 years. The expected effective population size was 3974, but taking account of the variance of progeny numbers of parents, the value dropped to 661; the true effective population size was 3846. The number of ancestors that explained the variability of the reference population (both parents known, 41,745 animals) was 1984 (44 effective ancestors), but only 15 of them explained up to 50% of genetic variability and 41 up to 70%. Lines within the breed failed to clearly cluster animals; the among line number of ancestors explaining 50% of the variability of the current population ranged between 7 and 13, as in the whole alive population it was 13 and in the reference population with both parents known it was 15. Mean inbreeding coefficient (\pm SE) was equal to 2.16% (\pm 0.05); the lowest F value was shown in A blood line (1.74% \pm 0.14) and the highest in S blood line (3.05% \pm 0.17) ($P < 0.05$). Sex and dead/alive status did not significantly influence ($P > 0.05$) the F coefficient. In conclusion blood lines, that are transmitted as a paternal attribute, do not appear as an important factor for the assessment of variability in the Italian Haflinger breed.

1 Research funded by MIUR (Ministry of Instruction, University and Research) and University of Parma (local fund for research).

2 Corresponding author: Prof. Alberto Sabbioni. Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti. Facoltà di Medicina Veterinaria. Via del Taglio 8, 43100 Parma, Italy. Email: alberto.sabbioni@unipr.it

Riassunto

Studio della variabilità genetica e della struttura della popolazione nel cavallo Haflinger Italiano per mezzo dell'analisi del pedigree.

Attraverso l'analisi del pedigree è stata analizzata la struttura della popolazione nella razza Haflinger Italiano e sono stati calcolati i coefficienti di consanguineità. L'analisi è stata condotta su 44670 soggetti nati fra il 1900 e il 2004, dei quali 9787 (8665 femmine) viventi. La popolazione di base (quella con uno o entrambi i genitori sconosciuti) era di 2925 soggetti (2486,5 considerando un solo genitore sconosciuto come mezzo fondatore). Nel data set erano rappresentate tutte le linee di sangue (A, B, M, N, S, ST, W), presenti in proporzioni diverse, da 29,97% (linea N) a 5,92% (linea B). Sono state tracciate un massimo di 19 generazioni (media: 12,63), mentre le generazioni complete erano, in media, 3,36; l'età media dei genitori alla nascita dei figli è risultata di 9,71 anni. La numerosità effettiva attesa è risultata di 3974 animali, ma tenendo in considerazione la varianza della numerosità dei figli, il valore è sceso a 661; la numerosità effettiva reale è risultata pari a 3846 animali. Il numero di antenati in grado di spiegare la variabilità della popolazione di riferimento (41745 animali con entrambi i genitori noti) è stato pari a 1984 animali (44 antenati effettivi), ma solo 15 di loro hanno spiegato il 50% della variabilità e 41 il 70%. Le linee di sangue entro la razza non sono state in grado di raggruppare in modo efficace gli animali; il numero degli antenati in grado di spiegare il 50% della variabilità della attuale popolazione variava da 7 a 13, mentre nella popolazione vivente era di 13 e in quella di riferimento era di 15. Il coefficiente di consanguineità è risultato pari (media \pm ES) a 2,16% (\pm 0,05); il valore più basso si è riscontrato nella linea A (1,74% \pm 0,14), il più alto nella linea S (3,05% \pm 0,17) ($P < 0,05$). Il sesso e lo stato in vita degli animali non ha influenzato significativamente il coefficiente di consanguineità ($P > 0,05$). In conclusione si ritiene che le linee di sangue, che sono trasmesse come un attributo paterno, non appaiano come un fattore importante nella valutazione della variabilità genetica nella razza Haflinger Italiano.

Introduction

Pedigree analysis, alone or in association with genetic marker information, has been intensely applied in recent years to study the genetic variability and the population structure in many equine breeds (Gandini et al., 1992; Moureaux et al., 1996; Bolla et al., 2001; Zechner et al., 2002; Chiofalo et al., 2003; Pieragostini et al., 2003; Głażewska and Jezierski, 2004; Sabbioni et al., 2005; Valera et al., 2005; Gutierrez et al., 2005; Beretti et al., 2005; Cecchi et al., 2006; Poncet et al., 2006). The studies have taken into account the analysis of the contribution of founders (Lacy, 1989) and have exploited the application of different computer programs (Gandini and De Filippi, 1998; Boichard, 2002; Gutierrez and Goyache, 2005) to analyse genealogical data.

The Italian Haflinger horse, the most numerous horse breed in Italy, was originally selected as a pack horse, while currently production is oriented towards horses with conformation suitable for equine tourism. The breed originated in North-

ern Italy (Province of Bolzano) in the second half of XIX century, from crosses between local mares and Arab stallions. In 1874 the common ancestor of the breed (named Folie) was born, and from him during the first half of the XX century all the blood lines (A, B, M, N, S, ST and W) originated so called from the name of their founders: Anselmo (born in 1926), Bolzano (born in 1915), Massimo (born in 1927), Nibbio (born in 1920), Stelvio (born in 1923), Student (born in 1927) and Willi (born in 1921) (A.N.A.C.R.Ha.I, 2006).

The creation of these seven lines was carried out in origin with the purpose of finding a solution to the problem of inbreeding. Of course over time, as genealogies became increasingly wider, the uniformity within the lines has slowly decreased, and today, the breeders traditionally still identify their horses with the blood lines, that are transmitted as a paternal attribute, as if they were a surname (A.N.A.C.R.Ha. I., 2006).

Differences among blood lines with reference to morphology were first investigated by Orlandi and Colombani (1980) and by Orlandi et al. (1985) in stallions and by Orlandi et al. (1984) and Russo et al. (1993) in mares. In the above cited papers significant differences were shown among lines with reference to morphology (length of head and neck, height at withers). Because the aim of the selection in Italian Haflinger horse during '90s was to improve the height at withers, by means of the application of a specific selection index, some lines could have been preferred to others and consequently the genetic structure of the population could be actually different from that previously reported by Gandini et al. (1992).

The aim of the present study was to update the monitoring of population structure and inbreeding coefficient in Italian Haflinger horse breed; to better orient future selection, the impact of the different blood lines on variability will be taken into account, because blood lines are still now, beside the selection index, a criterion for the choice of stallions.

Materials and Methods

The pedigree information registered in the Italian Haflinger stud book from 1900 to 2004 was analysed. A total of 45,188 animals were registered. Of them, a total of 518 animals were removed because of lack of information about the date of birth. After editing, 44,670 animals remained in the dataset, of which 9787 (8665 females) were alive.

The horses belonged to all the blood lines (A, B, M, N, S, ST, W), as reported in table 1; for 3345 dead animals (2886 females) the blood line was not indicated; they were maintained in the dataset, so as to avoid the loss of their genetic information.

Table 1 – Proportion of males and females in the different blood lines in the complete dataset or in the living population of Italian Haflinger breed.

	Total	Blood line							
		A	B	M	N	S	ST	W	Unknown
Complete population	n 44670	7162	2646	4235	13388	5678	5001	3215	3345
Males	n 12127	2295	665	956	3718	1422	1503	1109	459
	% 27.15	18.93	5.48	7.88	30.67	11.73	12.39	9.14	3.78
Females	n 32543	4867	1981	3279	9670	4256	3498	2106	2886
	% 72.85	14.96	6.09	10.08	29.70	13.08	10.75	6.47	8.87
Living population	n 9787	2725	461	493	2743	1593	1037	735	-
Males	n 1122	511	41	42	262	84	57	125	-
	% 11.46	45.55	3.65	3.74	23.35	7.49	5.08	11.14	-
Females	n 8665	2214	420	451	2481	1509	980	610	-
	% 88.54	25.55	4.85	5.20	28.64	17.41	11.31	7.04	-

By means of the program ENDOG 3.0 (Gutierrez and Goyache, 2005), the pedigree completeness and the genetic variability were computed. In particular, the following parameters were calculated:

1. the generation length (L), i.e. the average age of parents at the birth of their offspring (Boichard et al., 1996); it was calculated for the four pathways (father-son/daughter, mother-son/daughter) from the difference between the birth date of registered animals and that of their parents;

2. the effective number of founders (f_e) or founder equivalent (Lacy, 1989), i.e. the number of equally contributing founders to give the same genetic diversity; ancestors with unknown parents were considered as founders (f_i) (generation 0), as f_{te} was the equivalent number of founders, obtained weighing the unknown parent as half a founder;

3. the effective number of hypothetical equally contributing ancestors (f_a), i.e. the minimum number of ancestors explaining the genetic diversity in the population (Boichard et al., 1997). This parameter was calculated for the complete population (n.: 44,670) and for some chosen reference populations, i.e. for the population with both parents known (n.: 41,745), for living population (n.: 9787) and for each line within the living population;

4. the individual inbreeding (F, i.e. the probability that an individual has two identical genes by descent) and average relatedness (AR, i.e. the probability that an allele randomly chosen from the whole population belongs to a given animal) coefficients (Gutierrez and Goyache, 2005);

5. the true effective population size. The F coefficient was regressed on year of birth of horses and the regression coefficient was used to calculate the rate of inbreeding per year. The true effective size was $1/(2\Delta F)$; successively, the expected effective population size (N_e) was calculated according to Wright (1931):

$$N_e = 4 * M * F / (M + F)$$

where M and F are living males and females and $M < F$; because this formula takes into account only the sex ratio and not the probability of their contribution to the next generation, the parameter was also calculated according to Hill (1979):

$$1/N_e = 1/16M [2 + \sigma_{mm}^2 + (M/F)^2 \sigma_{mf}^2] + 1/16F [2 + \sigma_{ff}^2 + (F/M)^2 \sigma_{fm}^2]$$

where M and F are living males and females and σ^2_{mm} , σ^2_{mf} , σ^2_{ff} , σ^2_{fm} are the variances of progeny numbers (sons and daughters) produced during the life by breeding males and females, respectively. This formula should be applied when the variance of progeny size is higher than its mean, which is a common finding in livestock populations. From N_e value, the increase of inbreeding by generation ($\Delta F=1/2N_e$) and by year ($\Delta F_{year}=\Delta F/L$) were predicted. True and expected population sizes were then compared;

Individual F and AR values were submitted to ANOVA analysis (SAS/STAT, 2002-2003) following a general linear model with sex, blood line, dead/alive status, generation number and all interactions until 3rd degree as fixed factors.

Results and discussion

Base population was 2925 animals; they are also called absolute founders (f_t), i.e. animals with one or both unknown parents. In particular 2048 animals had both parents unknown, as 135 only the stallion and 742 only the mare. Their average year of birth was 1920 (lower value 1900, higher value 2001), but the median was year 1900 and was referred to 1659 animals. Animals with one or both parents unknown from 1990 on 2004 were 124. Weighing the unknown parent as half a founder, the equivalent number of founders (f_{te}) decreased to 2486.5. Then the reference population, i.e. animals with both parents known was 41,745. A maximum of 19 generations were traced (mean value 12.63), as complete generations were, on average, 3.36; the average generation length was 9.71 ± 0.03 years (table 2). Relative to the results of other studies on French race and riding horses (Moureaux et al., 1996) the generation length of the Italian Haflinger horse was high. Contrary to the French race and riding horses studied by Moureaux et al. (1996), the paternal pathway of the Italian Haflinger had a smaller generation interval than the maternal one. The difference in age of use of stallions could be due to the Haflinger being a meat and work breed. Progeny size of stallions was, on average, 22.34 offsprings (7.88 males and 14.46 females), as mares produced, on average, 3.91 foals (1.76 males and 2.15 females). The values are in agreement with those obtained on the Bardigiano horse breed in Italy (Sabbioni et al., 2005).

Table 2 – Progeny size (\pm SE), variance of progeny size (σ^2) and generation length (L) in the Italian Haflinger population. Values for the four pathways (M=male; F=female).

		MM	MF	FM	FF
Progeny size \pm SE	n	7.88 \pm 0.35	14.46 \pm 0.57	1.76 \pm 0.02	2.15 \pm 0.01
Minimum	n	1	1	1	1
Maximum	n	171	301	11	14
σ^2		181.4138	674.8044	1.5973	2.5223
L \pm SE	Years	8.58 \pm 0.07	8.80 \pm 0.07	10.26 \pm 0.09	10.86 \pm 0.10
Average L \pm SE	Years	9.71 \pm 0.03			

The true effective population size was 1250 horses, but taking into account only the difference between F value calculated in the last two years, the value raised to 3846; the increment is related to the strong reduction of inbreeding coefficient during that period; the expected effective population size, as predicted according to Wright (1931), was similar (3974 animals), with a N_e/N ratio equal to 0.406 and an increased inbreeding of 0.0126% by generation and of 0.0011% by year. Sabbioni et al. (2005) have shown in the Bardigiano horse breed an effective population size of 1581 animals, a N_e/N ratio of 0.445 and a ΔF value of 0.032% ($\Delta F_{\text{year}} = 0.007\%$); Chiofalo et al. (2003) report in the Sanfratellano horse breed a N_e value of 556 and a ΔF by generation of 0.09%. Compared to those reported by Gandini et al. (1992) for the Italian Haflinger breed, the results of the present study have shown lower values with reference to ΔF values, probably related to a different pedigree completeness; the larger dataset used in our study (44,670 animals) than in Gandini et al. (1992) (12,061 animals), was related to the higher number of founders. If we take account of the fact that neither males nor females have contributed equally to the current population, the expected N_e , as predicted according to Hill (1979), decreased to 661 animals, and expected inbreeding, by generation and by year, increased to 0.076% and 0.0078%, respectively. The formula of Wright takes account of males contributing more than females, but it does not take account of some males contributing more than other males and the same for females. The formula by Hill under-predicts the true N_e , because it does not take account of the inheritance of selective advantages, i.e. the fact that animals from large families (with high merit) are more likely to produce offspring that will be selected. This correlation of family sizes of generations is not taken account of by Hill's formula.

The number of ancestors that explain the variability of the current population was 1984, but only 15 of them explained up to 50% of genetic variability (table 3) and 41 up to 70%. The values of f_e (effective number of founders of the whole population) and f_a (effective number of ancestors of the reference population with both parents known) were 65 and 44, respectively. The effective number of ancestors of the populations represented by the different blood lines is reported in table 3. It is possible to assess that, apart from line S, that contributes the least diversity to the living population, all other lines have common ancestors, both referring to the reference population and to living population (values near 50% or below). So, as expected, blood lines failed to divide the population into subpopulations clearly defined from a variability point of view.

Table 3 – Population structure in Italian Haflinger breed

		Reference populations								
		(1) Population with both parents known	(2) Living population	Blood lines within living population						
				A	B	M	N	S	ST	W
Population size	n	41745	9787	2725	461	493	2743	1593	1037	735
Ancestors contributing to the population	n	1984	883	663	358	384	685	494	505	477
Effective ancestors in the population	n	44	39	35	24	34	32	19	25	31
- on reference population (1)	%	-	88.6	79.5	54.5	77.3	72.7	43.2	56.8	70.5
- on reference population (2)	%	-	-	89.7	61.5	87.2	82.1	48.7	64.1	79.5
Ancestors explaining 50% of variability	n	15	13	13	8	12	11	7	10	11
- on reference population (1)	%	-	86.7	86.7	53.3	80.0	73.3	46.7	66.7	73.3
- on reference population (2)	%	-	-	100.0	61.5	92.3	84.6	53.8	76.9	84.6

With reference to the relationship among founders (f_t), effective founders (f_e) and effective ancestors (f_a), approximately one founder in 45 ($2925/65.39 = 44.73$) and one ancestor in 65 ($2925/44 = 66.48$), explain the variability of the current population. The results are in agreement with those obtained by Sabbioni et al. (2005) in the Bardigiano horse breed. Least squares means for inbreeding coefficients (F) in the Italian Haflinger breed are reported in table 4.

Table 4 – Inbreeding coefficients (F, %) and average relatedness coefficients (AR, %) as affected by sex, blood line and dead/alive status in Italian Haflinger population (least squares means \pm SE).

	F (%)		AR (%)	
	All	Alive	All	Alive
Overall mean	2.16 \pm 0.05	2.82 \pm 0.12	3.46 \pm 0.02	4.37 \pm 0.04
Sex:				
- males	2.03 \pm 0.08	2.89 \pm 0.09	3.47 \pm 0.03	4.49 \pm 0.07
- females	2.27 \pm 0.07	2.78 \pm 0.14	3.44 \pm 0.03	4.30 \pm 0.05
Blood line				
- A	1.74a \pm 0.14	2.21a \pm 0.17	3.21ab \pm 0.05	4.15b \pm 0.06
- B	2.31b \pm 0.15	2.69ab \pm 0.30	3.78d \pm 0.06	4.36c \pm 0.11
- M	2.05ab \pm 0.15	2.76bc \pm 0.31	3.52c \pm 0.05	4.35c \pm 0.11
- N	2.27b \pm 0.11	2.92c \pm 0.28	3.95e \pm 0.04	4.49c \pm 0.10
- S	3.05c \pm 0.17	4.52d \pm 0.22	4.45f \pm 0.06	5.69d \pm 0.08
- ST	2.27b \pm 0.16	2.29ab \pm 0.32	3.30b \pm 0.06	4.08b \pm 0.12
- W	2.35b \pm 0.15	2.67ab \pm 0.81	3.09a \pm 0.07	3.96a \pm 0.09
Status				
- alive	2.82 \pm 0.12	-	4.37b \pm 0.04	-
- dead	1.88 \pm 0.06	-	3.07a \pm 0.02	-

a,b,c,d,e,f different $P < 0.05$ (within columns)

Overall mean (\pm SE) was 2.16% (\pm 0.05) for the complete dataset and 2.82% (\pm 0.12) for live animals. With reference to inbreeding coefficients, Moureaux et al. (1996) reported that when pedigree studies on horse are considered, two groups of horse breeds may be distinguished: one group of international race breeds, showing values ranging from 0.81% to 2.89%, and one group with values ranging 2.25% to 14.7%, found in drought breeds and in other breeds with small population sizes. Inbreeding coefficients previously reported by Gandini et al. (1992), ranged from 1.21% in years 1925-33 to 6.59% in years 1979-87. The values obtained in the present study are lower; differences could be explained taking into account: i) the different initial dataset, that in our study was larger, and ii) the application in recent years of mating programs, finalised to the control of inbreeding. This is well visible in figure 1, where the development of inbreeding coefficient and average relatedness by year of birth of animals is shown; it is possible to highlight the rise of the F coefficient until first years '90s, as reported by Gandini et al. (1992), followed by a subsequent decrease, due, probably, to a higher attention in avoiding matings between relatives. Also AR, whose values are always higher than F (except for year 1917), rises until early '90s and drops afterwards. Figure 2 reports the mean in F and AR coefficients by complete generation: as expected, inbreeding coefficient and average relatedness increase when pedigree completeness rise; fluctuations in mean F coefficients in last generations are due probably to low size of population.

Figure 1 - Mean inbreeding coefficient (F) and average relatedness (AR) in the Italian Haflinger breed from 1900 to 2004.

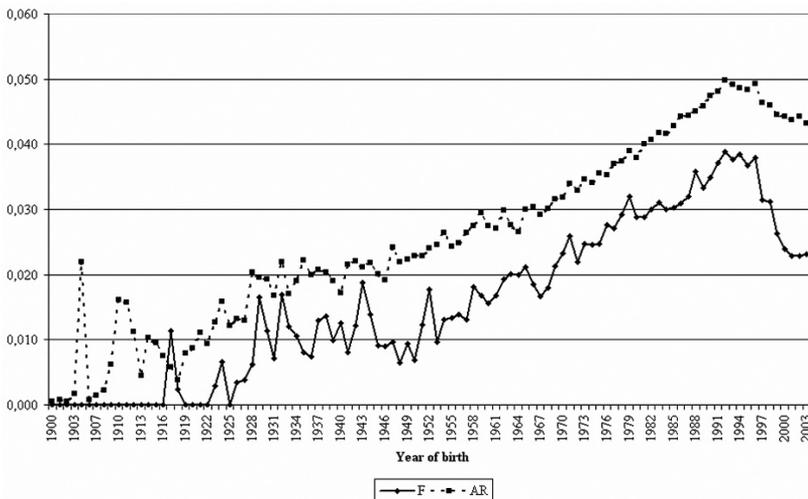
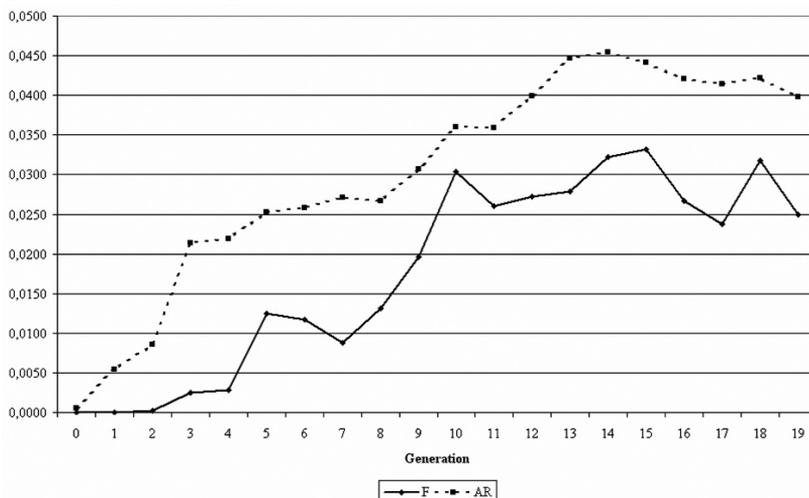


Figure 2 - Mean inbreeding coefficient (F) and average relatedness (AR) in the Italian Haflinger breed by complete generations.



Differences in F coefficients (table 4) between live and dead animals were not significant ($P>0.05$), albeit, as expected, living animals showed higher values than dead animals; the absence of significance is probably due to an abnormal distribution of values in the two classes. In fact, in the class of dead animals, all the founders were comprised, with F equal to 0; so the distribution of values was asymmetric with right tail, and strongly platycurtic. Also the difference between F coefficients in males and females was not significant ($P>0.05$), as differences among lines were significant ($P<0.05$), both in complete dataset and in living animals. In particular, the lowest F value in the complete dataset was shown in A blood line ($1.74\% \pm 0.14$) and the highest in S blood line ($3.05\% \pm 0.17$); similarly, in living animals F coefficients were lowest in A blood line ($2.21\% \pm 0.17$) and highest in S blood line ($4.52\% \pm 0.22$).

Similar results were observed for average relatedness (AR) coefficient (table 4). The parameter showed a lower variability than F coefficient, and differences between living and dead animals were significant ($P<0.05$). Differences between lines approach those observed for F coefficient, but the lowest value was observed in W line, and the highest in S line ($P<0.05$), both in complete dataset and in living animals.

The observed differences did not seem to be linked to the different number of animals in the blood lines, nor to the frequency of their use. In fact, matings resulted (table 5) above all within each blood line, because the percentage of animals born by stallions of another blood line ranged from 1.13% (B and S blood lines) to 6.49% (W blood line); moreover, the percentage of stallions used outside their blood line ranged from 0.23% (line A) to 2.17% (B line). The above seen reduction of average relatedness in last years was probably obtained by means of an improved attention to avoid matings between relatives rather than by means of the application of matings between lines. The significant differences of inbreeding coefficients among blood

lines could then be explained with the different number of parents with calculated genetic merit in the different blood lines, and with the subsequent success of a blood line to the detriment of another.

Table 5 – Origin of stallions and their use in Italian Haflinger population.

Blood line	Percentage of animals born by stallions of other blood lines	Percentage of males born within a blood line and used as stallions in other blood lines
A	1.72	0.23
B	1.13	2.17
M	3.45	1.42
N	1.84	0.65
S	1.13	0.57
ST	2.64	0.84
W	6.49	0.76

Practically, lines with superior animals have tended to increase in importance, while the inferior lines have decreased. The lesser use of stallions of the S blood line and the consequent high inbreeding coefficient within the line are probably also related to the morphology of horses, characterized by a smaller size (Orlandi et al., 1985), that does not meet the current selection objectives. In particular, from the analysis of the catalogue of indexed parents (A.N.A.C.R.Ha.I, 2006), it is possible to highlight that 39% of stallions and 35% of mares born after 1996 belong to A line, as S line produces only 6% of stallions and 16% of young mares. Living females born after 1996 in S line are 20% of total females in the breed; this blood line has shown a strong drop in its use in last 10 years. If we examine the catalogue of stallions approved for AI with frozen semen and to embryo production during 2004 (A.N.A.C.R.Ha.I, 2006), it is possible to note a high incidence of animals from A blood line (33 of 50) and the absence of stallions from S blood line.

Conclusions

The results highlight the importance of monitoring the population structure of the Italian Haflinger breed, to avoid the risk of a dangerous reduction of genetic diversity. As a general conclusion, the presence of blood lines, that are transmitted as a paternal attribute, does not appear as an important factor for the assessment of variability in the whole population. Within some blood lines, that are less successful, with reference to current selection objectives we have shown the highest values of inbreeding coefficient, due to the reduction of the number of stallions; nevertheless they are likewise useful, because they contain a lower incidence of common ancestors: it follows that it is important to maintain all the lines in the breeding population. To the aim of the maintenance of the genetic diversity in the breed, beside to run a selection program restricting the rate of inbreeding, a slight increase of the number of stallions used as fathers outside their blood line, could be of interest in Italian Haflinger horse.

Acknowledgements:

Paper must be attributed equally to Authors. Thanks to ANACRHaI (Italian Haflinger

Breeders Association) for data supply.

References

- 1) A.N.A.C.R.Ha.I. (2006) Home page address: <http://www.haflinger.it/>
- 2) Beretti, V., Zanon, A., Soffiantini, C.S., Sabbioni, A. (2005) Preliminary results about morphological and demographic traits of Romagnolo donkey. *Ann. Fac. Med. Vet. di Parma*, 25:131-144.
- 3) Boichard, D., Maignel, L., Verrier, E. (1996) Analyse généalogique des races bovines laitières françaises. *INRA Prod. Anim.* 9:323-335.
- 4) Boichard, D., Maignel, L., Verrier, E. (1997) The value of using probabilities of gene origin to measure genetic variability in a population. *Genet. Sel. Evol.* 29:5-23.
- 5) Boichard, D. (2002) PEDIG: a Fortran package for pedigree analysis suited for large populations. In: *Proceedings of the 7th World Congress on Genet. Appl. Livest. Prod.*, Montpellier (France) 19-23 August 2002, Comm. No. 20-13.
- 6) Bolla, A., Marchioni, S., Gandini, G., Pieramati, C. (2001) Indagini genetiche sul Cavallino d'Esperia. In: *Proceedings of the 55th Congress of the Italian Society for Veterinary Sciences*. Rimini (Italy), 20-22 September 2001, pp. 385-386.
- 7) Cecchi, F., Ciampolini, R., Ciani, E., Matteoli, B., Mozzanti, E., Tancredi, M., Presciuttini, S. (2006) Demographic genetics of the endangered Amiata donkey breed. *Ital. J. Anim. Sci.* 5:387-391.
- 8) Chiofalo, L., Portolano, B., Liotta, L., Rundo Sotera, A., Finocchiaro, R. (2003) Demographic characterization, inbreeding and genetic variability within Sanfratellano population horse from genealogical data. *Ital. J. Anim. Sci.* 2 (suppl. 1):592-594.
- 9) Gandini, G., Bagnato, A., Miglior, F., Pagnacco, G. (1992). Inbreeding in the Italian Haflinger horse. *J. Anim. Breed Genet.* 109:433-443.
- 10) Gandini, G., De Filippi, P. (1998) Minbreed. Software package for the genetic management of small breeds. In: *Proceedings of the VI World Congr. Genetics Appl. Livest. Prod.*, Armidale, New South Wales (Australia), 11-16 January 1998, vol. 27, pp. 451-452.
- 11) Hill W.G. (1979) A note on the effective population size with overlapping generations. *Genetics*, 92:317-322.
- 12) Głażewska, I., Jezierski, T. (2004) Pedigree analysis of Polish Arabian horses based on founder contributions. *Liv. Prod. Sci.* 90:293-298.
- 13) Gutierrez, J.P., Goyache, F. (2005) A note on ENDOG: a computer program for analysing pedigree information. *J. Anim. Breed. Genet.* 122:172-176.
- 14) Gutierrez, J.P., Marmi, J., Goyache, F., Jordana, J. (2005) Pedigree information reveals moderate to high levels of inbreeding and a weak population structure in the endangered Catalanian donkey breed. *J. Anim. Breed. Genet.* 122:378-386.
- 15) Lacy, R.C. (1989) Analysis of founder representation in pedigrees: founder equivalents and founder genome equivalents. *Zoo Biology* 8:111-123.
- 16) Moureaux, S., Verrier, É., Ricard, A., Mériaux, J.C. (1996) Genetic variability within French race and riding horse breeds from genealogical data and blood

- marker polymorphisms. *Genet. Sel. Evol.* 28:83-102.
- 17) Orlandi, M., Colombani, B. (1980) Il Cavallo Avelignese: caratteristiche morfologiche degli stalloni iscritti al libro genealogico in rapporto alle diverse linee di sangue. *Ann. Fac. Med. Vet. di Pisa* 33:193-200.
 - 18) Orlandi, M., Colombani, B., Goio, L. (1984) Il Cavallo Avelignese: indagine sull'efficienza riproduttiva e sulle caratteristiche morfologiche di fattrici allevate in Toscana, appartenenti a differenti linee di sangue. *Ann. Fac. Med. Vet. di Pisa* 37:261-278.
 - 19) Orlandi, M., Pastorelli, S., Goio, L., Colombani, B., Taccini, F. (1985) Il Cavallo Avelignese: indagine sulla distribuzione delle linee di sangue negli stalloni iscritti al libro genealogico. *Ann. Fac. Med. Vet. di Pisa* 38:97-108.
 - 20) Pieragostini, E., Bramante, G., Perrotta, G., Rosati, A., Benvenuto, R., Caroli, A. (2003) The genetic structure of Murghese horse. In: *Proceedings of the 54th Annual Meeting of the European Association for Animal Production*. Roma (Italy), 31 August – 3 September 2003, pp. 423.
 - 21) Poncet, P.A., Pfister, W., Muntwyler, J., Glowatzki-Mullis, M.L., Gaillard, C. (2006) Analysis of pedigree and conformation data to explain genetic variability of the horse breed Franches Montagnes. *J. Anim. Breed. Genet.* 123: 114-121.
 - 22) Russo, C., Leotta, R., Pastorelli, S., Orlandi, M. (1993) Ereditabilità e correlazioni genetiche di alcuni caratteri morfologici in cavalle Avelignesi allevate in provincia di Bolzano. In: *Proceedings of the 47th Congress of the Italian Society for Veterinary Sciences*. Riccione (Italy), 29 September – 2 October 1993, pp. 1845-1849.
 - 23) Sabbioni, A., Beretti, V., Zanon, A., Pagani, G.P., Superchi, P., Bonomi, A., Filippini, S., Catalano, A.L., 2005. Caratterizzazione demografica e variabilità genetica nel cavallo Bardigiano attraverso l'analisi dei dati genealogici. In: *Proceedings of the 59th Congress of the Italian Society for Veterinary Sciences*. Viareggio (Italy), 21-24 September 2005, pp. 451-452.
 - 24) SAS/STAT (2002-2003) User's Guide, ver. 9.1.3. SAS Institute Inc., Cary, NC.
 - 25) Valera, M., Molina, A., Gutierrez, J.P., Gomez, J., Goyache F. (2005) Pedigree analysis in the Andalusian horse: population structure, genetic variability and influence of the Carthusian strain. *Liv. Prod. Sci.* 95:57-66.
 - 26) Wright, S. (1931) Evolution in Mendelian population. *Genetics* 16:97-159.
 - 27) Zechner, P., Sölkner, J., Bodo, I., Druml, T., Baumung, R., Achmann, R., Marti, E., Habe, F., Brem, G. (2002) Analysis of diversity and population structure in the Lipizzan horse breed based on pedigree information. *Liv. Prod. Sci.* 77:137-146.

GMO UTILIZATION IN ANIMAL NUTRITION L'IMPIEGO DEGLI OGM IN NUTRIZIONE ANIMALE

Quarantelli A.¹, Veroli E.¹, Romanelli S.¹, Renzi M.¹, Righi F.¹

SUMMARY

In the last decade Genetically Modified Organisms (GMO) have been developed by genetic engineering for animal nutrition. Nowadays part of European and Italian farm animals are currently fed transgenic crops. These new feeds are tested in vivo for their nutritional equivalence with isogenic plants counterparts, and for safety of products deriving from animals fed GMO.

The aim of this review is to summarize and interpret the results of trials conducted on animals fed GMO.

Substantial equivalence between GMO of the first generation and traditional plants has been clearly demonstrated. Moreover quantitative and qualitative animal performances, such as animal health, are similar with both feeds, therefore it is possible to confirm their nutritional equivalence.

In meat, milk and egg samples, recombinant DNA and new proteins, contained in GM feeds, were not detected and any effect on humans has been observed feed GM after the consumption of food coming from animals.

Trials with transgenic crops of second generation confirmed the purposes of their creation, although sometimes unintended effects appeared.

In conclusion, it can be suggested the importance of a continuous monitoring of the use of GMO in animal nutrition, topic where research is still very important and necessary.

Key words:

GMO, transgenic feeds, nutritional assessment, recombinant DNA

Abbreviation key: HT = Herbicide Tolerant; IR = Resistance to Insect; DMI = Dry Matter Intake; BWG = Body Weight Gain; ADG = Average Daily Gain; FCR = Feed Conversion Ratio

RIASSUNTO

Nell'ultimo decennio l'ingegneria genetica ha permesso lo sviluppo di Organismi Geneticamente Modificati (OGM) destinati all'alimentazione animale. Oggigiorno parte del patrimonio zootecnico europeo ed italiano è alimentata con materie prime geneticamente modificate. Questi nuovi alimenti sono testati in vivo al fine di valutarne l'equivalenza nutrizionale e di verificare la salubrità dei prodotti derivanti da animali alimentati con OGM, in comparazione con le controparti isogeniche.

¹ Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti
Sezione di Scienza degli Alimenti e della Nutrizione
Indirizzo per corrispondenza: afro.quarantelli@unipr.it; telefono: 0521/032620

Scopo del presente articolo è sintetizzare ed interpretare i risultati delle sperimentazioni finora condotte su animali allevati con diete contenenti alimenti transgenici.

È stata ampiamente dimostrata la sostanziale equivalenza tra alimenti GM di prima generazione e varietà tradizionali. Le performances quantitative e qualitative degli animali, così come lo stato di salute, sono simili nelle due diete; è quindi possibile confermare anche l'equivalenza nutrizionale.

Il DNA ricombinante e le proteine di nuova introduzione, presenti negli alimenti GM, non sono stati rilevati nei campioni di carne, latte e uova esaminati; non pare inoltre che ci siano rischi inerenti il consumo di derrate alimentari derivanti da animali alimentati con OGM.

Le sperimentazioni con OGM di seconda generazione hanno confermato gli obiettivi della loro produzione, sebbene in alcuni casi siano emersi effetti indesiderati che richiedono ulteriori indagini.

In conclusione, da questi studi emerge la necessità di un monitoraggio continuo dell'impiego di OGM in alimentazione animale, campo nel quale la ricerca presenta ancora notevoli margini di miglioramento.

Parole chiave:

OGM, alimenti transgenici, valutazione nutrizionale, DNA ricombinante

Abbreviazioni chiave: HT = tollerante agli erbicidi; IR = resistente agli insetti; DMI = Ingestione di sostanza secca; BWG = Incremento di Peso Corporeo; ADG = Incremento Medio Giornaliero; FCR = Indice di Conversione dell'alimento

1. INTRODUCTION

The techniques of molecular biology allow the transfer of genes from one organism to another without sexual reproduction and across species (1). Thus various genetically modified crops have been developed to use in both monogastric and ruminant diet as energy and/or protein sources. They are included in the form of fresh or ensiled whole crop forage, as a specific crop component, or as coproducts (2).

At present two main classes of GMO (Genetically Modified Organisms) have been created (3). The most widely grown GM crops contain new genes that confer herbicide tolerance or stress factors resistance; they are termed "GMO of the first generation". Other GM crops, named "GMO of the second generation", have been developed to improve nutritional characteristics for their use in human and animal nutrition. They show an increased content of valuable components, an improved availability of nutrients or a lower concentration of undesirable substances (1,4).

In 2006 the global area of biotech reached 102 millions hectares with soybean (57%), maize, cotton and rapeseed as predominant crops. USA, followed by Argentina, Brazil, Canada, India and China, were the main users of biotech crop globally, with 53% of global area biotech (5).

European, such as Italian, zootechnical industry is highly dependent especially for the supply of proteins for feed use on these countries: our self-sufficiency in protein feedstuffs is only about 23%. EU import of soybean comes nearly to 100%

from USA, Brazil, and Argentina. Since in 2006 these three countries mainly grown GM soybean varieties, non-GM soybean products became increasingly difficult to find. Today 90% of the compound feed produced in the EU contain GM soybean (6, 7).

Therefore, in EU, farm animals are currently fed soybean, as well as maize, developed from genetic transformation (8). Nutritional and safety assessment of feed from GMP (Genetically Modified Plants) are one of the key questions coming to nutritionist (4). In particular, safety assessment of animal feeds must take into account any risk to the animals consuming the feed and any indirect risk to the consumer of animal products (meat, milk and eggs) (9).

An approach for the safety assessment of GM food and feed is based on the concept of “substantial equivalence”. The concept of substantial equivalence is the starting point and guiding concept for the safety assessment. It is not the conclusion, but it is part of the safety assessment (1,10). The application of this concept requires the comparison of the GM crops with an appropriate control or “safe” comparator (traditional crops and parental varieties crops). The objective is to identify similarities and potential differences between the existing feed/food and the new GM products (11). In most countries authorities and agencies involved in feed/food safety assessment have based their safety assessment strategies and guidelines on this approach. In the European Community the use of GM feeds is disciplined by the Regulation 1829/2003 on genetically modified food and feed, Regulation 1830/2003 and Directive 2001/18/EC. Also EFSA (European Food Safety Authority – the European food safety ‘checkpoint’) plays an important role in the release of the authorization for the GMO emission in the market. In particular, EFSA provides scientific advices to European Union Institutions and Member States on the safety and risks for human and animal health and for the environment (12).

The different steps of the risk assessment approach are discussed by König (1). New cultivars produced by genetic engineering are extensively tested and screened prior to commercial release (13), and a case-by-case approach is applied (2).

In animal nutrition, many studies with GM plants were carried out in target species using substantial equivalence method. The application of this method to animal studies led to the development of the concept of nutritional equivalence which implies specific measurements regarding animal production. The aim of this review is to summarize and interpret the results of trials conducted on animals fed GMO.

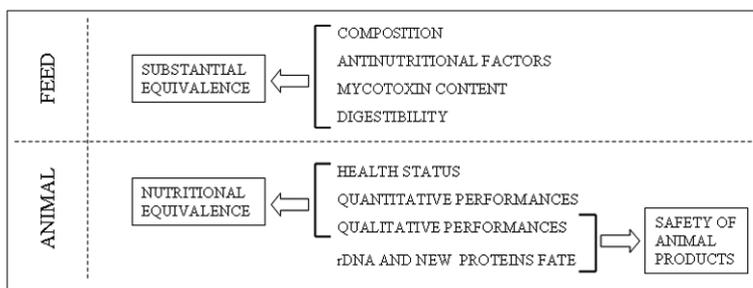
2. SUBSTANTIAL AND NUTRITIONAL EQUIVALENCE: PARAMETERS MEASURED

Accordingly to the substantial equivalence theory, feed chemical analyses were performed to determine whether the macronutrients, vitamins, minerals and even trace elements were found at the same level as in the conventional or isogenic plants. Studies also include anti-nutritional factors (ANFs) or natural toxicants typically present in various vegetal genus (9). Moreover this concept can be extended to include performances and health status of farm animals (14). If production perform-

ances and health status are similar in animals fed isogenic and transgenic diets, these diets can be considered “nutritionally equivalent”.

In addition GMO bring many concerns and risk related to GMO impact on human’s health. Allergy and toxicity appear to be associated with GMO (3). Much discussed is the potential risk of GMO related to environment such as extension of antibiotic resistance genes and horizontal gene transfer (3,15). All regulations concerned with GMOs require the safety of foreign DNA and expressed proteins to be demonstrated (9). Therefore the purpose of many animal studies is to investigate the destiny of ingested foreign DNA and proteins in farm animals and in animal products (figure 1).

Figure 1: Parameters measured in animal nutrition studies for assessment of substantial equivalence, nutritional equivalence and safety of animal products



3. STUDIES REGARDING GM FEEDS ASSESSMENT IN ANIMAL PRODUCTION

Apart from feed safety assessment for consumers and environment, nutritional assessment of GMO feeds is necessary (16). Therefore composition of GMO feeds such as their mycotoxin-content, performances of animals fed GMO and destiny of transgenic DNA and protein into the food chain have been investigated in comparison with their isogenic or conventional counterparts.

3.1. NEW FEEDS COMPOSITION, ANTINUTRITIONAL FACTORS CONTENT AND DIGESTIBILITY

First generation crops have been analyzed in detail for their macronutrients content. Sometimes individual amino acids, fatty acids, trace elements and vitamins have also been quantified. Since variations in feed composition can be associated with year, climatic and soil conditions and fertilization it advisable to compare the values obtained in each trial also with data published in the scientific literature (8).

In table 1 are reported some evaluations regarding the composition of GM crops of first generation.

Table 1: Comparison between GMO and isogenic feeds chemical compositions.

GMO	Measured parameters	Results	Authors
HT soybean	Moisture, protein, fat, fiber, carbohydrates, ash, amino acids content, fatty acids content,, antinutritional factors	Composition equivalence	(17)
HT soybean	Moisture, protein, oil, fiber, carbohydrates, ash, amino acids content, isoflavon content	Substantial equivalence	(18)
HT maize (grain)	Moisture, NDF, ADF, protein, total fat, carbohydrates, ash, calcium, phosphorus, amino acid composition, fatty acid composition	No statistically significant differences observed	(19)
HT maize (forage)	Moisture, NDF, ADF, protein, total fat, carbohydrates, ash, calcium, phosphorus	No statistically significant differences observed	
IR maize (silage)	NDF, ADL, protein, starch, fiber, soluble carbohydrates, ash	No statistically significant differences observed	(20)
IR maize (grain)	Protein, ash, Ether Extracts, starch, NSP, minerals, fatty acids content	Variability within the normally expected range	(21)
IR maize (silage)	Digestibility, metabolisable energy content	No significant differences detected	
IR maize	Digestible energy coefficients	No significant differences detected	(22)
HT maize			
IR maize	Dry matter, protein, Ether Extracts, fiber, starch, amino acids content, fatty acids content, minerals, digestibility	No significant differences detected	(23)
HT soybean	Dry matter, protein, fat, fiber, NDF, ADF, minerals, amino acids content	Composition equivalence	(24)
IR maize	Moisture, fat, protein, fiber, ash, amino acids content	Variability within the normally expected range	(25)
IR maize (grain)	Moisture, fat, protein, NDF, ADF, carbohydrates, ash, amino acids content, fatty acids content, vitamins, phytic acid	Composition equivalence	(26)
IR maize (silage)	Moisture, protein, fat, NDF, ADF, ash		
HT rice	Dry matter, protein, NDF, ADF, fat, ash, minerals, amino acids content	Composition equivalence	(27)
IR and HT maize	Moisture, fat, protein, fiber, carbohydrates, amino acids content	No differences detected	(28)
IR maize	Dry matter, protein, Ether Extracts, fiber, ash	No differences detected	(29)
IR maize	Dry matter, protein, Ether Extracts, NDF, ADF, fat, ash, amino acids content	Variability within the normally accepted range	(30)
HT soybean	Moisture, protein, fat, NDF, ADF, carbohydrates, ash, amino acids content, fatty acids content, antinutritional factors	Composition equivalence	(31)
IR maize (grain)	Moisture, protein, fat, NDF, ADF, carbohydrates, ash, amino acids content, fatty acids content, vitamins, phytic acid	Composition equivalence	(32)
IR maize (silage)	Moisture, protein, fat, NDF, ADF, minerals		
IR and HT maize	Dry matter, protein, fat, carbohydrates, fiber, amino acids content	No differences detected	(33)

Composition equivalence between GM and traditional plants is clearly demonstrated (2). Significant changes in feed composition could not be expected since first generation GMO have not been selected to modify their chemical composition (only small changes in their genetic structure were induced) (8,34).

No significant differences in feed digestibility, as well as in energy content, have been demonstrated. Besides, GM and traditional plants are equivalent in their anti-nutritional factors content (9,17).

3.2. MYCOTOXIN-CONTENT OF PEST PROTECTED MAIZE

Pest-protected maize has been used to study the relationship between resistance to insects, fungal infections and mycotoxin production. Compared to traditional plants, deoxynivalenol, zearalenone, trichotecenes and particularly fumonisin contents in modified maize were reduced (table 2), probably because those plants protected from pests are less likely to be invaded by *Fusarium* spp (4,35). As reported by Williams (36), some trials also revealed a reduction in aflatoxin content. However, the relationship between resistance to insects and aflatoxin production is not clear. Infact *Aspergillus* in contrast to *Fusarium* can colonize plant tissues and produce aflatoxin even without any insect damage (37).

Table 2: Mycotoxin content in insect-resistant maize and isogenic counterparts

Authors	Tested mycotoxin	Results
(16)	Deoxynivalenol, zearalenone	Lower content in transgenic maize
(38)	Fumonisin B1, deoxynivalenol	Transgenic maize presents lower levels of fumonisin B1 (-69%) and deoxynivalenol (-14,4%) than isogenic control
(23)	Deoxynivalenol, zearalenone	Transgenic maize shows lower levels of zearalenone and deoxynivalenol than isogenic control
(35)	Fumonisin B1, zearalenone, trichotecenes	In transgenic maize, moderate lower concentration of trichotecenes and zearalenone and sensible lower levels of fumonisin B1 are detected
(39)	Fumonisin	Fumonisin levels are frequently lower in transgenic maize
(29)	Deoxynivalenol, zearalenone	No differences demonstrated
(36)	Aflatoxins	Aflatoxin accumulation is significantly higher in conventional than transgenic maize
(30)	Fumonisin B1, deoxynivalenol	There are not clear differences in deoxynivalenol content, whereas fumonisin B1 content in transgenic maize is lower than isogenic plants

3.3. ANIMAL PERFORMANCES

Once composition equivalence of GM plants has been demonstrated, then studies have been focused on livestock nutrition, in order to confirm nutritional equivalence and to obtain further informations about safety of animal products. The International Life Sciences Institute (ILSI) provided line guides for the conduction of animal studies in order to evaluate first generation GM crops (2).

Table 3: Recommendations from the “Best practices for the conduction of animal studies to evaluate crops genetically modified of the first generation” by ILSI and cited by EFSA (2) (modified)

Animal (species/categories)	Number of animals	Duration of experiments	Composition of diet (*)	Measurements
Poultry for meat production	10 to 12 pens per treatment with 9 to 12 birds per pen	5 weeks or more	Balanced diets	Feed intake, weight gain, feed conversion
Poultry for egg production	12 to 15 replicates per treatment with 3 to 9 layers per pen	18 to 40 weeks of age, at least three 28 day phases	Balanced diets	Feed intake, egg production, feed conversion, carcass quality
Pigs	6 to 9 replicates per treatment with 4 or more pigs per replicate	Piglets (7-12 kg), 4-6 weeks	Balanced diets	Feed intake, weight gain, feed conversion, carcass quality
		Growers (15-25 Kg), 6-8 weeks		
Growing and finishing ruminants	6 to 10 replicates per treatment with 6 or more cattles per replicate	90-120 days	Balanced diets	Feed intake, weight gain, feed conversion, carcass data
Lactating cows	12-16 cows per treatment	Latin square: 28 day periods	Balanced diets	Feed intake, milk production and composition, body weight, body conditional score (BCS), cell counts in milk, animal health
	28 cows per treatment	Randomized block		

In accordance with EFSA (2), studies regarding ruminants, pigs and poultry fed GM crops were carried out to establish their quantitative and qualitative performances. Diets were formulated to contain high proportions of GM or traditional varieties. In all experiments, composition of diets were equivalent. Tables 4, 5 and 6 show an overview of these trials.

Table 4: Quantitative and qualitative performances of ruminants fed transgenic or isogenic diets

GMO	Animals		Measured parameters	Results	Authors
	Duration of trial	Nr of animals			
HT soybean	Lactating cows		Animal health, milk yield, milk composition, DMI, nitrogen balance, ruminal volatil fatty acids composition	Parameters measured not affected by diet	(40)
	4 wks	36			
IR and HT cotton	Lactating cows		DMI, milk yield, milk composition	Performances similar between diet	(41)
	4 wks	12			
IR maize (silage)	Sheep		Health, behaviour	No differences detected	(20)
	4 wks	12			
	Dairy cattle		Milk yield, milk fat, milk protein, BWG, DMI	Performances similar between diet	
13 wks	48				
IR maize	Growing and finishing bulls		DMI, BWG, final live weight, carcass yield	Significant differences not detected	(21)
	246 days	40			
HT maize	Steer		BWG, DMI, ADG, FCR, carcass yield, longissimus dorsi area, composition of meat	Performances and carcass features not affected by diet	(42)
	92 days	175			
	94 days	196			
	144 days	200			

IR maize (grain and silage)	Lactating cows		DMI, milk production, milk composition, somatic milk cells	Parameters measured similar in all treatments	(14)
		28			
HT maize (grain and silage)	Lactating cows		DMI, milk production, milk composition, somatic milk cells	Parameters measured similar in all treatments	
		12			
IR maize	Steer		BWG, DMI, ADG, FCR, carcass quality, composition of meat	No differences detected	
	60 days	64			
	112 days	200			
	102 days	196			

Table 5: Quantitative and qualitative performances of pigs fed transgenic or isogenic diet

GMO	Animals		Measured parameters	Results	Authors
	Duration of trial	Nr of animals			
IR maize	Weaned piglets		DMI, FCR, ADG, BWG	DMI and feed conversion ratio not different. ADG and BWG increased with transgenic maize	(38)
	35 days	128			
HT soybean	Growing-finishing pigs		BWG, DMI, FCR, physical and chemical traits of carcass, sensory scores of meat	No statistically significant differences detected	(24)
	From 24 to 111 Kg	100			
IR maize	Growing-finishing pigs		DMI, ADG	No statistically significant differences detected	(44)
	91 days	48			
HT wheat	Growing-finishing pigs		DMI, ADI, FCR, carcass quality	No statistical differences detected	(45)
	From 25 to 110 Kg	240			
IR maize	Growing-finishing pigs		DMI, ADG, FCR, carcass quality	Performances equivalent in all treatments	(46)
	From 30 to 115 Kg	160			
HT rice	Growing-finishing pigs		BWG, DMI, FCR, physical and chemical traits of carcass, sensory scores of meat	Performances equivalent in all treatments	(27)
	From 25 to 106 kg	96			
IR maize	Growing-finishing pigs		DMI, ADG, FCR, carcass quality	No differences detected	(47)
	From 23 to 117 Kg	144			

Table 6: Quantitative and qualitative performances of poultry fed transgenic or isogenic diet

GMO	Animals		Measured parameters	Results	Authors
	Duration of trial	Nr of animals			
HT soybean	Broilers		BWG, ADG, FCR, daily DMI, major and minor pastoralis muscle weight	No statistically significant differences detected	(40)
	42 days	360			
IR maize	Broilers		BWG, FCR, survival, carcass yield	Transgenic diet has not deleterious effects on performances	(48)
	38 days	1280			
HT maize	Broilers		BWG, FCR, fat pad weight, health	No statistically significant differences detected	(19)
	38-40 days	560			
IR soybean	Broilers		BWG, FCR, carcass yield, meat composition	Nutritional equivalence confirmed	(49)
	41 days	120			

IR maize	Broilers		BWG, FCR, survival, carcass yield	No significant differences detected	(25)
	47 days	1600			
IR maize	Broilers		Health conditions, DMI, BWG	No statistically significant differences detected	(50)
	35 days	36			
IR maize	Laying hens		Laying intensity, hatchability	No significant differences detected	(51)
	4 times: 126 days	4 generation			
IR maize	Broilers		BWG, ADG, FCR, daily DMI, nitrogen utilization, behavior, composition of meat	No statistically significant differences detected	(29)
	39 days	292			
	Laying hens		BWG, laying rate, daily DMI, feed efficiency (g feed/g eggs), nitrogen utilization, behavior, composition of eggs	No statistically significant differences detected	
26 wks	36				
IR maize	Laying quails		Laying intensity, hatchability	No significant differences detected	(52)
	10 times: 42 days	10 generation			
IR and HT maize	Broilers		BWG, DMI, FCR, carcass yield, composition of meat	Nutritional equivalence confirmed. Differences within the normal range of biological variations	(28)
	42 days	960			
IR maize	Broilers		DMI, FCR, ADG, BWG	No statistically significant differences detected	(30)
	42 days	432			
IR and HT maize	Broilers		BWG, FCR, total gain, mortality, carcass yield	No significant differences detected	(33)
	42 days	600			

According to these data, nutritional equivalence between GM and traditional diets can be assumed. Evidence from animal tests is usually most indicative of potential toxic effects of a test substance in humans. However, the extrapolation of results from animal tests to humans is uncertain, because of some unpredictable differences such as inter-species differences in metabolism, physiological process and lifestyle (1). Studies of longer duration are deemed necessary to demonstrate long-term effects, but FAO and WHO recognise that these effects are hard to detect (10).

3.4. TRANSGENIC DNA AND NEW PROTEINS DESTINY IN ANIMAL TISSUES AND PRODUCTS

One of the most important questions about the use of GM products in animal nutrition is the possibility that modified DNA could be transferred from plants to animal products or to bacteria, with harmful consequences (53). Other problems regard the ability of transgenic proteins to provoke food intolerance or allergic reaction in susceptible people. Hence, it is necessary to consider the destiny of these molecules within the animal organism (54). Systematic tests have been essayed to detect the presence of rDNA and endogenous DNA in milk, animal tissues and eggs (8).

Plant and transgenic DNA are rapidly degraded by gastric acid, low pH and various enzymes in the digestive tract (34). In ruminants, experimental evidences suggest that more than 80% DNA is completely disrupted after 2hrs (55); however, this degradation is not complete and is not immediate (15).

In animal tissues some fragments of chloroplasts DNA have been found; however, no residues of recombinant DNA were detected in organs or tissue samples, including eggs and milk from animals fed GMP (table 7). Nevertheless, there is no

sufficient data to suppose that rDNA can be absorbed more easily than any DNA sequence of the whole plant (4,9). The reason why chloroplast DNA is more frequently detected in animal products is the number of the genes involved and the sensitivity of the PCR method. In transgenic plants, every cell contains hundreds chloroplast genes, but only one transgenic gene (9). If absorption occurs, it would happen through millennia, and it would not be detrimental to health (15,56). Presumably, absorbed DNA is disrupted by organism normal methods of disposal (34).

Transfer of the plant DNA to bacteria needs several steps, and the expectation seems to be extremely low (10,57).

Bacterial resistance to antibiotic is not a specific problem of genetic engineering. According to 2001/18/EC Directive, use of GMO containing antibiotic-resistant genes will be forbidden starting from 01/01/2009.

Table 7: Transfer of transgenic DNA into animal tissues

GMO	Species	Measured parameters	Samples	Results	Authors
IR maize	Cows	Detection of transgenic and endogenous plant DNA	Lymphocytes, muscle, liver, spleen, kidney	Fragments of endogenous plant DNA in lymphocytes detected. Transgenic DNA not detected	(58)
	Chickens	Detection of transgenic and endogenous plant DNA	Muscle, liver, spleen, kidney, eggs	Endogenous plant DNA amplified in all tissues but not found in eggs. Transgenic DNA not detected	
IR maize	Broilers	Detection of transgenic and endogenous plant DNA	Muscle	Transgenic and endogenous plant DNA not detected	(59)
IR maize	Broilers	Detection of transgenic and endogenous plant DNA	Blood, muscle, liver, spleen, kidney, heart	Endogenous plant DNA detected in blood, muscle, liver, spleen and kidney. Transgenic DNA not detected	(50)
HT soybean, IR maize	Lactating cows	Detection of transgenic and endogenous plant DNA	Blood, milk	Endogenous plant DNA detected in all samples. Transgenic DNA not detected	(56)
IR maize	Pigs	Detection of transgenic and endogenous plant DNA	Blood, liver, spleen, kidney, meat, ovary	Endogenous plant DNA detected in all samples. Transgenic DNA not detected	(60)
IR maize	Pigs	Detection of transgenic and endogenous plant DNA	Blood	Transgenic and endogenous plant DNA not detected	(61)
IR maize	Broilers	Detection of transgenic and endogenous plant DNA	Blood	Endogenous plant DNA detected. Transgenic DNA not detected	(30)
IR maize	Broilers	Detection of transgenic and endogenous plant DNA	Muscle, liver, spleen, blood	Endogenous plant DNA detected in all samples. Transgenic DNA not detected	(29)
	Laying hens	Detection of transgenic and endogenous plant DNA	Eggs, blood	Endogenous plant DNA detected only in blood. Transgenic DNA not detected	

HT maize	Lactating cows	Detection of transgenic and endogenous plant DNA	Milk	Transgenic and endogenous plant DNA not detected	(62)
----------	----------------	--	------	--	------

Research carried out through *in vitro* digestion of transgenic proteins has shown a nearly complete digestion in few hours (53). Wiedemann (55) revealed a decrease of 97,4% of the initial protein content after 48h of ruminal incubation. Furthermore, digestive tract provides a strong barrier to the absorption of intact proteins into the body (59). According to this theory, many studies have shown that new proteins can not be detected in animal products from animals fed GMO (59,62,63).

In addition, guidelines for the assessment of allergenic risk of new proteins have been established by several health organizations. These guidelines include the study of new proteins in order to find allergenes prior to market approval (54).

3.5. GM FEED OF SECOND GENERATION

The introduction of new biosynthetic pathways in nature could result in metabolic perturbations. This could lead to unintended effects not revealed by usual approaches (13). Since the 2nd generation GMO are characterised by modification of plants composition, approach case by case of experiments is necessary. Application of the concept of “substantial equivalence” is not realistic. This is not sufficient to furnish a comprehensive nutritional assessment of GMO of the second generation. Nutritional equivalence must be applied in this case. Livestock feeding studies with appropriate target species may help in detecting unintended effects arising from possible alterations of metabolic pathways of GMO of 2nd generation. As a consequence, the results of animal studies should be taken into account together with the safety assessment data (2,8).

Only few studies regarding GMP of second generation have been published (table 8), so standardized procedures to test their safety are today not available (4).

Table 8: Studies regarding GMO of second generation in comparison with traditional counterparts

Diet	Animals		Parameters and aims	Results	Authors
	Duration of trial	Nr of animals			
Low-phytate maize / normal maize/ added or not added with phosphate	Growing-finishing pigs		Feeds composition, BWG, ADG, DMI, FCR, carcass quality	Feeds composition similar, except for phytic acid content. Performances not affected by diet	(64)
	From 27 to 112 Kg	210			
	Growing-finishing pigs		Feeds composition, ADG, DMI, FCR, carcass quality		
	From 34 to 122 Kg	1092			

Glutamate dehydrogenase maize / traditional maize	Pigs		Feeds composition, BWG, ADG, dry matter digestibility, fecal Nexcretion, N balance	Increased levels of protein and amino acids content revealed. No differences in performances noted	(65)
	30 days	8			
Inulin synthesizing potato silage	Pigs		Detection endogenous and transgenic DNA	Endogenous plant and transgenic DNA not detected in animal tissues	(66)
Glutamate dehydrogenase maize	Weanling pigs		Detection transgenic DNA in liver, muscle, white blood cells, plasma from the hepatic portal vein	Transgenic DNA not detected in any sample	(67)
	2 wks	64			
Low phytate soybean / traditional soybean/ added or not added with phytase	Growing pigs		Feeds composition and absorption of P, ADG, DMI, FCR, phosphorus excretion	Feeds composition similar except for phytic acid content. Performances similar between two diets. Absorption of P greater in animals fed low phytate soybean, in association with decrease of fecal P	(68)
	From 18 to 70 Kg	96			
Increased myristic and palmitic acid rapeseed / parental rapeseed	Growing-finishing pigs		Feeds composition, ADG, DMI, FCR	Composition similar between two feeds, except for fatty acids and glucosinolate content (increased in transgenic rapeseed). Performances decreased in pigs fed transgenic rapeseed [see also (70)]	(69)
	From 32 to 105 Kg	10			
Low phytate barley / isogenic barley/ added or not added with inorganic phosphorus	Piglets		Concentration of available P and phytate in feeds, BWG, ADG, FCR, carcass quality, excretion of P	Available P concentration major and phytate content lower in transgenic varieties. Growth performances and carcass quality greater in animals fed transgenic varieties in association with a lower excretion of P	(71)
	28 days	45			

The aims of the creation of GMO of second generation are confirmed, but sometimes unintended effects have been detected (69). Careful approaches, evaluation “case by case” of the effects and standardization of a correct method are necessary to improve knowledge of this important topic.

4. CONCLUSIONS

New feeds have been intensively tested *in vivo* on monogastric and ruminants. These studies have not found adverse effects derived from the use of GMO of the first generation, in comparison with non-GM varieties. Substantial and nutritional equivalence are confirmed.

Fragments of plant DNA could be detected in some animal tissues. However, transgenic DNA and new proteins have not been detected in milk, meat or eggs derived from livestock fed transgenic crops.

Application of safety assessment approach used for GMO of the first generation to GMO of second generation is not realistic. Furthermore, studies of transgenic crops of second generation confirmed the variation in their composition in comparison with isogenic crops, but unintended effects have been sometimes detected.

In conclusion, it can be suggested that it is necessary a continuous monitoring of GMO in animal nutrition by traditional and innovative techniques of investigation.

REFERENCES

- 1) Konig A., A. Cockburn, R.W.R. Crevel, E. Debruyne, R. Grafstroem, U. Hammerling, I. Kimber, I. Knudsen, H.A. Kuiper, A.A.C.M. Peijnenburg, A.H. Pen-ninks, M. Poulsen, M. Schauzu, J.M. Wal, 2004. Assessment of the safety of foods derived from genetically modified (GM) crops. *Food Chem. Toxicol.* 42, 1047-1088
- 2) EFSA, 2007. Safety and Nutritional Assessment of GM Plant derived Foods/ Feed. The role of animal feeding trials. http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Call_Consultation/gmo_AnimalFeedingTrials_consultation,0.pdf
- 3) Celec P., M. Kukučková, V. Renczsová, S. Natarajan, R. Pálffy, R. Gardlík, J. Hodosy, M. Behuliak, B. Vlková, G. Minárik, T. Szemes, S. Stuchlík, J. Turňa, 2005. Biological and biomedical aspects of genetically modified food. *Biomed. et Pharm.* 59, 531-540
- 4) Flachowsky G., K. Aulrich, H. Böhme, I. Halle, 2007. Studies on feeds from genetically modified plants (GMP): Contributions to nutritional and safety assessment. *Anim. Feed Sci. Technol.* 133, 2-30
- 5) ISAAA (International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications), 2006. Global Status of commercialised Biotech/GM crops: 2006. <http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs.html>
- 6) Mordenti A.L. and A. Mordenti, 2005. Mangimi senza OGM: realtà o chimera? <http://documenti.fondiz.it/64.pdf>
- 7) FEFAC, 2007. Eu policy on low level presence of GM in agricultural commodities, <http://www.fefac.org/file.pdf?FileID=5542>
- 8) Aumaitre A., 2004. Safety assessment and feeding value for pigs, poultry and ruminant animals of pest protected (Bt) plants and herbicide tolerant (glyphosate, glufosinate) plants: interpretation of experimental results observed worldwide on GM plants. *Ital. J. Anim. Sci.* 3, 107-121
- 9) Aumaitre A., K. Aulrich, A. Chesson, G. Flachowsky, G. Piva, 2002. New feed from genetically modified plants: substantial equivalence, nutritional equivalence, digestibility, and safety for animals and the food chain. *Livest. Prod. Sci.* 74, 223-238
- 10) Kuiper H.A. et G.A. Kleter, 2003. The scientific basis for risk assessment and regulation of genetically modified foods. *Trends Food Sci. Technol.* 14, 277-293
- 11) Cockburn A., 2002. Assuring the safety of genetically modified (GM) foods: the importance of an holistic, integrative approach. *J. Biotech.* 98, 79-106
- 12) EFSA, 2006. Guidance document of the GMO Panel for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed, http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/press_room/publications/scientific/1497.Par.0005.File.dat/gmo_guidance%20gm%20plants_en.pdf
- 13) Cellini F., A. Chesson, I. Colquhoun, A. Constable, H.V. Davies, K.H. Engel, A.M.R. Gatehouse, S. Karenlampi, E.J. Kok, J.J. Leguay, S. Lehesranta, H.P.J.M.

- Noteborn, J. Pedersen, M. Smith, 2004. Unintended effects and their detection in genetically modified crops. *Food Chem. Toxicol.* 42, 1089-1125
- 14) Donkin S.S., J.C. Velez, A.K. Totten, E.P. Stanisiewski, G.F. Hartnell, 2003. Effects of Feeding silage and Grain from Glyphosate-Tolerant or Insect-Protected Corn Hybrids on Feed Intake, Ruminal Digestion, and Milk Production in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 86, 1780-1788
 - 15) van den Eede G., H. Aarts, H.-J. Buhk, G. Corthier, H.J. Flint, W. Hammes, B. Jacobsen, T. Midtvedt, J. van der Vossen, A. von Wright, W. Wackernagel, A. Wilcks, 2004. The relevance of gene transfer to the safety of food and feed derived from genetically modified (GM) plants. *Food Chem. Toxicol.* 42, 1127-1156
 - 16) Aulrich K. and G. Flachowsky, 2001. Assessment of novel feeds in animal nutrition. *J. Anim. Sci.* 79(Suppl.1), 115 (Abstr.477)
 - 17) Padgett S.R., N.B. Taylor, D.L. Nida, M.R. Bailey, J. Macdonald, L.R. Holden, R.L. Fuchs, 1996. The Composition of Glyphosate-Tolerant Soybean Seeds Is Equivalent to That of Conventional Soybeans. *J. Nutr.* 126, 702-716
 - 18) Taylor N.B., R.L. Fuchs, J. MacDonald, A.R. Shariff, S.R. Padgett, 1999. Compositional Analysis of Glyphosate-Tolerant Soybeans Treated with Glyphosate. *J. Agric. Food Chem.* 47, 4469-4473
 - 19) Sidhu R.S., B.G. Hammond, R.L. Fuchs, J.N. Mutz, L.R. Holden, B. George, T. Olson, 2000. Glyphosate-Tolerant Corn: The Composition and Feeding Value of Grain from Glyphosate-Tolerant Corn Is Equivalent to That of Conventional Corn (*Zea mays* L.). *J. Agric. Food Chem.* 48, 2305-2312
 - 20) Barrière Y., R. Vérité, P. Brunschwig, F. Surault, J.C. Emile, 2001. Feeding Value of Corn Silage Estimated whit Sheep and Dairy Cows Is Not Altered by Genetic Incorporation of Bt176 Resistance to *Ostrinia nubilalis*. *J. Dairy Sci.* 84, 1863-1871
 - 21) Aulrich K., H. Böhme, R. Daenicke, I. Halle, G. Flachowsky, 2001. Genetically modified feeds in animal nutrition. 1st com.: *Bacillus thuringiensis* (Bt) corn in poultry, pig and ruminant nutrition. *Arch. Anim. Nutr.* 54, 183-195
 - 22) Gaines A.M., G.L. Allee, B.W. Ratliff, 2001. Swine digestible energy evaluation of Bt (MON 810) and Roundup Ready corn compared with commercial varieties. *J. Anim. Sci.* 79 (Suppl.1), 109 (Abstr. 453)
 - 23) Reuter T., K. Aulrich, A. Berk, G. Flachowsky, (a) 2002. Investigations on genetically modified maize (Bt-maize) in pig nutrition: chemical composition and nutritional evaluation. *Arch. Anim. Nutr.* 56, 23-31
 - 24) Cromwell G.L., M.D. Lindemann, J.H. Randolph, G.R. Parker, R.D. Coffey, K.M. Laurent, C.L. Armstrong, W.B. Mikel, E.P. Stanisiewski, G.F. Hartnell, 2002. Soybean meal from Roudup Ready or conventional soybeans in diets for growing-finishing swine. *J. Anim. Sci.* 80, 708-715
 - 25) Brake J., M.A. Faust, J. Stein, 2003. Evaluation of Transgenic Event Bt11 Hybrid Corn in Broiler Chickens. *Poultry Sci.* 82, 551-559
 - 26) George C., W.P. Ridley, J.C. Obert, M.A. Nemeth, M.L. Breeze, J.D. Astwood, 2004. Composition of Grain and Forage from Corn Rootworm-Protected Corn Event MON 863 Is Equivalent to That of Conventional Corn (*Zea mays* L.). *J.*

- Agric. Food Chem. 52, 4149-4158
- 27) Cromwell G.L., B.J. Henry, A.L. Scott, M.F. Gerngross, D.L. Dusek, D.W. Fletcher, 2005. Glufosinate herbicide-tolerant (Liberty Link) rice vs. conventional rice in diets for growing-finishing swine. *J. Anim. Sci.* 83, 1068-1074
 - 28) Taylor M.L., G. Hartnell, M. Nemeth, K. Karunanandaa, B. George, 2005. Comparison of Broiler Performance When Fed Diets Containing Corn Grain with Insect-Protected (Corn Rootworm and European Corn Borer) and Herbicide-Tolerant (Glyphosate) Traits, Control Corn, or Commercial Reference Corn—Revisited. *Poultry Sci.* 84, 1893-1899
 - 29) Aeschbacher K., R. Messikommer, L. Meile, C. Wenk, 2005. Bt176 Corn in Poultry Nutrition: Physiological Characteristics and Destiny of Recombinant Plant DNA in Chickens. *Poultry Sci.* 84, 385-394
 - 30) Rossi F., M. Morlacchini, G. Fusconi, A. Pietri, R. Mazza, G. Piva, 2005. Effect of Bt Corn on Boiler Growth Performance and Destiny of Feed Derived DNA in the Digestive Tract. *Poultry Sci.* 84, 1022-1030
 - 31) Harrigan G.G., W.P. Ridley, S.G. Riordan, M.A. Nemeth, R. Sorbet, W.A. Trujillo, M.L. Breeze, R.W. Schneider, 2007. Chemical Composition of Glyphosate-Tolerant Soybean 40-3-2 Grown in Europe Remains Equivalent with That of Conventional Soybean (*Glycine max* L.). *J. Agric. Food Chem.* 55, 6160-6168
 - 32) McCann M.C., W.A. Trujillo, S.G. Riordan, R. Sorbet, N.N. Bogdanova, R.S. Sidhu, 2007. Comparison of the Forage and Grain Composition from Insect-Protected and Glyphosate-Tolerant MON 88017 Corn to Conventional Corn (*Zea mays* L.). *J. Agric. Food Chem.* 55, 4034-4042
 - 33) McNaughton J.L., M. Roberts, D. Rice, B. Smith, M. Hinds, J. Schmidt, M. Locke, A. Bryant, T. Rood, R. Layton, I. Lamb, B. Delaney, 2007. Feeding performance in broiler chickens fed diets containing DAS-59122-7 maize grain compared to diets containing non-transgenic maize grain. *Anim. Feed Sci. Technol.* 132, 227-239
 - 34) Aulrich K., H. Böhme, R. Daenicke, I. Halle, G. Flachowsky, 2002. Novel Feeds: a review of experiments at our Institute. *Food Res. Internat.* 35, 285-293
 - 35) Bakan B., D. Melcion, D. Richard-Molan, B. Cahagnier, 2002. Fungal Growth and Fusarium Mycotoxin Content in Isogenic Traditional Maize and Genetically Modified Maize Grown in France and Spain. *J. Agric. Food Chem.* 50, 728-731
 - 36) Williams W.P., G.L. Windham, P.M. Buckley, J.M. Perkins, 2005. Southwestern corn borer damage and aflatoxin accumulation in conventional and transgenic corn hybrids. *Field Crops Res.* 91, 329-336
 - 37) Kendra D.F. and R.B. Dyer, 2007. Opportunities for biotechnology and policy regarding mycotoxin issues in international trade. *International J. Food Microb.* 119, 147-151
 - 38) Piva G., M. Morlacchini, A. Pietri, A. Piva, G. Casadei, 2001. Performance of weaned piglets fed insect-protected (MON 810) or near isogenic corn. *J. Anim. Sci.* 79 (Suppl.1), Abstr. 441
 - 39) Hammond B.G., K.W. Campbell, C.D. Pilcher, T.A. DeGooyer, A.E. Robinson, B.L. McMillen, S.M. Spangler, S.G. Riordan, L.G. Rice, J.L. Richard, 2004. Lower Fumonisin Mycotoxin Levels in the Grain of Bt Corn Grown in the Unit-

- ed States in 2000-2002. *J. Agric. Food Chem.* 52, 1390-1397
- 40) Hammond B.C., J.L. Vicini, C.F. Hartnell, M.W. Naylor, C.D. Knight, E.H. Robinson, R.L. Fuchs, S.R. Padgett, 1996. Genetically Modified Crops: The Feeding Value of Soybeans Fed to Rats, Chickens, Catfish and Dairy Cattle Is Not Altered by Genetic Incorporation of Glyphosate Tolerance. *J. Nutr.* 126, 717-727
 - 41) Castillo A.R., M.R. Gallardo, M. Maciel, J.M. Giordano, G.A. Conti, M.C. Gaggiotti, O. Quaino, C. Gianni, G.F. Hatnell, 2001. Effect of feeding dairy cows with either Bollgard, Bollgard II, Roundup Ready or control cotton seeds on feed intake, milk yield and milk composition. *J. Anim. Sci.* 79 (Suppl.1), 413 (Abstr.1712)
 - 42) Erickson G.E, N.D. Robbins, J.J. Simon, L.L. Berger, T.J. Klopfenstein, E.P. Stanisiewski, G.F. Hartnell, 2003. Effect of feeding glyphosate-tolerant (Roundup-Ready events GA21 or nk603) corn compared with reference hybrids on feedlot steer performance and carcass characteristics. *J. Anim. Sci.* 81, 2600-2608
 - 43) Vander Pol K.J., G.E. Erickson, N.D. Robbins, L.L. Berger, C.B. Wilson, T.J. Klopfenstein, E.P. Stanisiewski, G.F. Hartnell, 2005. Effects of grazing residues or feeding corn from a corn rootworm-protected hybrid (MON 863) compared with reference hybrids on animal performance and carcass characteristics. *J. Anim. Sci.* 83, 2826-2834
 - 44) Reuter T., K. Aulrich, A. Berk, (b) 2002. Investigations on genetically modified maize (Bt-maize) in pig nutrition: fattening performance and slaughtering results. *Arch. Anim. Nutr.* 56, 319-326
 - 45) Peterson B.A., Y. Hyun, E.P. Stanisiewski, G.F. Hartnell, M. Ellis, 2003. A comparison of swine performance when fed diets containing Roundup Ready wheat (event MON 71800) and conventional wheat varieties. *J. Anim. Sci.* 81 (Suppl.1), Abstr. M120
 - 46) Bressner G.E., Y. Hyun, E.P. Stanisiewski, G.F. Hartnell, M. Ellis, 2003. Performance comparison of growing-finishing pigs fed diets containing corn root worm protected corn (Event 863) or conventional corn hybrids. *J. Anim. Sci.* 81(Suppl.1), Abstr. M119
 - 47) Hyun Y., G.E. Bressner, R.L. Fischer, P.S. Miller, M. Ellis, B.A. Peterson, E.P. Stanisiewski, G.F. Hartnell, 2005. Performance of growing-finishing pigs fed diets containing YieldGard Rootworm corn (MON 863), a nontransgenic genetically similar corn, or conventional corn hybrids. *J. Anim. Sci.* 83, 1581-1590
 - 48) Brake J. et D. Vlachos, 1998. Evaluation of Transgenic Event 176 "Bt" Corn in Broiler Chickens. *Poultry Sci.* 77, 648-653
 - 49) Kan C.A., G.F. Versteegh, T.G. Uijttenboogaart, H.G.M. Reimert, G.F. Hartnell, 2001. Comparison of broiler performance and carcass characteristics when fed Bt, parental control or commercial varieties of dehulled soybean meal. *J. Anim. Sci.* 79 (Suppl.1), 203 (Abstr. 841)
 - 50) Tony M.A., A. Butschke, A. Broll, J. Zagon, I. Halle, S. Danicke, M. Schauzu, H.M. Hafes, G. Flachowsky, 2003. Safety assessment of Bt 176 maize on broiler nutrition: degradation of maize-DNA and its metabolic destiny. *Arch. Anim. Nutr.* 57, 235-252
 - 51) Halle I., K. Aulrich, G. Flachowsky, 2004. Four generations feeding of GMO-

- corn in breeder quails. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 13, 124, Abstr
- 52) Flachowsky G., K. Aulrich, I. Halle, 2005. Long term feeding of Bt-corn—a 10 generation study with quails. *Arch. Anim. Nutr.* 59, 449–451
 - 53) FAO, 2004. The state of food and agriculture 2003-2004. <http://www.fao.org/do-crep/006/y5160e/y5160e10.htm#TopOfPage>
 - 54) Alexander T.W., T. Reuter, K. Aulrich, R. Sharma, E.K. Okine, W.T. Dixon, T.A. McAllister, 2007. A review of the detection and destiny of novel plant molecules derived from biotechnology in livestock production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 33, 31-62
 - 55) Wiedemann S., B. Lutz, H. Kurtz, F.J. Schwarz, C. Albrecht, 2006. In situ studies on the time-dependent degradation of recombinant corn DNA and protein in the bovine rumen. *J. Anim. Sci.* 84, 135-144
 - 56) Phipps R.H., E.R. Deaville, B.C. Maddison, 2003. Detection of Transgenic and Endogenous Plant DNA in Rumen Fluid, Duodenal Digesta, Milk, Blood, and Feces of Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 86, 4070-4078
 - 57) Sharma R., T.W. Alexander, S.J. John, R.J. Forster, T.A. McAllister, 2004. Relative stability of transgene DNA fragments from GM rapeseed in mixed ruminal cultures. *British J. Nutr.* 91, 673-681
 - 58) Einspanier R., A. Klotz, J. Kraft, K. Aulrich, R. Poser, F. Schwägele, G. Jahreis, G. Flachowsky, 2001. The destiny of forage plant DNA in farm animals: a collaborative case-study investigating cattle and chicken fed recombinant plant material. *Eur. Food Res. Technol.* 212, 129-134
 - 59) Jennings J.C., L.D. Albee, D.C. Kolwyck, J.B. Surber, M.L. Taylor, G.F. Hartnell, R.P. Lirette, K.C. Glenn, 2003. Attempts to Detect Transgenic and Endogenous Plant DNA and Transgenic Protein in Muscle from Broilers Fed YieldGard Corn Borer Corn. *Poultry Sci.* 82, 371-380
 - 60) Reuter T. et K. Aulrich, 2003. Investigations on genetically modified maize (Bt-maize) in pig nutrition: destiny of feed ingested foreign DNA in pig bodies. *Eur. Food Res. Technol.* 216, 185-192
 - 61) Chowdhury E.H., H. Kuribara, A. Hino, P. Sultana, O. Mikami, N. Shimada, K. S. Guruge, M. Saito, Y. Nakajima, 2003. Detection of corn intrinsic and recombinant DNA fragments and Cry1Ab protein in the gastrointestinal contents of pigs fed genetically modified corn Bt11. *J. Anim. Sci.* 81, 2546-2551
 - 62) Phipps R.H., A.K. Jones, A.P. Tingey, S. Abeyasekera, 2005. Effect of Corn Silage from an Herbicide-Tolerant Genetically Modified Variety on Milk Production and Absence of Transgenic DNA in Milk. *J. Dairy Sci.* 88, 2870-2878
 - 63) Ash J.A., S.E. Scheideler, C.L. Novak, 2000. The destiny of genetically modified protein from roundup ready soybeans in the laying hen. *Poultry Sci.* 79, Abstr. 111
 - 64) Spencer J.D., G.L. Allee, T.E. Sauber, 2000. Growing-finishing performance and carcass characteristics of pigs fed normal and genetically modified low-phytate corn. *J. Anim. Sci.* 78, 1529-1536
 - 65) Guthrie A., G.A. Apgar, K.E. Griswold, M.D. Lindemann, J.S. Radcliffe, B.N. Jacobson, 2004. Nutritional value of a corn containing a glutamate dehydrogenase gene for growing pigs. *J. Anim. Sci.* 82, 1693-1698

- 66) Broll H., J. Zagon, A. Butschke, A. Leffke, A. Spiegelberg, H. Böhme, G. Flachowsky, 2005. The destiny of DNA of transgenic inulin synthesizing potatoes in pigs. *J. Anim. Feed Sci.* 14 (Suppl. 1), 337-340
- 67) Beagle J.L., G.A. Apgar, K.L. Jones, K.E. Griswold, J.S. Radcliffe, X. Qiu, D.A. Lightfoot, M.J. Iqbal, 2006. The digestive destiny of *Escherichia coli* glutamate dehydrogenase deoxyribonucleic acid from transgenic corn in diets fed to weanling pigs. *J. Anim. Sci.* 84(3), 597-607
- 68) Powers W.J., E.R. Fritz, W. Fehr, R. Angel, 2006. Total and water-soluble phosphorus excretion from swine fed low-phytate soybeans. *J. Anim. Sci.* 84, 1907-1915
- 69) Böhme H, E. Rudloff, F. Schöne, W. Schumann, L. Hüther, G. Flachowsky, 2007. Nutritional assessment of genetically modified rapeseed synthesizing high amounts of mid-chain fatty acids including production responses of growing-finishing pigs. *Arch. Anim. Nutr.* 61(4), 308-16
- 70) Böhme H., B. Hommel, G. Flachowsky, 2005. Nutritional assessment of silage from transgenic inulin synthesizing potatoes in pigs. *J. Anim. Feed Sci.* 14 (Suppl. 1), 333-336
- 71) Veum T.L., D.R. Ledoux, V. Raboy, 2007. Low-phytate barley cultivars improve the utilization of phosphorus, calcium, nitrogen, energy, and dry matter in diets fed to young swine. *J. Anim. Sci.* 85, 961-971

KINEMATIC CHARACTERISTICS OF WALK IN THE BARDIGIANO HORSE BREED

CARATTERISTICHE DELLA CINEMATICA DEL PASSO NELLA RAZZA CAVALLO BARDIGIANO

Martuzzi Francesca¹, Vaccari Simonini Franca, Gosi Stefano, Catalano Antonio Lucio¹.

Key words

Horse, Kinematics, Gaits, Walk

Parole chiave

Cavallo, Cinematica, Andature, Passo

Summary

Selection of horses for inclusion in breed registers and for approval as breeding stock is usually based on the opinion of judges. However qualitative gait analysis based on the judgement of an observer carries all the risks inherent in subjectivity. Video-based kinematic analysis quantifies the features of gait: the output is in the form of temporal (timing), linear (distance) and angular measurements describing the movements of the body segments and joint angles. The data are displayed graphically. In this trial an Italian breed in field conditions was considered, with the aim to find a scientific, objective method for gait evaluation. 14 retro-reflective, hemispheric markers, diameter 2.5 cm, were glued to palpable, anatomically defined locations of the hoof and skin over the left fore- and hind-limbs of 5 Bardigiano mares. The handler kept the lead line loose and the horse performed a relaxed natural walk over a sand surface. Sagittal plane video data were collected by a digital camera (50 Hz) 5 meters far from the horse. Images captured by computer were analysed using SIMI (SIMI Reality Motion Systems GmbH, Germany). In the fore limb were considered the joints: elbow–carpus–fetlock. In the hind limb: stifle–tarsus–fetlock. Parameters observed: stride duration, angular variation, angular velocities of the segments constituting the joint. Mean and standard deviation were calculated. No irregularity in gaits was found. The obtained graphs are a first step in the locomotion characterization of an Italian horse breed. Kinematic video techniques in the biomechanics study can provide practical application for lameness quantification and prevention, as well as shoeing, training and performance evaluation.

Riassunto

La selezione dei cavalli per l'iscrizione ai registri e per l'approvazione come riproduttori dipende generalmente da giudizi basati su valutazioni soggettive. L'ana-

¹ Dept. of Animal Production, University of Parma, via del Taglio 8 43100 Parma Italy
0039 0521 902616 francesca.martuzzi@unipr.it

lisi della cinematica con riprese video esprime quantitativamente le caratteristiche dell'andatura: il risultato consiste in misure temporali (tempo impiegato), lineari (distanza) e angolari che descrivono i movimenti di segmenti ossei e angoli articolari. I dati sono rappresentati graficamente. Le caratteristiche cinematiche della locomozione sono state studiate in diverse razze equine sportive europee e americane. In questa prova di campo preliminare si è considerata una razza italiana, allo scopo di trovare un metodo scientifico e oggettivo per la valutazione delle andature, che rappresentano un problema per i tecnici del L.G. del Cavallo Bardigiano, essendo l'obiettivo di selezione cambiato recentemente da soggetto da lavoro, da tiro, verso il tipo da sella. 14 marker emisferici, riflettenti, di 2,5 cm di diametro sono stati incollati in punti anatomicamente definiti dello zoccolo e della pelle negli arti toracici e pelvici di 5 cavalle Bardigiane di 3 anni. Il conducente senza esercitare trazione faceva procedere il cavallo al passo su una superficie sabbiosa. Le riprese venivano effettuate con una videocamera digitale (50 Hz) a 5 m di distanza. Le immagini processate dal computer erano analizzate con il sistema SIMI (SIMI Reality Motion Systems GmbH, Germany). Articolazioni considerate nell'arto toracico: gomito-carpo-nodello. Nell'arto pelvico: ginocchio-tarso-nodello. Parametri osservati: durata del passo, variazioni e velocità angolari dei segmenti articolari. Per ogni variabile calcolate media e deviazione standard. Nessuna irregolarità è stata riscontrata. I grafici ottenuti sono un primo passo nella caratterizzazione della locomozione di una razza italiana. Le video-tecniche cinematiche possono fornire un mezzo pratico per la quantificazione e prevenzione delle zoppie, per la valutazione delle performance e degli effetti delle ferrature e dell'addestramento.

Introduction

Selection of horses for inclusion in breed registers and for approval as breeding stock is usually based on the opinion of judges. However qualitative gait analysis based on the judgement of an observer carries all the risks inherent in subjectivity (1). Kinematics is the study of changes in the position of the body segments in space during a specified time. The motions are described quantitatively by linear and angular variables that relate time, displacement, velocity and acceleration (2). Video-based kinematic analysis quantifies the features of gait: the output is in the form of temporal (timing), linear (distance) and angular measurements describing the movements of the body segments and joint angles. The data are displayed as graphs and numbers. Kinematic characteristics of locomotion and jumping in several horse breeds have been studied (3, 4, 5). In this preliminary trial an Italian breed in field conditions was considered, with the aim to find a scientific, objective method for gait evaluation during the performance test of the breeding stock. Gaits represent a challenge for the Bardigiano Stud Book technicians, because the breed selection goal changed recently, in order to obtain a lighter saddle horse from the ancient, work and draft type (6). Comfortable gaits are a main necessity in a breed destined to equestrian tourism. The trial will be continued on stallions and taking in account trot as well.

Material and methods

5 Bardigiano mares, 3 years of age, free of any clinical sign of lameness, at the same level of training were considered. Conformation of the horses was in line with standard pattern of the breed: height at withers comprised between 140 and 145 cm, body weight around 450 kg.

14 retro-reflective, hemispheric markers, 2.5 cm of diameter, were glued to palpable, anatomically defined locations (7) of the hoof and skin over the left fore- and hind-limbs of 5 Bardigiano mares. The horses adapted well to the operations and showed no problems with the markers and lights. The handler kept the lead line loose and the horse performed a relaxed natural walk over a sand surface, normally used for schooling and training. Vertical plane video data were collected by a digital camera (50 Hz) 5 meters far from the horse, from the left side. Images captured by computer were analysed using SIMI (SIMI Reality Motion Systems GmbH, Germany). Before each recording the system was calibrated with a calibration frame of known dimension (1, 8). In the fore left limb were considered the joints: elbow–carpus–fetlock. In the left hind limb: stifle–tarsus–fetlock. The following parameters were observed: stride duration, angular variation, angular velocities of the segments constituting the joint. Mean and standard deviation were calculated for all variables by the SIMI System.

Results and discussion

The output are several graphs representing waves, showing the cycles of limb motion. On the abscissae axis the times of execution of the movement and on the ordinate axis the angular variations are reported. The duration of each cycle was standardized to 100 time frame (i.e. percentage of motion cycle).

The waves have been cut into different phases, each corresponding to a single stride, starting and ending at the moment of maximal flexion (9). The walk is a 4 beats gait with large overlap times between stance phases of the limbs and no period of suspension. It is the slowest equine gait but probably one of the more complex gaits because of the variability in the overlap and lag time between limbs (1). The stride is defined as a full cycle of limb motion, including a stance phase when the limb is in contact with the ground and a swing phase when the limb is not in contact with the ground (2, 10) (Fig.1, 2). In this two-dimensional study the angular data are reported as flexion and extension in the sagittal plane (1). In fig.1 the mean of the angular variations of the joints of the fore left limb are shown, while in fig. 2 the mean of the angular variations of the joints of the hind left limb are shown. The lines have a rounded shape, which highlights the fluidity of the movements, comprised between 73° and 160° during flexion and 125° and 220° during extension in the fore limb, and between 108° and 143° during flexion and between 141° and 202° during extension in the hind limb. The angle values of the limbs in maximum extension and maximum flexion are shown in table 1.

No sharp peak appears when walk is considered, as expected, due to the fact that it is a symmetric and slow gait. The characteristics of locomotion in the 5 mares appeared very similar. No irregularity in gait was found.

In this study the horse was led on a sand surface, while most Authors consider gaits on a treadmill (11). It was demonstrated that treadmill provides an excellent means of controlling the regularity of gaits, because the velocity and slope of the treadmill belt are entirely fixed by the operator. The horse adapts rapidly at trot, and stride measurements can be undertaken beginning at the third session. For the walk, many stride parameters are not stable even after the ninth training session (2). Therefore, in present trial it was decided to lead the horse on a sand surface, normally used in training, in accordance with other studies considering walk (4, 12). This trial is a first attempt to prepare an objective method for gait evaluation in an Italian horse breed.

Tab. 1: Angular variation and standard deviation in max. and min. points of limbs flexion and extension

	Max Flex	S.D. Flex	Max Exten	S.D. Ext
Hind Fetlock	143°	3.64	202°	3.03
Tarsus	128°	4.93	154°	1.41
Stifle	108°	2.43	141°	1.50
Fore Fetlock	160°	1.88	220°	3.57
Carpus	108°	4.11	170°	0.37
Elbow	73°	4.29	125°	1.12

Fig. 1: mean of angular variations in the fore limb

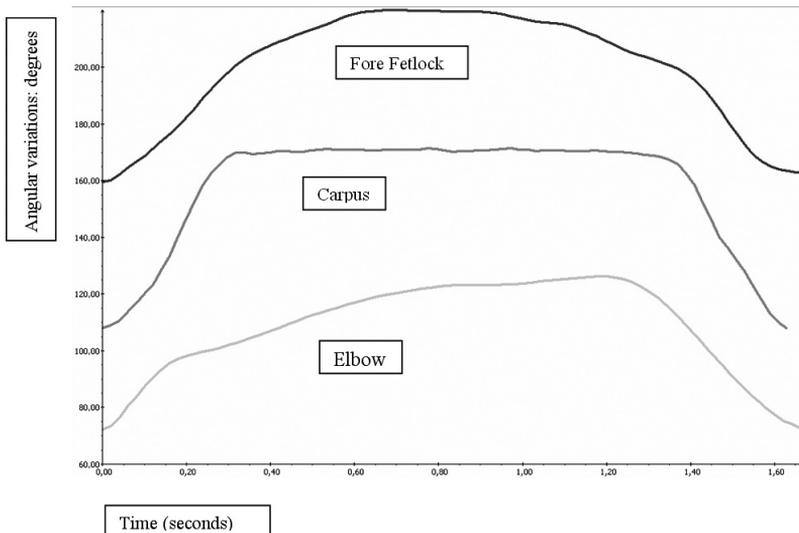
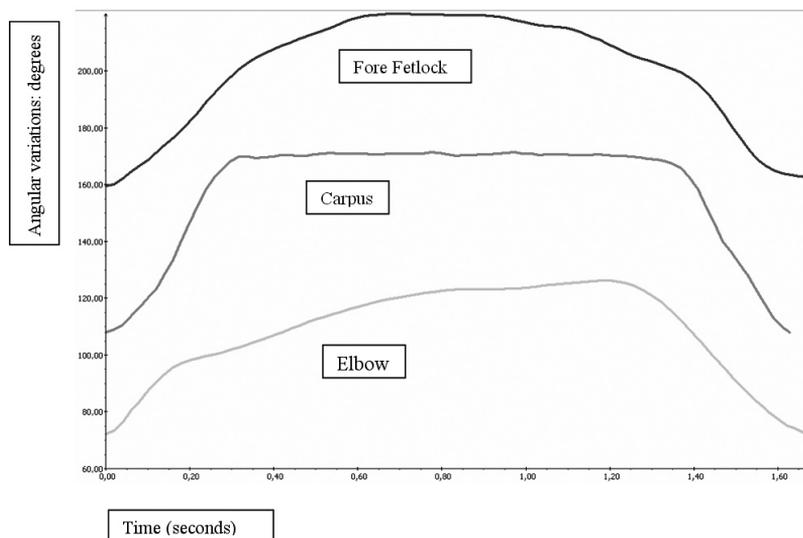


Fig. 2: mean of angular variations in the hind limb

Conclusions

The great improvement in image analysis technology makes it quite easy to apply kinematic techniques in experimental facilities, but the new findings should be extended to the horse industry, because the number of concrete applications available for all the people involved in horse breeding, training, riding and veterinarians is still too limited compared to the amount of research that has been carried out.

This trial is a first step to contribute to prepare applications that can be used in field conditions. The graphs showed no irregularity in walk and very similar characteristics of locomotion in the 5 mares. The obtained data (angle values, wave shapes etc.) can be a reference for further studies and comparisons.

Kinematic techniques in the biomechanics study can provide practical application for lameness quantification and prevention, as well as shoeing, training and performance evaluation.

Acknowledgements: we thank the staff of the Bardigiano Horse Breed Stud Book for the collaboration and the students of the Equine Science and Technique course for their assistance.

Part of this study was presented at the 17th Congress of the Scientific Association for Animal Production, Alghero, Italy, May 29th - June 1st 2007.

References

- 1) Back W., Clayton H. (2001) Equine locomotion. Ed. Saunders W. B., United

- Kingdom., 55-113
- 2) Barrey E. (1999) Methods, applications and limitations of gait analysis in horses. *The Veterinary J.* 157: 7-22
 - 3) Jónás S., Mihók S., Gyürki Z., Altmár K., Bodó I. (2003) Movement analysis as a basis for selection of traditional Gidran horse breed. *Book of Abstracts of the 54th Annual Meeting of the European Association for Animal Production (9)*: 399 (extended paper)
 - 4) Nicodemus M. C., Holt H. M. (2006) Two dimensional kinematics of the flat-walking Tennessee Walking Horse yearling. *Equine and Comparative Exercise Physiology* 3(2): 101-108
 - 5) Cano M. R., Vivo J., Miró F., Morales J. L., Galisteo A. M. (2001) Kinematics characteristics of Andalusian, Arabian and Anglo-Arabian horses: a comparative study. *Research in Veterinary Science*, 71: 147-153
 - 6) Catalano A. L., Martuzzi F., Filippini S., Vaccari Simonini F. (2005). Evaluation for riding and driving purposes of Bardigiano Horse stallions and mares. *Book of Abstracts of the 56th Annual Meeting of the European Association for Animal Production (11)*: 32
 - 7) Catalano A.L. (1993) *Valutazione morfo-funzionale del cavallo. Igiene ed etnologia.* Ed. SBM
 - 8) SIMI Reality Motion Systems GmbH, Germany, 2D Motion Analysis System User Manual (2005)
 - 9) Gosi S., Michelotti M., Bracchi P. G. (2005). Biomechanical studies on Flat-coat dogs. *Ann. Fac. Medic. Vet. di Parma*, Vol. XXV: 47-72
 - 10) Leach D.H., Ormrod K., Clayton H.M. (1984) Standardised terminology for the description and analysis of equine locomotion. *Equine Vet. J.*, 16 (6): 522-8
 - 11) Peham C., Licka T., Mayr A., Scheidl M., Girtler D. (1998) Speed dependency of motion pattern consistency. *J. of Biomechanics*, 31: 769-772
 - 12) Martuzzi F., Gosi S., Vaccari Simonini F., Catalano A. L. (2007) Kinematics of gaits in Bardigiano horses. *Ital. J. Anim. Sci.*, Vol. 6 (suppl 1): 653

CALVES NUTRITIONAL MANAGEMENT AND GROWTH IN DAIRY FARMS LOCATED IN PARMA PROVINCE

Righi F.¹, Campi M.², Bornatici E.¹, Romanelli S.¹, Renzi M.¹, Quarantelli A.¹

SUMMARY

A good management of dairy farms must include an efficient replacement calves nutritional plan, in order to improve their physiological development and productivity and to enhance herd profitability.

The present survey involved 120 dairy operations located in Parma province where data regarding colostrum phase management, liquid feeding program, health status of calves and heifers reproductive performances have been collected. Moreover, a total of 78 calves from 6 farms (2 small, 2 middle and 2 large) were monitored with the aim of to evaluate growth performances during the first 90 days of life.

A poor colostrum phase management, generally characterized by lack of colostrum quality test and colostrum bank, was observed. This probably led to failure of passive immunity transfer, with high incidence of diseases. Milk replacer seems to be the main liquid feed for calves in small (61%), middle (69%) and large operations (55%). However, its use appears related to high incidence of diarrhea episodes in calves, which affects more than 50% of animals in small (56%), middle (51%) and large (57%) dairy farms. Respiratory diseases are more frequent in large farms calves, than in small ones (21% vs 7%) in analogy with mortality (16% vs 8%).

Weaning age resulted of about 3 months in small and middle farms, while appeared within 2 and 3 months in large farms. Age at first calving about 28 months leading to a reduction in replacement efficiency. Estimated average growth rate was which, resulted 0.570 Kg/d during the first 90 days of life, could potentially support first calving at the age of 24 months, allowing for optimization and strong economization of the replacement process.

Key words:

calves, weaning, growth rate, milk replacer, starter feedstuff

RIASSUNTO

Una buona gestione dell'allevamento della bovina da latte deve comprendere un efficiente piano di nutrizione dei vitelli destinati alla rimonta, al fine di migliorare il loro sviluppo fisiologico e la loro capacità produttiva nonché aumentare la resa della mandria.

La presente indagine ha coinvolto 120 aziende situate in provincia di Parma presso le quali sono stati raccolti dati relativi la gestione della fase colostrale, il programma di alimentazione latte e lo stato di salute dei vitelli, nonché le performances

1 Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti

2 Medico Veterinario, libero professionista (Parma)

riproduttive delle manze. Una ulteriore serie di osservazioni è stata inoltre effettuata su un totale di 78 vitelli individuati presso n. 6 aziende di vacche da latte (2 piccole, 2 medie e 2 grandi) con la finalità di valutare le performances di crescita dei vitelli stessi nei primi 90 giorni di vita.

A seguito delle indagini effettuate è emersa una gestione inefficiente della fase colostrale, caratterizzata generalmente da assenza di controlli qualitativi e di una banca del colostro, cui ha fatto riscontro una elevata incidenza di patologie riconducibili a un fallito trasferimento della immunità passiva dalla madre al vitello. I sostitativi del latte sembrano essere i principali alimenti liquidi somministrati ai vitelli sia nelle piccole aziende (61%), sia nelle medie (69%) e grandi (55%). Tuttavia, il loro impiego appare in relazione con una elevata incidenza di episodi diarroici, che colpiscono più del 50% degli animali nelle piccole (56%), medie (51%) e grandi (57%) aziende. Le patologie respiratorie sono risultate più frequenti fra i vitelli allevati nelle grandi aziende rispetto a quelli allevati nelle piccole (21% vs 7%), analogamente a quanto riscontrato per la mortalità (16% vs 8%).

L'età allo svezzamento è risultato di circa 3 mesi nelle aziende piccole e medie, mentre è apparso compreso fra i 2 ed i 3 mesi nelle grandi aziende. L'età al primo parto si attesta intorno ai 28 mesi. Il tasso di crescita medio stimato, risultato pari a 0,570 Kg/d nei primi 90 giorni di vita, è potenzialmente in grado di sostenere il primo parto all'età di 24 mesi consentendo una ottimizzazione ed una notevole economizzazione del processo di rimonta.

Parole chiave:

vitelli, svezzamento, tasso di crescita, sostitutivo del latte, mangime starter

INTRODUCTION

A proper management of a dairy operation should include an efficient replacement calf/heifer nutritional plan to ensure rapid development and productivity of the animals, improving herd profitability. In fact, as observed by Hutjens (2004), replacement heifers (and calves) provide the basis for profitable milking herds as a source of genetically superior cows, allow for culling of marginal cows, expand the dairy operation and/or provide a source of added revenue by selling surplus animals. The same author identifies two main types of calf weaning/feeding programs: the "Traditional Calf Feeding Program" and the "Accelerated Feeding Approach for Young Calves". The first one is characterised by the administration of colostrum during the first 24-48 hours of life, followed by milk replacer or whole milk at 8 to 10% of the calf body weight (0,45 Kg of milk solids), until calves consume 0.7 Kg of starter (18 % Crude Protein). Average daily gain should range between 0.2 and 0.5 Kg/d and it will increase over 0.7-0.8 Kg/day after three months of age, when calves are offered a 16% crude protein ration. After weaning, calves are fed only starter and forage is offered only when calves consume more than 2 Kg of concentrate. Based on Cornell (Van Amburgh et al., 2001) and Illinois (Davis and Drackley, 1998; Drackley, 2001) studies, the "Accelerated growth" approach induces gains between 0.9 and 1.4 Kg per day, feeding calves higher levels of a higher protein milk replacer. This

improves bone and lean mass growth such as the efficiency of the immune system. Weaning age goes from 40 to 50 days (Van Amburgh et al., 2001; Leismeister and Heinrichs, 2005; Hutjens, 2004) in both Traditional and Accelerated approach. However, as reported by Van Amburgh and Tikofsky (2001), the accelerated approach must be used in the specific replacement heifer management milestone of age at first calving (AFC), which implies management goals such as a target weight and age at which a group of heifers is to be confirmed pregnant. Age at first calving has been indicated as the single most important variable influencing cost associated with raising replacements and heifers (Cady and Smith, 1996), which constitutes 15 to 20% of the total costs of dairy farms. It should be noted that age at first calving is affected by nutrition (Accurate nutrient supply, affecting Weaning weight, Prepuberal growth rate, Breeding weight, Growth rate during pregnancy, Calving weight, Body condition) and other factors such as Birth weight, Disease (through first lactation), Maintenance requirements, Heat detection and Conception rate. Weaning weight is affected by the weaning program and affects in turn prepuberal feeding protocol if growth is targeted. After the publication of Van Amburgh's data, the NRC (2001) indicates the "Target Growth System" as a management tool to raise calves and heifers. According to the Target Growth System, heifers should reach 55% of mature weight at first pregnancy, and first post calving body weight should be about 85% of mature weight to maximize first lactation yield (Van Amburgh et al., 1998). Other authors (Zanton and Heinrichs, 2005) showed that Average Daily Gain should be about 800g between 150 and 320 Kg of Body Weight, in order to obtain best performances.

Colostrum is an excellent source of nutrients and immune proteins that convey protection to the neonatal calf. As colostrum is so important to newborns, producers must often make provision to have a source of colostrum available when the dam doesn't provide enough high quality colostrum for the calf. Therefore, storage of colostrum is necessary. The two most common means of storing colostrum are refrigeration and freezing (Quigley, 2001a).

To manage with colostrums provision, we need to test if colostrum has enough antibodies to protect newborn calf against the pathogens to which it will be exposed. One practical and fast method of estimating colostrum quality is to use a device called a colostrometer. The colostrometer measures the specific gravity of the colostrum and estimates total gamma globulins on the basis of a statistical relationship. The colostrometer has been widely used to estimate IgG concentration in colostrum (Quigley, 2001b).

Calves mortality in the first 3 months of life has been reported to be higher in larger farms (Hartman et al., 1974), varying between 13.3% of smaller dairy farms and 33.4% of larger operations. In a study conducted on 4528 calvings, Johanson and Berger (2003) found a perinatal mortality (first 48 hours of life) of 7.1%. They demonstrated this mortality being related to various factors such as first calf heifer (2.4 times more death), dystocia (2.7 times more death), poor management, season (winter increased death probability by 36%), birth weight (calves weighing more than 42 Kg had higher probability to die) and gestation length (shorter gestation length increased the probability of perinatal mortality). The most recent survey by the United States Department of Agriculture (USDA-2002) places overall preweaning mortality

at 8,7 %, of which approximately two-thirds is due to scours and one-quarter due to respiratory diseases.

During the first few weeks of life, when calves are typically fed whole milk or milk replacer, is also the time when calves experience episodes of diarrhea, often caused by infectious organisms such as Rotavirus, Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, *Cryptosporidium parvum* or *Salmonella* spp. (Quigley, 2007; Ambrosim et al., 2002). As reported by Ambrosim et al. (2002), diarrhea is the major cause of death among calves throughout the world. The causative agent may proliferate in the intestinal tract alone or in combination with another organisms. The published data on the subject are not particularly clear as to whether amount or concentration of liquid feed (milk or milk replacer) might induce or predispose diarrhea. Some very early researches, especially with lower quality calf milk replacer used in the 1950's and 1960's, suggested that increased calf milk replacer feeding often resulted in increased diarrhea. This might be related to the relatively poor technology used at that time to process dry milk ingredients that were used in milk replacer formulations. Quigley (2007) suggests that there have been cases where feeding additional milk or milk replacer have resulted in increased incidence of "loose feces" or, in some cases, in incidence or severity of diarrhea. However, the research indicates that loose feces is not necessarily related to increased milk replacer feeding, but may be related to amount of liquid feed, the composition of the diet, and many other factors, such as the degree of microbial contamination in the environment.

According to Virtala et al. (1996a, 1996b), respiratory diseases in pre-weaning dairy replacement is second only to diarrhea as a cause of morbidity and mortality. As previously reported, respiratory diseases are responsible for approximately 1/4 of calves mortality. They are caused by viral agents such as BRSV, BVDV and PI3, alongside bacterial agents such as *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Haemophilus somnus*, *Arcanobacterium pyogenes* and *Mycoplasma* spp, sometimes in combined infections.

In Parma province, calf/heifer management is still left to farmer experience and is still substantially unknown. There are not data regarding weaning protocols adopted by farmers, and only a few informations regarding heifers management efficiency. The aim of this study was to observe the nutritional management and growth performances of calves raised in Parma province, in the attempt to verify the potential to improve the efficiency of replacement animals management.

MATERIALS AND METHODS

The study, conducted in summer and fall 2006, was developed through the observation of a total of 120 of small (<50 milking cows), middle (50 to 100 lactating cows) and large (>100 lactating cows) dairy farms located in Parma province. Dairy operations were visited once and farmers were asked to complete a questionnaire (fig. 1) regarding colostrum phase management, liquid feeding program, health status of calves and reproductive performances of farm heifers:

- Colostral phase management: colostrum quality testing, availability of a

colostrum bank;

- Liquid feeding program: administered liquid feed (whole milk, milk replacer or mix), weaning age;
- Health status: respiratory diseases; enteric diseases; mortality;
- Reproductive performances of farm heifers: age at first calving.

During the same period, growth process of a total of 78 calves coming from 2 small, 2 middle and 2 large dairy farms was monitored using an electronic scale (Tassinari Bilance, mod. TE1000L). All the farms were applying the weaning program advised by the feed industry furnishing the milk replacer. Animals were periodically weighted, after 10 hours of fasting, from birth to the age of 90 days. Every animal was weighted a minimum of 3 times and a maximum of 9 times. Growth curve equation was obtained from a total of 319 observations; average weight at birth, average weight at 40, 60 and 90 days of age and growth rate at the same intervals were then estimated to describe growth process of observed animals.

RESULTS AND DISCUSSION

The results of this study are summarized in table 1. More details are reported in Tables 2, 3 and 4. Colostral phase management seems to be similar in small, middle and large dairy operations and it is characterized by absence of colostrum quality testing and colostrum bank. This could increase the frequency of failure of passive transfer in calves with higher prevalence of diseases and higher neonatal mortality (Quigley, 2001a, 2001b, 2001c). Liquid feed administered during weaning period was mainly milk replacer in small farms (61%), while milk replacer was used as alternative or together with cow milk in 29% of small dairy farms. Whole milk was the only liquid feed administered only in 10% of small operations. Also in middle dairy farms milk replacer was the main liquid feed administered to calves (69%) followed by milk replacer + whole milk (17%) and whole milk alone (14%). A lower percentage of large farms used milk replacer alone to feed calves (55%), with an increased frequency of milk replacer + whole milk use (26%) and whole milk administration (18%). Weaning age was higher than 3 months for both small and middle operations, while was lower, resulting between 2 and 3 months for smaller farms. Health status was determined on the bases of the frequency of respiratory and enteric diseases and mortality reported by the farmers. In all dairy farms, enteric diseases appeared to affect about 40 to 50% of calves, being 49, 44 and 45% respectively for small, middle and large operations. The use of milk replacer appears to be positively related to the prevalence of enteric diseases in all kind of operations. When milk replacer was used, enteric diseases affected more than 50% of the animals in small (56%), middle (51%) and large (57%) dairy farms. This parameter was around 40% in small and middle farms when whole milk alone or whole milk mixed with milk replacer were used. According to Quigley (2007) this high prevalence of enteric diseases could be related to the frequent use of economic milk replacers or improper milk administration practices, to a poor immune response, or high environmental microbial contamination. In large dairy operations the lower and the higher prevalence of enteric diseases were

recorded in correspondence of whole milk and milk replacer respectively. Respiratory diseases appeared increasingly important with the increase of farm dimensions. The prevalence of respiratory diseases was 7% in small, 16% in middle and 21% in large farms.

Age at first calving was over 30 months in the 44% of heifers raised in small farms (only 15% of the animals calves between 24 and 26 months of age), while was lower in middle and large farms (26-28 months). According to the National Animal Health Monitoring System (NAHMS) dairy survey in 2002 (USDA, 2002), 25.4 months is the average age at first calving in the U.S. dairy herds. Of the 44% operations that are calving heifers at less than 25 months of age, about 22% are calving heifers at less than 24 months. Altogether 58% operations calve in heifers younger than 26 months of age, but the 10% that are calving heifers older than 30 months skew the average upward. This 10% represents a major loss of money for the dairy operation. These observations show how in Parma dairy farms there is still a big margin to improve replacement efficiency.

Table 1: Summary of the observations

	<i>Small farms</i>	<i>Middle farms</i>	<i>Large farms</i>	General
Colostrum quality testing	No	no	no	no
Colostrum bank availability	No	no	no	no
Main type of milk administrated	Milk replacer (61%)	Milk replacer (69%)	Milk replacer (55%)	Milk replacer (62%)
Enteric disease	49%	44%	45%	46%
Respiratory disease	7%	16%	21%	15%
Mortality	8%	12%	16%	12%
Weaning age	> 3 months	> 3 months	2-3 months	> 3 months
Age at first calving	> 30 months	26-28 months	26-28 months	28 months (26-28 months)

Lower age at first calving is economically advantageous to producers who maintain ownership of their heifers. By modeling discounted income over feed costs at various ages for heifers that calved at different ages, Lormore (2005) showed a cumulative income over feed cost advantage maintained across the first lactation (and herd lifetime) for heifers calving at 22 vs. 24 months of age. Lower calving ages also increase the asset turnover ratio and financial efficiency of the operation since fewer replacements are needed at any given time to meet its internal replacement needs. Reducing age at first calving means heifers are generating cash sooner and fewer replacements are needed to maintain herd size (Lormore, 2005). Based on the data obtained in Parma survey, reducing age at first calving from an average of 28 months to an average of 24 months could reduce the replacement animals needed of about 14%.

Table 2: Weaning age and Age at first calving in small, middle and large dairy operations

	<i>Small farms</i>	<i>Middle farms</i>	<i>Large farms</i>
Weaning age			
< 2 months	15 %	7 %	8 %
2 – 3 months	36 %	31 %	55 %
> 3 months	49 %	62 %	37 %
Age at first calving			
24 - 26 months	15 %	21 %	20 %
26 – 28 months	31 %	36 %	42 %
28 – 30 months	10 %	14 %	13 %
> 30 months	44 %	29 %	21 %

Table 3: Enteric and respiratory diseases in small, middle and large dairy operations

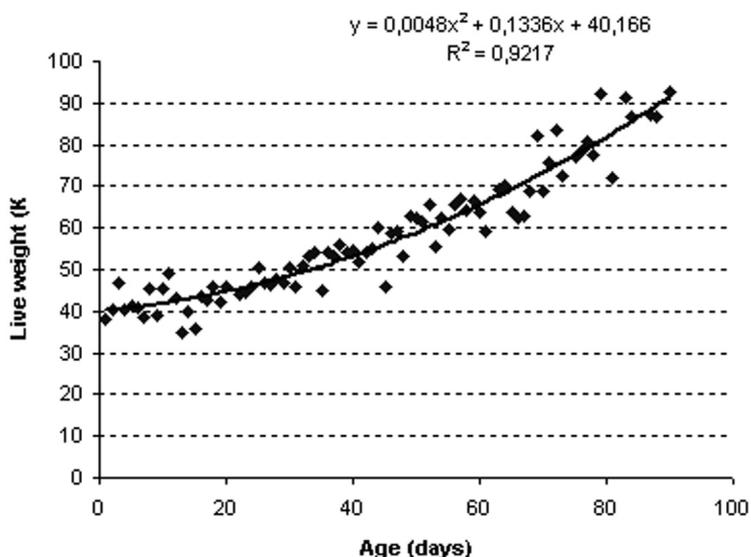
	<i>Small farms</i>	<i>Middle farms</i>	<i>Large farms</i>
Enteric disease	49 %	44 %	45 %
Respiratory disease	7 %	16 %	21 %
Mortality	8 %	12 %	16 %

Table 4: Use of whole milk or milk replacer in small, middle and large dairy operations

	<i>Small farms</i>	<i>Middle farms</i>	<i>Large farms</i>
Whole milk	10 %	14 %	18 %
W. Milk + M. replacer	29 %	17 %	26 %
Milk replacer	61 %	69 %	56 %

Growth performances of calves are represented in Figure 1 were the growth curve, obtained from a total of 319 observations, is reported. The best fitting function ($R^2=0.9217$) of the data points was a polynomial equation used to calculate the general growth curve such as to estimate the other growth parameters. Estimated average weight at birth was 40.17 Kg, while was 53.19, 65.46 and 91.07 Kg respectively at 40, 60 and 90 days of age. At the same intervals, estimated cumulative ADG were 0.33, 0.42 and 0.57 Kg/d, resulting in ADG of 0,61 Kg between 40 and 60 days and 0.85 Kg/d between 60 and 90 days of age. These growth rates appears to be similar to those indicated as regular adopting a traditional calf feeding program (Hutjens, 2004). However these growth performances are obtained using an higher quantity of milk, being the observed animals weaned at over 3 months of age. This represent a loss of money for dairy operations.

Figure 1: Calves growth curve during the first trimester



Assuming a mature weight of 680 Kg, first calving weight should be about 578 Kg. Observed calves appear to weight approximately 91 Kg at 90 days of life. To give first calving at 24 months they should growth 0.773 Kg/d from the age of 3 months to the age of 24 months. Based on data from Zanton and Heinrichs (2005), this average daily gain is very close to optimal for first lactation yield maximization.

Table 5: Average Daily Gain (ADG) of observed calves

<i>Age (d)</i>	<i>Estimated BW (Kg)</i>	<i>Estimated ADG cumulative (Kg/d)</i>	<i>Estimad ADG interval (Kg/d)</i>
0	40.17	-	-
40	53.19	0.33	0.33 (0-40)
60	65.46	0.42	0.61 (40-60)
90	91.07	0.57	0.85 (60-90)

CONCLUSIONS

Calves management and nutritional plan highly affect their development, performances and future productivity, potentially enhancing herd profitability. The lack of colostrum quality tests and colostrum banks in the observed dairy operations could lead to deficient calves immune system, predisposing to enteric and respiratory diseases. The use of milk replacer as the main liquid feed for calves appears to be

related to an increased prevalence of diarrhea, which occurs equally in all kinds of farms; respiratory diseases are indeed more frequent in large farms, than in the others.

In the observed dairy farms there is a margin to improve replacement efficiency by about 14%, being the age at first calving around 28 months. Estimated average growth rate of calves raised in the same area is typical of a traditional weaning program, and could potentially support a first calving age of 24 months, allowing for optimization and economization of replacement process.

REFERENCES

- 1) Ambrosim J.A., Almeida F.S., Rigobelo E.C., Castro A.F.P., Schocken-Iturrino R.P., Quintana J.L., Avila F.A., 2002. Epidemiological, antigenic and pathogenic profile of bovine diarrhea in a Brazilian cattle population. *Revue Elèv. Méd. Vét. Pays Trop.*, 55(1): 15-20.
- 2) Cady R.A., and Smith T.R., 1996. Economics of heifer raising programs. In: *Proc. Calves, heifers and dairy profitability. Natl. Conf. Harrisburg, PA.* Pages 7-24.
- 3) Davis C.L., and Drackley J.K., 1998. The development, nutrition and management of the young calf. Iowa State University Press, Ames IA.
- 4) Drackley J.K., 2001. Influence of early nutrition on growth and body composition of dairy calves. Pages 25-36 in *Proc. Cornell Nutr. Conf.*
- 5) Hartman D.A., Everett R.W., Slack S.T., Warner R.G., 1974. Calf mortality. *J. Dairy Sci.* 57(5): 576-578.
- 6) Hutjens M.F., 2004. Accelerated replacement heifer feeding programs. *Advances in Dairy Technology*, 16; 145.
- 7) Johanson J. M., and Berger P. J., 2003. Birth Weight as a Predictor of Calving Ease and Perinatal Mortality in Holstein Cattle. *J. Dairy Sci.* 86:3745–3755.
- 8) Leismaster K.E., and Heinrichs A.J., 2005. Effects of adding extra molasses to a texturized calf starter on rumen development, growth characteristics and blood parameters in neonatal dairy calves. *J. Dairy Sci.* 88: 411-418.
- 9) Lormore M., 2005. The case for a quality dairy replacement program. In *Proceedings from Dairy Calves and Heifers: Integrating Biology and Management – A Conference for Dairy Producers and Their Advisors (NRAES-175)*, January 27-29, 2005, Syracuse, NY.
- 10) Quigley J., 2001a. Calf Note #13 – Freezing & Thawing Colostrum. *Calf Notes.com*
- 11) Quigley J., 2001b. Calf Note #22 – Using the Colostrometer to Measure Colostrum Quality. *Calf Notes.com*
- 12) Quigley J., 2001c. Calf Note #62 – Calf Age, Total Protein and FPT in Calves. *Calf Notes.com*
- 13) Quigley J., 2007. Calf Note #124 – Accelerated liquid feeding and diarrhea. *Calf Notes.com*
- 14) Van Amburgh M.E. and Tikofsky J., 2001. The advantages of “Accelerated

- Growth” in heifer rearing. *Advances in Dairy Technology*, 13; 79.
- 15) Van Amburgh M.E., Galton D.M., Bauman D.E., Everett R.W., Fox D.G., Chase L.E., Erb H. N., 1998. Effects of three prepubertal body growth rates on performance of Holstein heifers during first lactation. *J. Dairy Sci.* 81(2): 527-538.
 - 16) Van Amburgh M.E., Tikofsky J.N., Tedeschi L.O., Smith J.H. and Drackley J.K., 2001. Requirements for growth of Holstein calves and evaluation of current feeding systems. Pages 46-55 in *Proc. Cornell Nutr. Conf.*
 - 17) Virtala A.M., Mechor G.D., Gröhn Y.T., Erb H.N., 1996a. The effect of calfhood diseases on growth of female dairy calves during the first 3 months of life in New York State. *J. Dairy Sci.* 79(6):1040-9.
 - 18) Virtala A.M., Mechor G.D., Gröhn Y.T., Erb H.N., Dubovi E.J., 1996b. Epidemiologic and pathologic characteristics of respiratory tract disease in dairy heifers during the first three months of life. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 208(12):2035-42.
 - 19) Zanton G.I., and Heinrichs A.J., 2005. Meta-analysis to assess effect of prepubertal average daily gain of Holstein heifers on first-lactation production. *J. Dairy Sci.*, 88(11): 3860-3867

DINAMICA DEI SOSTEGNI COMUNITARI ALLE AZIENDE ZOOTECNICHE DELLA REGIONE EMILIA-ROMAGNA*

EC SUPPORT DYNAMICS TO ZOOTECHNICAL COMPANIES IN THE EMILIA-ROMAGNA REGION

Ferri G.**

PAROLE CHIAVE:

contributi comunitari, disaccoppiamento, aziende zootecniche, Emilia-Romagna

KEY WORDS:

EC contributions, decoupling, zootechnical farms, Emilia-Romagna

Riassunto

La riforma di medio termine della Politica Agricola Comunitaria è stata molto incisiva e ha modificato notevolmente l'erogazione degli aiuti comunitari al settore agricolo. Lo studio analizza i contributi percepiti dalle aziende zootecniche della regione Emilia-Romagna nel quadriennio 2003-2006.

Nella prima parte del lavoro si sono costruite delle serie storiche suddivise per provincia relative ai contributi erogati alle aziende bovine della regione Emilia-Romagna. Si evidenzia un aumento dei contributi soprattutto per effetto dell'introduzione del premio legato alla produzione di latte. Parallelamente si osserva che quasi l'80% di tale contributo viene erogato ai produttori delle tre province facenti parte del comprensorio di produzione del Parmigiano-Reggiano (Parma, Modena e Reggio Emilia).

Nella seconda parte si è individuato un campione di aziende del nostro territorio sul quale approfondire l'analisi economica. Si osserva un notevole aumento degli aiuti percepiti dagli allevatori nel quadriennio considerato. L'introduzione del disaccoppiamento a partire dal 2005 ha fatto confluire tutti gli aiuti, ad eccezione di quelli legati alle misure agroambientali, all'interno del Pagamento Unico Aziendale, accrescendo notevolmente il valore dei diritti posseduti dalle aziende. In questo modo l'imprenditore è libero di decidere la produzione da attuare continuando a percepire l'aiuto disaccoppiato col solo vincolo della lavorazione del suolo e del rispetto delle norme introdotte dalla condizionalità.

Abstract

The EC Common Agricultural Policy medium-term reform was very incisive, drastically modifying the provision of community funding to the agricultural

* Lavoro eseguito con finanziamento FIL (ex quota 60%).

** Sezione di Risorse del Territorio, Dipartimento di Salute Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma.

sector. This study analyses the financial aid received by zootechnical farms in the Emilia-Romagna region during the four-year period 2003-2006.

The first part of the study involved the construction of historical series, divided by province, concerning the contributions paid to cattle farms in the Emilia-Romagna region. An increase in the contributions can be seen above all due to the introduction of a premium linked to milk production. At the same time it can be seen that almost 80% of this contribution is paid to producers in the three provinces belonging to the Parmigiano-Reggiano production territory (Parma, Modena and Reggio Emilia).

In the second part, a sample of farms in the territory was identified in order to carry this analysis further. It can be seen how there is a drastic increase in aid received by farmers in the considered four-year period. With the exception of that linked to agro-environmental measures, the introduction of decoupling from 2005 has led to the convergence of all aid into the Single Farm Payment, drastically increasing the value of the rights held by farms. In this way, the farmer is free to decide on the type of production to implement, continuing to receive the decoupled payments with the sole constraint of having to work the land and respect the regulations introduced by conditionality.

1. Premessa

La riforma di medio termine della Politica agricola comunitaria (Pac) introdotta a partire dal 2004 ha rivoluzionato i meccanismi di attribuzione dei contributi comunitari a sostegno delle aziende agricole. Sono trascorsi più di 3 anni dall'introduzione delle nuove regole e diventa quindi possibile tracciare un primo bilancio sulle modifiche strutturali indotte e sul budget a disposizione delle aziende zootecniche (4).

La principale novità introdotta dal Regolamento comunitario Ce 1782/2003 è quella riguardante il pagamento unico. L'obiettivo dell'Unione Europea (Ue) è quello di assicurare un equo tenore di vita alla popolazione agricola, attraverso un sistema che prevede i pagamenti diretti all'agricoltore sulla base dei premi da questi percepiti in un periodo di riferimento passato. Questa innovazione, che viene definita disaccoppiamento (spostamento del sostegno dal prodotto al produttore), dovrebbe consentire il conseguimento di un'altra importante finalità, il potenziamento della competitività del settore agricolo. Infatti ciascuna azienda è libera di produrre i beni maggiormente richiesti dal mercato continuando a percepire ugualmente i contributi legati alle produzioni realizzate in passato (3).

Il Regolamento introduce anche la condizionalità, con la quale si intende subordinare il pagamento degli aiuti al rispetto di numerose norme da parte degli imprenditori agricoli, soprattutto di carattere ambientale. In questo senso l'agricoltore viene considerato come il principale attore della salvaguardia del territorio essendo colui che ne è maggiormente a contatto. Le regole messe in atto riguardano una serie di requisiti fondamentali in materia di sicurezza alimentare, di benessere e salute degli animali, di buone condizioni agronomiche e ambientali. In caso di mancato rispetto si può arrivare ad una revoca totale o parziale degli aiuti sulla base di criteri

che tengano conto della gravità, della durata e della frequenza dell'infrazione commessa (1).

Altro elemento introdotto dal Reg. Ce 1782/2003 è la modulazione, un sistema di riduzione progressiva dei pagamenti diretti volta a riequilibrare il sostegno agricolo tra il cosiddetto "primo pilastro" (misure di mercato) e il "secondo pilastro" (misure di sviluppo rurale) (5). Tutti i diritti che superano un determinato importo dovranno essere ridotti di una certa percentuale annua che andrà ad incrementare le risorse a disposizione delle aziende nel capitolo dello sviluppo rurale.

Come si accennava, l'importo cui l'agricoltore ha diritto in forza del nuovo regime è calcolato riferendosi agli importi corrisposti durante un periodo di riferimento (triennio 2000-2002). L'obiettivo è passare dal sostegno differenziato per prodotto ad un unico aiuto, il Pagamento unico aziendale (Pua), vincolato semplicemente alla coltivazione del terreno e lasciando così la possibilità alle aziende di scegliere le proprie produzioni in funzione delle richieste del mercato.

La fissazione dei titoli e il loro valore è avvenuta nel 2005 da parte dell'Agenzia per le Erogazioni in Agricoltura (Agea). Inizialmente sono entrati a far parte del disaccoppiamento i contributi relativi ai seminativi e alla macellazione, mentre i contributi relativi alla produzione del latte sono stati disaccoppiati solo l'anno successivo. Ogni anno, entro maggio, l'imprenditore agricolo è tenuto a presentare domanda ad Agea facendo richiesta del Pua e dimostrando di avere a disposizione da coltivare un numero di ettari corrispondenti ai titoli posseduti.

Il Regolamento Ce n. 796/2004 prevede che il controllo per accertare il rispetto dei requisiti e delle norme ambientali sia affidato ad enti di controllo specializzati. Gli Organismi pagatori, invece, sono responsabili della determinazione delle riduzioni ed esclusioni da applicare nel caso di mancato rispetto. È prevista però una deroga e lo Stato membro può decidere di affidare al medesimo Organismo pagatore anche i controlli relativi alla condizionalità. In questo senso si è mossa l'Italia che col decreto MiPAF n. 5406/2004 ha delegato gli Organismi pagatori anche al controllo. In Italia il controllo è affidato ad Agea e agli Organismi pagatori regionali (6).

2. Sostegni comunitari alle aziende zootecniche della regione Emilia-Romagna

2.1 Premessa

L'erogazione dei fondi derivanti dall'applicazione della Pac avviene oggi attraverso diversi enti cosiddetti erogatori che hanno sostituito in tale compito Agea che in passato è stata l'unica delegata ad assolvere a tale funzione. Il compito è progressivamente passato agli Organismi pagatori regionali nei confronti dei quali Agea svolge le funzioni di coordinamento, supporto tecnico e consulenza, mantenendo la completa responsabilità nei confronti dell'Ue.

Per quanto riguarda la regione Emilia-Romagna, l'Ente delegato all'erogazione dei contributi è l'Agenzia Regionale per le Erogazioni in Agricoltura per l'Emilia-Romagna (Agrega) che è stata istituita con la Legge Regionale n. 21/2001. Tale Ente, in qualità di Organismo pagatore regionale, riconosciuto dalla Ue, ha competenza relativamente all'erogazione di aiuti, contributi e premi previsti da disposi-

zioni comunitarie, nazionali e regionali a favore degli operatori del settore agricolo, stanziati dall'Ue (FEOGA), Stato e Regione.

Il D.P.R. 7 aprile 2000, n. 118 ha previsto l'obbligo, per le Amministrazioni Pubbliche, di istituire l'albo informatico dei soggetti ai quali sono stati concessi benefici economici e contributi. Anche Agrea ha assolto a questo vincolo mettendo a disposizione del pubblico l'albo dei beneficiari, all'interno della propria pagina web. E' dunque possibile risalire a tutti i contributi dispensati dall'Ente negli esercizi finanziari 2002-2006. A tal proposito occorre sottolineare che gli esercizi finanziari per Agrea iniziano il 15 ottobre e terminano il 14 ottobre dell'anno successivo e, dunque, occorrerà verificare oltre alla data di pagamento anche quella di presentazione della domanda per capire a quale anno l'aiuto fa riferimento. Le informazioni contenute forniscono il riferimento della ditta, l'importo pagato, gli estremi e la data della domanda presentata dal produttore, nonché la data del pagamento relativo. Questi stessi dati ci sono stati forniti da Agrea (in formato Excel) in modo da poter procedere ad una più facile elaborazione.

2.2 L'analisi dei contributi alle aziende zootecniche

L'analisi degli aiuti percepiti dai produttori agricoli è riferita alle sole aziende zootecniche della Regione Emilia-Romagna. Si sono esaminati in particolare due contributi percepiti dalle aziende con allevamento bovino che sono state l'oggetto della nostra analisi.

Il primo degli aiuti studiati è stato quello introdotto dal Reg. Ce 1782/03 che va a beneficio delle aziende produttrici di latte ed è consistito nel pagamento, a partire dall'annata produttiva 2004, di un aiuto proporzionale al quantitativo di latte prodotto. L'importo unitario riferito alla tonnellata di produzione è stato di circa 11 euro per l'annata produttiva 2004, 22 euro per il 2005 e 33 euro per il 2006. Tale aiuto, nelle intenzioni dell'Ue, dovrebbe compensare i produttori del danno economico generato dalla riduzione dei prezzi di intervento relativi al latte in polvere ed al burro.

Altro contributo analizzato è quello relativo alla macellazione dei bovini introdotto da Agenda 2000, dopo la diffusione del morbo della Bse, al fine di sorreggere la filiera produttiva in evidente crisi di mercato. E' stato riconosciuto agli allevatori per manzi, vacche e giovenche che abbiano più di 8 mesi di vita (80 euro per capo macellato), e per i vitelli di età compresa tra 1 e 7 mesi, con un peso-carcassa inferiore a 160 kg (50 euro per capo). Questo aiuto è andato a beneficio sia degli allevatori produttori di carne, sia di quelli produttori di latte compensando la forte diminuzione di valore delle vacche di scarto registrata dopo la scoperta e la diffusione della Bse.

2.2.1 Il contributo per la produzione di latte

I contributi esaminati erogati ai produttori di latte si riferiscono a due annate produttive la 2003/2004 e la 2004/2005. Il contributo relativo all'annata 2005/2006 è stato oggetto del disaccoppiamento e dunque risulta compreso all'interno del Pua percepito dai singoli produttori sulla base del numero dei diritti acquisiti nel triennio di riferimento 2000-2002; dunque non è possibile considerarlo separatamente.

Occorre specificare che l'annata produttiva non fa riferimento all'anno solare, bensì al periodo di produzione che va dal 1 aprile al 31 marzo dell'anno successivo. Tale periodo coincide con quello di assegnazione a ciascun produttore della propria quota di produzione secondo il sistema di controllo, messo in atto dall'Ue a partire dal 1984, meglio noto come regime delle quote latte. Dunque il contributo sul latte viene assegnato al produttore sulla base del quantitativo di latte prodotto entro i limiti della propria quota di riferimento. Dopo il 31 marzo di ogni annata, i produttori hanno avuto due mesi di tempo (fino al 31 maggio) per presentare la domanda di assegnazione del contributo ad Agea. I contributi che noi esaminiamo corrispondono alle domande che sono state approvate e quindi passate in pagamento attraverso l'ente erogatore (Agea nel nostro caso). Dunque il numero dei beneficiari che si ricava dai dati che ci sono stati forniti da Agea dovrebbe corrispondere al numero dei produttori di latte in attività nei diversi anni, salvo come si è detto domande eventualmente non approvate per vizi di forma o presentate da produttori non titolari di quota latte, ecc.

Tabella 1 - Numero di beneficiari del contributo sulla produzione di latte in Emilia-Romagna (annate 2003/2004 e 2004/2005)

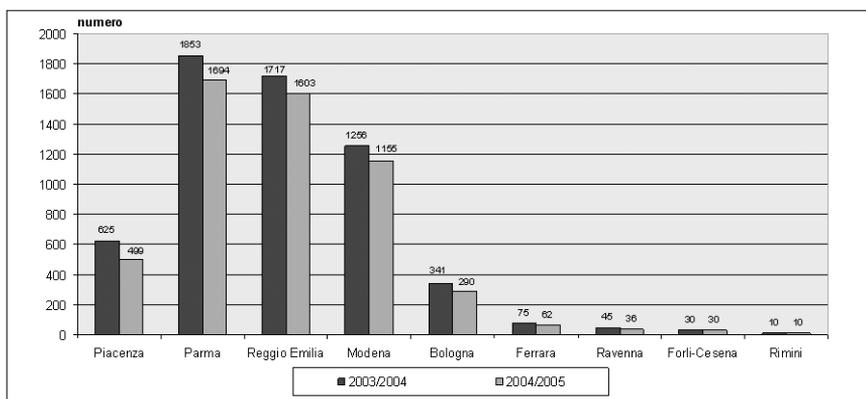
Province	2003/2004		2004/2005		Variazioni	
	Numero beneficiari	% sul totale	Numero beneficiari	% sul totale	Differenza	Calo %
Piacenza	625	10,5	499	9,3	126	20,2
Parma	1853	31,1	1694	31,5	159	8,6
Reggio Emilia	1717	28,8	1603	29,8	114	6,6
Modena	1256	21,1	1155	21,5	101	8,0
Bologna	341	5,7	290	5,4	51	15,0
Ferrara	75	1,3	62	1,2	13	17,3
Ravenna	45	0,8	36	0,7	9	20,0
Forlì-Cesena	30	0,5	30	0,6	0	0,0
Rimini	10	0,2	10	0,2	0	0,0
Totale	5952	100,0	5379	100,0	573	9,6

Fonte: nostra elaborazione su dati Agea

Il Grafico 1 mostra la ripartizione degli allevatori beneficiari del contributo per la produzione di latte nelle diverse province della regione Emilia-Romagna. Il primo elemento che si evidenzia è la concentrazione dei produttori in 3 province: Parma, Reggio-Emilia e Modena, i cui territori rientrano in toto nel Comprensorio di produzione del Parmigiano-Reggiano. Parma e Reggio Emilia da sole ospitano circa il 60% dei beneficiari della regione in entrambe le annate considerate, aggiungendo anche Modena la percentuale raggiunge e oltrepassa l'80%. Un numero meno consistente ma cospicuo di produttori è presente nelle province di Piacenza e di Bologna. Il resto della regione (Ferrara e tutta la Romagna) ha un numero di aziende beneficiarie molto limitato, meno del 3% del totale.

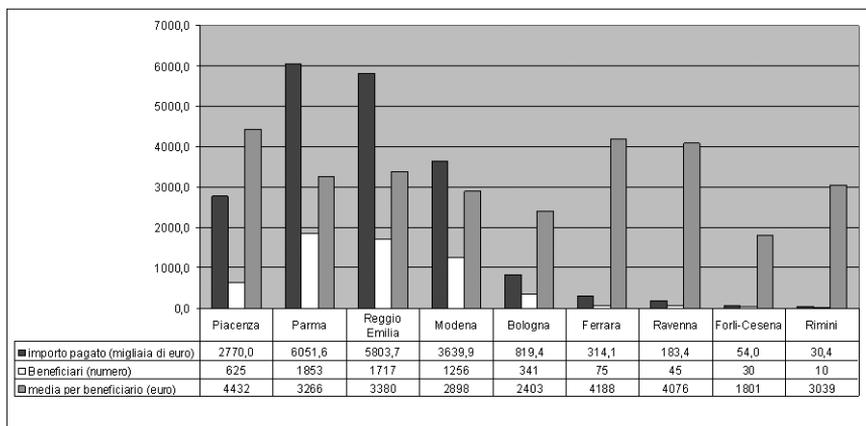
La Tabella 1 mostra la diminuzione del numero dei beneficiari nelle due annate produttive considerate. Il calo è stato percentualmente più contenuto nelle tre province di produzione del Parmigiano-Reggiano cui si faceva riferimento prima, anche se in termini assoluti la riduzione di aziende è rilevante: sono state ben 159 a Parma, oltre 100 nelle province di Reggio Emilia e Modena.

Grafico 1 - Numero di beneficiari del contributo sulla produzione di latte in Emilia-Romagna (annate 2003/2004 e 2004/2005)



Fonte: nostra elaborazione su dati Agrea

Grafico 2 - Confronto tra importo pagato ai produttori, numero dei beneficiari, e contributo medio erogato sulla produzione di latte in Emilia-Romagna (annata produttiva 2003/2004)

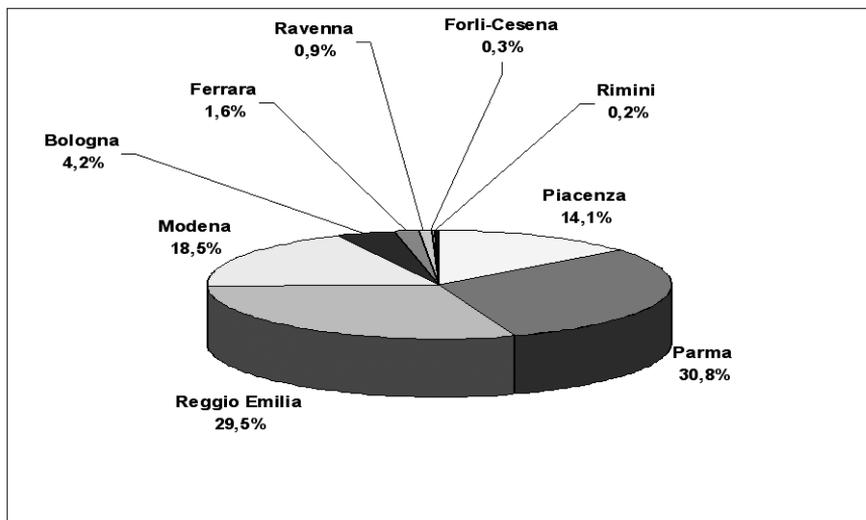


Fonte: nostra elaborazione su dati Agrea

Il Grafico 2 mette a confronto tre differenti grandezze relative ai contributi erogati nell'annata 2003/2004 ai produttori di latte dell'Emilia-Romagna suddivisi per provincia. La prima è il contributo totale erogato ai produttori delle diverse

province espressa in milioni di euro, la seconda rappresenta il numero dei beneficiari, mentre la terza esprime il compenso medio percepito da ciascun produttore. Si evidenzia che le province che hanno goduto dei pagamenti più elevati sono quelle facenti parte del Comprensorio di produzione del Parmigiano-Reggiano, come già osservato in precedenza relativamente al numero dei beneficiari, ma con differenze meno spiccate (per esempio Modena ha un numero di beneficiari pari a circa il doppio rispetto a Piacenza, ma il contributo percepito è di poco superiore, 3,6 milioni di euro rispetto a 2,7 milioni di euro). Il contributo medio percepito dai singoli produttori in queste tre province (Parma, Reggio Emilia e Modena) si aggira intorno ai 3.000 euro mentre è più elevato in altre province ricadenti al di fuori del Comprensorio di produzione del Parmigiano-Reggiano; nelle province di Piacenza, Ferrara e Ravenna l'aiuto medio per azienda supera i 4.000 euro, il che indica la presenza di aziende mediamente più grandi o comunque più produttive al di fuori dell'area di produzione del Parmigiano-Reggiano (infatti si è detto che questo contributo è proporzionale alla quantità di latte prodotto).

Grafico 3 - Entità dei contributi percepiti dai produttori di latte delle province dell'Emilia-Romagna nell'annata 2003/2004



Fonte: nostra elaborazione su dati Agrea

Il Grafico 3 mostra in particolare come è stato suddiviso l'aiuto relativo al latte tra le diverse province dell'Emilia-Romagna; Parma e Reggio Emilia da sole hanno avuto oltre il 60 % dei contributi erogati. Se si aggiunge anche Modena, le tre province di produzione del Parmigiano-Reggiano hanno beneficiato di quasi l'80% dei contributi relativi alla produzione di latte nel primo anno di erogazione di questo nuovo aiuto introdotto dalla riforma della Pac.

L'analisi di questi dati conferma la presenza di due zone differenti dal punto di vista della produzione zootecnica all'interno del territorio regionale; l'esistenza

del Comprensorio di produzione del Parmigiano-Reggiano ha determinato negli anni una differente capacità di sviluppo per le aziende produttrici di questo formaggio, che sono presenti in numero maggiore, ma hanno consistenza in termini di capi e capacità produttiva inferiore rispetto a quelle di altre province dell'Emilia-Romagna.

Lo studio mostra anche la diminuzione del numero delle aziende che producono latte, dato che conferma un trend preoccupante già in atto, registrato dal Censimento generale dell'agricoltura del 2000 e dai dati Istat successivi (7).

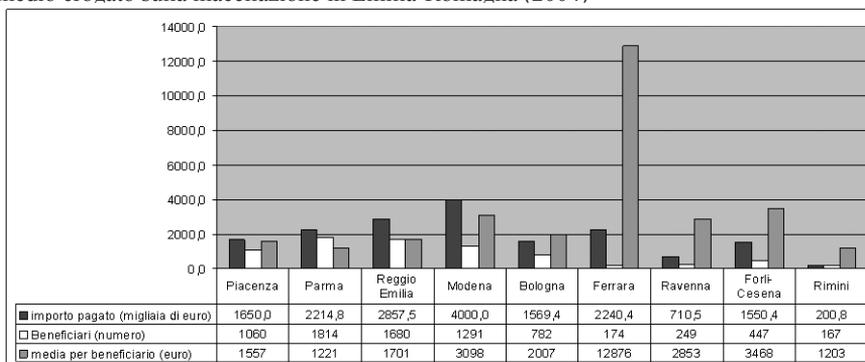
2.2.2 Il Contributo sulla macellazione

Passando all'analisi dei contributi erogati dall'Ue relativamente alla macellazione bovina, questi hanno riguardato capi bovini macellati con età superiore a 8 mesi, ed in misura inferiore anche i vitelli più giovani. A beneficiare di questo contributo sono stati dunque sia gli allevatori specializzati nella filiera produttiva della carne (vitelloni, scottone, vitelli), sia le aziende zootecniche specializzate nella produzione di latte; queste ultime hanno potuto richiedere l'aiuto relativamente alle vacche a fine carriera produttiva inviate al macello che in passato rappresentavano un'importante fonte di integrazione della Produzione Lorda Vendibile (Plv) aziendale.

Il Grafico 4 mostra i premi erogati agli allevatori relativamente alle macellazioni bovine dell'annata 2004. I dati si riferiscono agli aiuti percepiti nell'esercizio finanziario Agrea 2005, su domande presentate dai produttori nel 2004 e fino a febbraio 2005, e quindi relativi a capi macellati nell'annata 2004. Un primo aspetto che si osserva è che questi sono più equamente distribuiti tra le province dell'Emilia-Romagna, di quanto osservato in precedenza per quelli relativi alla produzione di latte (Grafico 5). Infatti pur essendoci una provincia, Modena, che ha percepito ben 4 milioni di euro, tutte le altre (eccetto Ravenna e Rimini) hanno ricevuto da 1,5 a 2,5 milioni di euro. Esaminando il contributo percepito dalle tre province di produzione del Parmigiano-Reggiano, emerge una situazione ben diversa da quella evidenziata relativamente al contributo sul latte. Infatti Parma e Reggio Emilia insieme hanno beneficiato di circa il 30% dei fondi erogati, che arrivano al 54% se comprendiamo anche Modena, ben lontano dall'80% visto per i premi relativi alla produzione di latte.

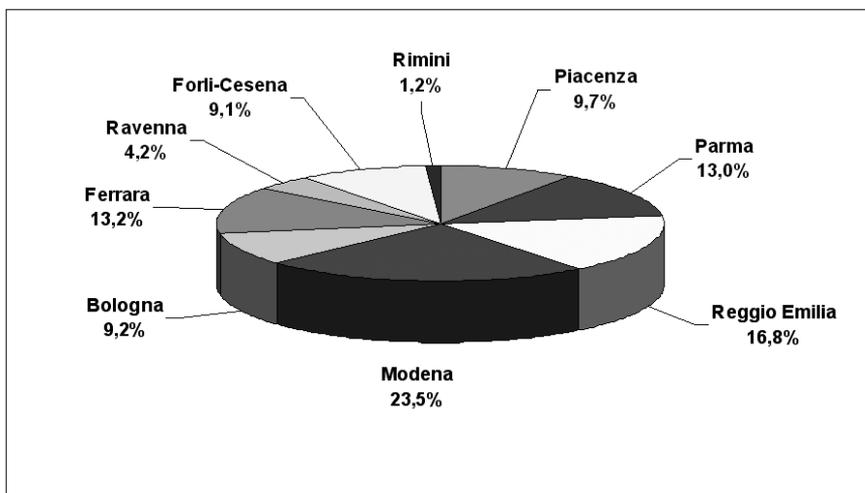
Il contributo medio per la macellazione percepito dal produttore risulta più elevato nelle province di Modena, Ravenna, Forlì-Cesena con circa 3.000 euro, ma soprattutto nella provincia di Ferrara in cui il contributo medio supera i 12.000 euro; è più basso invece sia a Parma che a Reggio Emilia, a testimonianza probabilmente della scarsa presenza di allevamenti da carne (nei quali il numero medio dei capi macellati è più elevato rispetto a quelli da latte presenti in queste due province).

Grafico 4 - Confronto tra importo pagato ai produttori, numero dei beneficiari e contributo medio erogato sulla macellazione in Emilia-Romagna (2004)

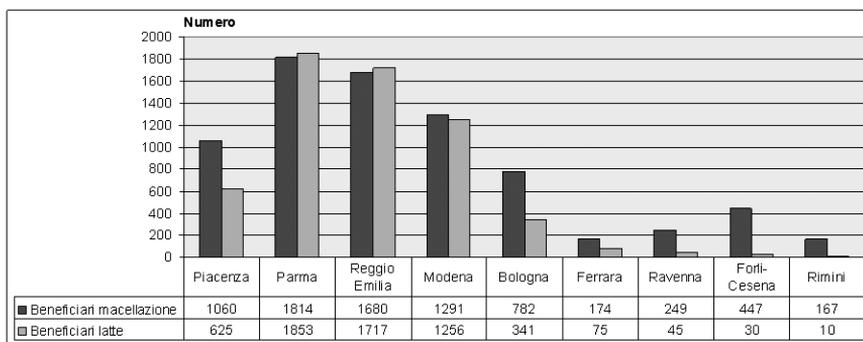


Fonte: nostra elaborazione su dati Agrea

Grafico 5 - Ripartizione dei contributi relativi alla macellazione bovina tra i produttori delle province dell'Emilia-Romagna (2004)



Fonte: nostra elaborazione su dati Agrea

Grafico 6 - Confronto tra il numero di beneficiari del contributo di macellazione e del contributo per la produzione di latte in Emilia-Romagna (2004)

Fonte: nostra elaborazione su dati Agrea

Inoltre si osserva che il numero dei beneficiari del contributo di macellazione è tendenzialmente più elevato di quello dei beneficiari del premio per il latte, e questo soprattutto nelle province che non fanno parte del Comprensorio di produzione del Parmigiano-Reggiano (Grafico 6). Le uniche due province in cui coloro che hanno ricevuto un contributo relativo alla produzione di latte sono meno di chi ha percepito il premio di macellazione, sono Parma e Reggio Emilia; in tutte le altre il numero degli allevatori che hanno percepito il contributo di macellazione è di gran lunga superiore alle domande presentate dai produttori di latte, segno della presenza sul territorio di numerosi allevamenti che producono carne.

3. La competitività delle imprese

3.1 Aspetti metodologici

Dopo aver analizzato la distribuzione territoriale dei contributi erogati dall'Ue relativamente alle aziende bovine della Regione Emilia-Romagna, per capire gli effetti generati dalla riforma della Pac sulle strategie delle imprese agricolo-zootecniche del nostro territorio, si è proceduto ad individuare un campione di aziende sulle quali approfondire la ricerca. Gli obiettivi dell'analisi sono la redazione del bilancio economico, ai fini della determinazione del reddito netto aziendale, e l'individuazione dell'incidenza dei contributi comunitari sulla gestione corrente, sulle modifiche strutturali e sul budget per investimenti a disposizione delle imprese.

La metodologia di studio prevede, come si accennava, la redazione del bilancio economico delle aziende individuate relativamente all'anno in corso. Per far ciò si è proceduto dapprima alla compilazione degli inventari delle diverse aziende al 1 gennaio 2007, quindi nel corso del 2007 sono stati raccolti i dati economici relativi all'annata agraria corrente. A fine anno verranno redatti gli inventari di chiusura dell'annata allo scopo di poter procedere all'elaborazione della contabilità in partita doppia di ogni singola azienda. La disponibilità del bilancio patrimoniale oltre a

quello economico consente la definizione dell'entità dei capitali investiti e fornisce così anche la situazione strutturale di ogni singola azienda.

Contemporaneamente sono stati esaminati i contributi comunitari delle aziende individuate percepiti a partire dall'anno 2003. Ciò consente di accertare la disponibilità e la tipologia degli aiuti prima e dopo l'applicazione della riforma della Pac.

3.2 Individuazione del campione di aziende

La scelta delle aziende è avvenuta avendo cura di individuare realtà produttive di dimensioni e potenzialità tali da poter affrontare le sfide future e i cambiamenti proposti dalla nuova Pac. Per tale motivo le 12 aziende individuate sono tutte, eccetto una, a stabulazione libera. Questa tipologia di allevamento ha consentito negli anni la crescita del numero di animali presenti nei singoli allevamenti e, grazie a una migliore e più corretta gestione delle bovine, ha determinato risparmi in termini di manodopera ed una maggiore produttività. Inoltre dal punto di vista del benessere animale, tanto richiesto dalla normativa comunitaria, la stabulazione libera risulta essere senz'altro la tipologia di allevamento più corretta, seconda soltanto all'allevamento degli animali al pascolo. Non va dimenticato che le già citate regole di benessere animale hanno posto in essere a partire dall'anno 2006 il divieto di tenere i vitelli al di sotto dei 6 mesi di vita (cosiddetti bagliotti) legati alla catena. Gli allevamenti che erano soliti utilizzare questa pratica hanno dovuto provvedere a modificare le loro stalle acquistando delle gabbie o creando dei box appositi in cui tenere liberi i giovani bovini. Le aziende sono state selezionate tra quelle il cui indirizzo produttivo prevalente è la produzione di latte per la trasformazione in Parmigiano-Reggiano, produzione rappresentativa della realtà locale. Solo un'azienda tra quelle individuate produce latte alimentare.

Fanno parte del campione anche tre aziende che producono Parmigiano-Reggiano biologico. Tale produzione normata dal Regolamento Ce n. 1804/99 (specifico per la produzione biologica del settore animale) si è accresciuta notevolmente in questi anni ed oggi le strutture che ottengono Parmigiano-Reggiano biologico sono circa una decina all'interno di ciascuna delle tre province del Comprensorio di produzione. Vedremo nel corso della trattazione i benefici di cui queste godono anche in termini di contributi comunitari.

L'azienda che produce latte alimentare rappresenta un tipo di produzione sempre presente nella realtà locale e che in periodi diversi (a seconda degli alterni momenti di mercato del settore di produzione del Parmigiano-Reggiano) ha rappresentato un'alternativa produttiva importante.

Relativamente alla struttura di trasformazione del latte sono state scelte sei aziende che conferiscono latte a caseifici cooperativi, quattro che sono dotate di caseificio aziendale mentre una fa trasformare il suo latte in conto lavorazione. La tipologia di lavorazione in caseificio aziendale si è diffusa in questi anni soprattutto nelle aziende che si sono ampliate e hanno raggiunto dimensioni abbastanza grandi da sostenere i costi della trasformazione in proprio del latte. Il caseificio sociale, pur vivendo un momento di crisi legato alla chiusura degli allevamenti piccoli o condotti da imprenditori anziani, rappresenta ancora la maggior parte delle strutture

di trasformazione del Parmigiano-Reggiano. Le strutture cooperative rimaste con un numero ridotto di soci hanno la necessità di fare delle aggregazioni tra realtà vicine per dar vita ad unità produttive più grandi e poter beneficiare conseguentemente delle necessarie economie di scala. Delle aziende individuate alcune svolgono anche altre attività oltre a quella primaria. Si tratta delle realtà cosiddette multifunzionali, che ottengono reddito da altre iniziative, quali l'agriturismo, la trasformazione e la vendita di prodotti vegetali e animali, attività di educazione e formazione. Per meglio mettere in evidenza i vantaggi che possano derivare da queste nuove attività del settore agricolo le aziende del campione sono state suddivise in due sottogruppi: le aziende convenzionali e le aziende multifunzionali (2).

Al primo gruppo appartengono le aziende che svolgono attività primaria tradizionale con l'ottenimento di derrate alimentari. Nel secondo abbiamo inserito le aziende che svolgono, oltre alla produzione primaria, altre attività che possono essere esercitate dall'imprenditore agricolo così come riconosciuto dal D.L. n. 228 del 18 maggio 2001, sono dunque imprese che hanno organizzato in maniera innovativa la vendita delle proprie produzioni cercando modalità alternative ai soliti canali di vendita all'ingrosso, creando un punto vendita in azienda, partecipando ai mercati locali, assegnando incarichi di vendita delle proprie produzioni a rappresentanti, prendendo personalmente accordi con negozi e ristoratori della zona; appartengono a questo secondo gruppo anche le aziende che fanno attività agrituristica o agricoltura biologica o attività di formazione (fattorie didattiche).

3.3 Le caratteristiche strutturali delle aziende del campione

Di seguito si presentano nella Tabella 2 i dati riassuntivi delle caratteristiche strutturali delle aziende prese in esame.

Tabella 2 - Caratteristiche strutturali delle aziende del campione

	U.M.	Valore
<i>Aziende</i>	n	12
<i>Sau/azienda</i>	ha	91,8
<i>Sat in proprietà/Sat</i>	%	44,0
<i>Sau f/ Sau</i>	%	82,5
<i>Ulu/Azienda</i>	n	4,4
<i>Ulu fam/Ulu</i>	%	60,8
<i>Sau/Ulu</i>	ha	21,0
<i>Ugb/azienda</i>	n	177,7
<i>Ugb/Sau</i>	n	1,9
<i>Ugb/Sau f</i>	n	2,3
<i>Ugb/Ulu</i>	n	40,5
<i>Upl/azienda</i>	n	125,5
<i>Upl/Ulu</i>	n	28,6
<i>Upl/Ugb</i>	%	70,6

Fonte: nostra elaborazione su dati aziendali

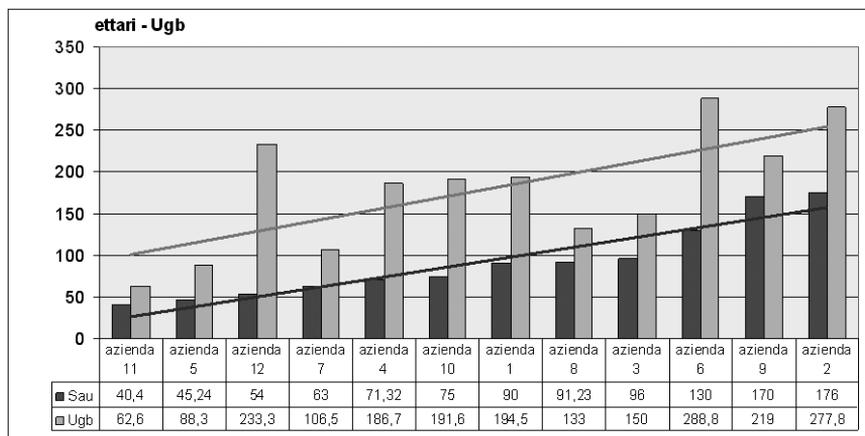
Si osserva che la Superficie agricola utile (Sau) media delle aziende considerate oltrepassa i 90 ettari, ed è di gran lunga superiore alla dimensione media regionale pari a 10,5 ettari di Sau e provinciale pari a 12,6 ettari di Sau (registrate dal censimento del 2000). Si fa notare anche l'incidenza del lavoro, pari mediamente a 4,4 Unità lavoro uomo (Ulu) per azienda, con una componente familiare che supera il 60% della forza lavoro impiegata. Si rileva l'importanza dell'affitto nella conduzione delle aziende (oltre il 50% dei terreni utilizzati), ed emerge la specializzazione produttiva zootecnica con l'82% della Sau investita a foraggiare, 178 Unità grosso bovino (Ugb) per azienda e 2,3 Ugb per ettaro di Sau foraggera.

Il confronto tra la dimensione aziendale (espressa dalla Sau) e il carico di bestiame (espresso dalle Ugb), pur mostrando una variabilità notevole, evidenzia che queste due grandezze sono correlate da una proporzionalità diretta, dunque all'aumentare della superficie agricola utile aumenta anche il numero dei capi bovini allevati (Grafico 7).

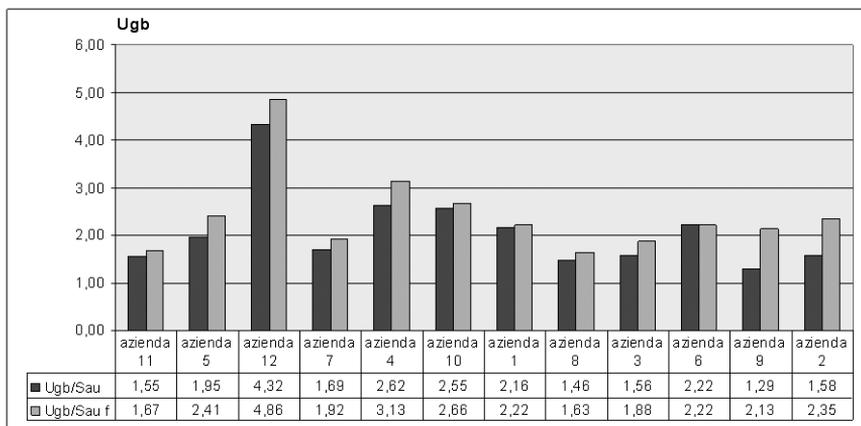
Un'azienda in particolare, quella che produce latte alimentare, ha evidentemente un grande carico bovino (oltre 200 Ugb) con soli 54 ettari di terreni a disposizione ed è quella che ha il più alto numero di Ugb per ettaro di Sau (4,86) a dimostrazione della sua intensificazione produttiva; 3 aziende pur non superando i 100 ettari di Sau, hanno un carico bovino vicino a 200 Ugb, e un numero di Ugb per ettaro di Sau compreso tra 2 e 3 (sono una convenzionale e 2 multifunzionali); l'azienda 6 è quella che ha il maggior carico di bestiame (288 Ugb) e un numero di Ugb per ettaro di Sau che supera i 2.

In generale comunque possiamo dire che la dimensione aziendale è correlata al peso della mandria allevata e che le aziende considerate sono rappresentative della realtà produttiva locale.

Grafico 7 - Confronto tra Superficie agricola utile (Sau) e Unità grosso bovino (Ugb)



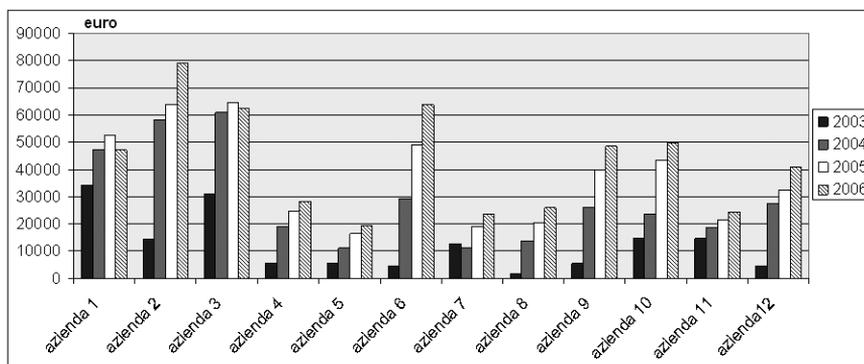
Fonte: nostra elaborazione su dati aziendali

Grafico 8 - Carico di bestiame (Ugb) per ettaro di Sau e di Sau foraggera

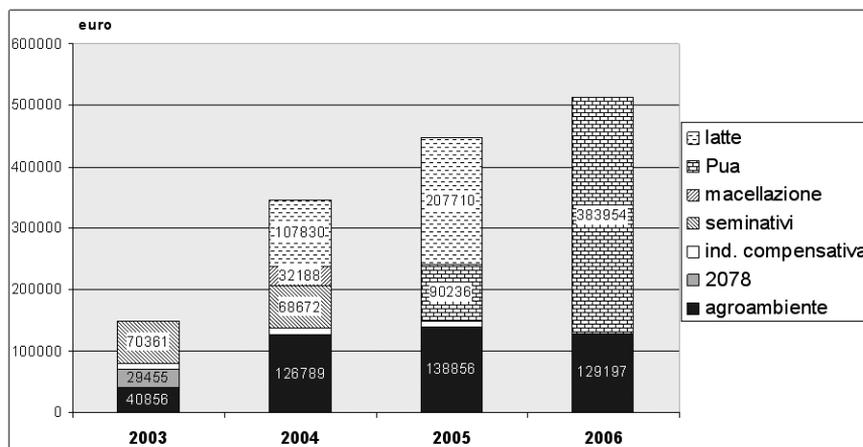
Fonte: nostra elaborazione su dati aziendali

3.4 I contributi comunitari percepiti dalle aziende del campione (2003-2006)

Abbiamo rilevato anche i contributi percepiti dalle aziende del campione nel corso del quadriennio 2003-2006. Il primo dato che si osserva è un generale aumento dei contributi percepiti globalmente dalle aziende (Grafico 9), ciò per effetto soprattutto dell'introduzione del contributo sulla produzione del latte che, come si è detto nel paragrafo 2.2.1, è stato introdotto a partire dall'annata produttiva 2003-2004 e ricevuto in pagamento dalle aziende nel corso del 2004.

Grafico 9 - Contributi percepiti dalle aziende del campione nel quadriennio 2003- 2006

Fonte: nostra elaborazione su dati Agrea

Grafico 10 - Tipologia dei contributi percepiti dalle aziende del campione nel quadriennio 2003- 2006

Fonte: nostra elaborazione su dati Agrea

L'aumento dei contributi per le diverse aziende è più o meno sensibile a seconda dei contributi di partenza e della quantità di latte prodotta, che è proporzionale all'entità dell'aiuto sul latte.

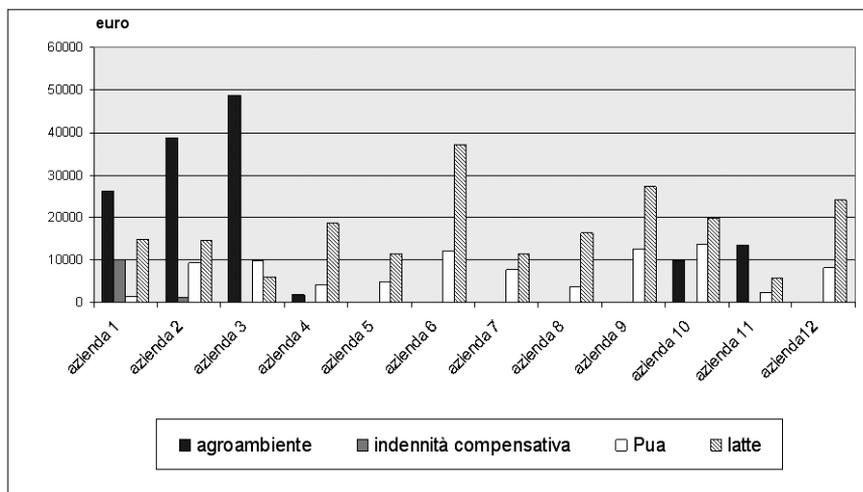
Nel complesso per le 12 aziende i contributi passano da circa 150.000 euro nel 2003 ad oltre 500.000 euro nel 2006, con un trend di crescita costante di oltre 150.000 euro all'anno (Grafico 10); dunque un aumento notevole. Osservando in dettaglio si evidenzia che permangono nei primi 3 anni i contributi relativi alle misure agroambientali previste dalla misura f) dell'Asse 2) del Piano di Sviluppo rurale (Psr) 2000-2006 e dal Regolamento 2078/92, per poi diminuire leggermente nel 2006. Rimangono pressoché stabili le indennità compensative previste per le zone svantaggiate, nel nostro caso a beneficio delle 2 aziende di montagna del campione.

Per quanto riguarda i contributi relativi ai seminativi questi rimangono abbastanza stabili nel 2003 e nel 2004 e confluiscono nel pagamento unico a partire dall'anno 2005, grazie al disaccoppiamento introdotto dalla riforma della Pac. Anche i contributi relativi alla macellazione dei bovini vengono disaccoppiati a partire dal medesimo anno e vanno a collocarsi all'interno del pagamento unico insieme ai seminativi. La somma di questi due contributi percepiti nel 2004 risulta essere di poco superiore all'importo della domanda unica del 2005, in quanto i diritti acquisiti col disaccoppiamento si riferiscono alla media relativa ai contributi percepiti nel triennio 2000-2002 ridotta per effetto della modulazione.

Il contributo sulla produzione di latte, introdotto nel 2004 nella misura di circa 1,1 euro per quintale di latte prodotto, rappresenta per le nostre aziende un vero e proprio nuovo sostegno. Si tratta infatti di un aiuto previsto dalla riforma della Pac per compensare la diminuzione dei prezzi d'intervento di latte in polvere e di burro (dei quali i nostri produttori non hanno mai beneficiato se non indirettamente). Il contributo è importante, nel 2004 è stato pari a circa 107 mila euro; nel 2005 il con-

tributo sul latte è raddoppiato a circa 2,2 euro per quintale, pari a 207 mila euro per le aziende del campione, rappresentando quasi la metà di tutti i contributi percepiti nell'annata. Nel 2006 il contributo sulla produzione di latte viene portato a circa 3,3 euro per quintale; l'Italia decide di attuare il disaccoppiamento anche di questo aiuto (poteva optare di farlo nel 2007) che confluisce anch'esso nel Pua, portandolo ad un totale di oltre 380.000 euro per le 12 aziende.

Grafico 11 - Tipologia di contributi percepiti dalle aziende del campione nel 2005



Fonte: nostra elaborazione su dati Agrea

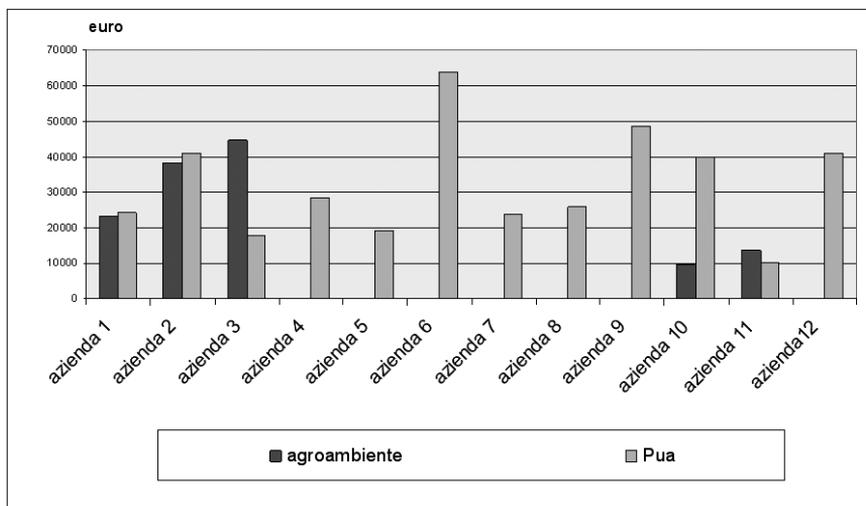
L'analisi dettagliata dei contributi percepiti nel 2005 dalle singole aziende del campione mostra le diversità esistenti all'interno delle aziende individuate (Grafico 11). Le aziende 1, 2, 3, 4, 10 e 11 hanno una quota rilevante dei propri aiuti che deriva dalle misure agroambientali previste dalla misura f) dell'asse 2) del Psr. L'azienda 1 e l'azienda 2 in particolare sono collocate in zona montana e percepiscono anche l'indennità compensativa prevista per le zone svantaggiate; le aziende 1, 2, 3 e 11 sono biologiche. Per quanto riguarda il contributo relativo alla domanda unica, questo è espressione dei diritti maturati dalle singole aziende e quindi dipende soprattutto dai seminativi e dalla macellazione del triennio di riferimento. Il contributo sul latte che è direttamente proporzionale alla produzione indica dunque la diversa capacità produttiva degli allevamenti legata al numero dei capi e alla produttività degli stessi.

Nel 2006 come già detto vengono disaccoppiati gli aiuti relativi alla produzione del latte che confluiscono nel Pagamento unico aziendale (Grafico 12). Gli unici contributi che le aziende percepiscono oltre quelli relativi al Pua, sono quelli relativi ai pagamenti agroambientali per le aziende che ne hanno diritto. Il contributo medio percepito dalle aziende nel 2006 è stato di 42.763 euro.

L'azienda che ha il maggior importo del Pua è la numero 6 (oltre 60.000

euro), mentre l'azienda che percepisce il maggior aiuto complessivo è la numero 2, che percepisce anche i compensi relativi alle misure agroambientali, per un totale di oltre 80.000 euro.

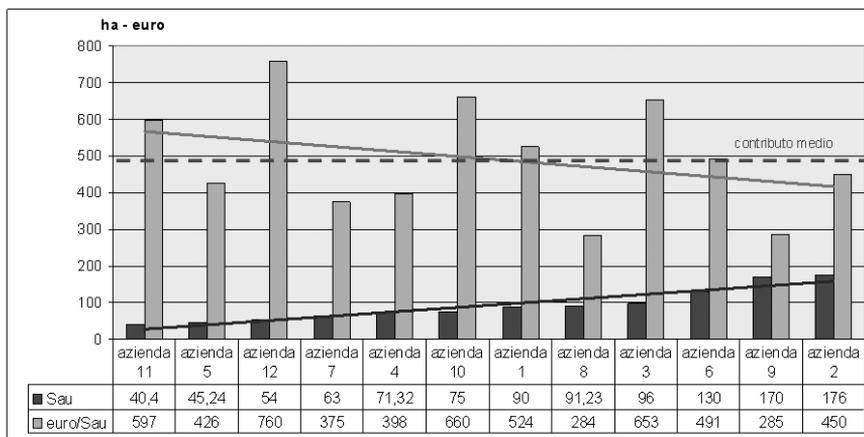
Grafico 12 - Tipologia di contributi percepiti dalle aziende del campione nel 2006



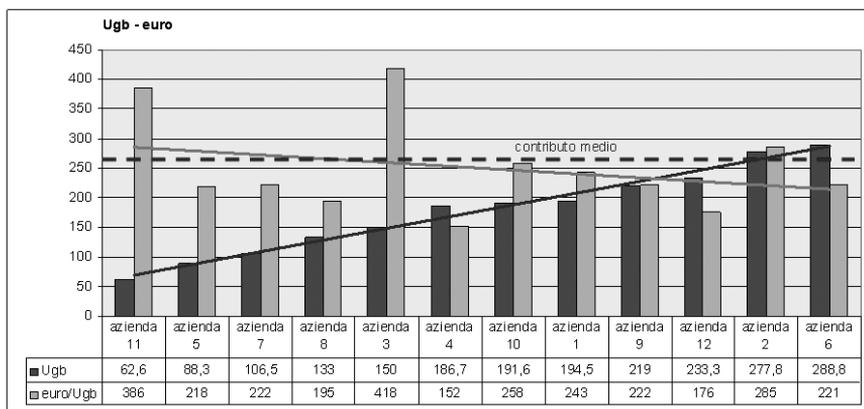
Fonte: nostra elaborazione su dati Agrea

Per analizzare più in dettaglio i contributi percepiti dalle aziende in rapporto alle dimensioni aziendali, ci siamo riferiti agli aiuti per superficie (Sau) (Grafico 13) e per unità grosso bovino (Ugb) (Grafico 14).

Si evidenzia che il contributo medio per ettaro di Sau sfiora i 500 euro. Ordinando le aziende in ordine di dimensione crescente, si osserva che esiste una relazione inversa tra la dimensione aziendale, espressa dalla Sau, e il contributo unitario per ettaro di Sau percepito dalle diverse realtà agricole considerate; non si tratta di una relazione spiccatamente definita, in quanto si osserva una notevole variabilità dei contributi tra le diverse aziende. Emerge nel gruppo in particolare l'azienda che produce latte alimentare che ha il contributo per ettaro di Sau più elevato (760 euro), che avevamo già rilevato in precedenza essere quella col maggior numero di Ugb per ettaro di Sau; ed effettivamente, proprio grazie al carico bovino elevato il contributo risulta essere così alto (si è detto che il contributo sulla produzione di latte è proporzionale al quantitativo di latte prodotto e quindi anche alla dimensione della mandria). Altre 3 aziende raggiungono e superano i 600 euro per ettaro di Sau, sono tra quelle che dispongono dei contributi agroambientali.

Grafico 13 - Aiuto unitario per ettaro di Sau (2006)

Fonte: nostra elaborazione su dati Agrea

Grafico 14 - Aiuto unitario per Ugb (2006)

Fonte: nostra elaborazione su dati Agrea

Per finire solo 2 aziende non raggiungono i 300 euro per ettaro di Sau, mentre le rimanenti 6 aziende hanno percepito un aiuto compreso tra i 400 e i 500 euro per ettaro di Sau.

Il Grafico 14 mostra il confronto tra il carico animale aziendale e il contributo unitario per Ugb percepito dagli allevatori. Ordinando le aziende per numero di Ugb crescenti si può osservare una relazione inversa tra le due grandezze, anche se esiste una variabilità piuttosto elevata nei contributi unitari per Ugb percepiti dagli allevatori. Due aziende in particolare si staccano dalla media e ricevono un aiuto per Ugb superiore ai 350 euro; entrambe percepiscono anche aiuti agroambientali. Sostanzialmente si osserva una distribuzione più uniforme rispetto all'aiuto unitario

rapportato all'unità di superficie visto in precedenza: le rimanenti aziende percepiscono un aiuto variabile da 150 a 250 euro per capo grosso bovino.

Quest'analisi mostra che le aziende più grandi hanno percepito dei contributi unitari (per ettaro di Sau e per Ugb) mediamente un po' più bassi, questo a dimostrazione che i contributi pur essendo stati disaccoppiati, derivano per lo più dal periodo di riferimento 2000-2002, e dal quantitativo di latte prodotto nel corso del 2006, ed evidentemente le aziende più piccole hanno mostrato di essere un po' più intensive.

4. Conclusioni

Le aziende zootecniche emiliano-romagnole, a fronte di un preoccupante fenomeno di chiusura degli allevamenti che è in atto da diversi anni e che persiste tuttora, hanno avuto nei contributi comunitari una fonte importante di sostegno economico. L'aiuto comunitario percepito dalle aziende del campione è aumentato notevolmente nei quattro anni presi in esame ed ha raggiunto il massimo nel 2006 (mediamente oltre 40.000 euro per azienda).

A determinare quest'incremento è stata soprattutto l'introduzione del contributo legato alla produzione di latte che è stato introdotto nel 2004, raddoppiato nel 2005 e che ha raggiunto il massimo nel 2006. Il disaccoppiamento di questo premio, avvenuto appunto nel corso del 2006, ha accresciuto notevolmente il valore dei diritti posseduti dalle aziende lattifere (l'analisi ha mostrato un contributo medio per ettaro per le aziende del campione vicino ai 500 euro). Ciò potrebbe costituire una motivazione di chiusura degli allevamenti; infatti la dismissione della produzione di latte, mantenendo un'attività minima di lavorazione dei suoli, non compromette il pagamento dell'aiuto disaccoppiato. Questo soprattutto per quei conduttori più anziani che avrebbero assicurata, almeno fino al 2012, una specie di pensione integrativa.

Altro contributo importante, percepito solo da alcune delle aziende del campione, è stato quello relativo alle misure agroambientali, rimasto piuttosto stabile nel corso del quadriennio considerato, che ha rappresentato comunque una fonte di reddito importante per le aziende che ne hanno beneficiato a compensazione degli sforzi fatti per il miglioramento delle proprie produzioni nel rispetto dell'ambiente. In questa direzione molto si attende anche dal nuovo Piano di sviluppo rurale (Psr), rimasto fermo per tutto il 2007, ma che dovrebbe essere finalmente attivo a partire dal 2008. Piano sul quale, non dimentichiamo, dovrebbero confluire le risorse recuperate mediante la modulazione messa in atto dall'ultima riforma della Pac.

In conclusione possiamo affermare che la dinamica dei sostegni comunitari alle aziende zootecniche della regione Emilia-Romagna ha subito notevoli cambiamenti nel periodo considerato e che l'introduzione della riforma di medio termine della Pac ha contribuito notevolmente a modificare la tipologia e l'importo degli aiuti percepiti dagli allevatori. Il confronto con la situazione precedente non è facile non avendo a disposizione dati economici aziendali che dimostrino, senza possibilità di dubbio, in che misura il reddito dell'imprenditore si sia modificato con l'applicazione della riforma. Quelle che si possono fare sono solo delle ipotesi. Partendo da una situazione produttiva molto particolare, quale può essere quella delle aziende del campione che sono specializzate nella produzione di Parmigiano-Reggiano, possiamo

osservare che per queste i tagli relativi ai prezzi di intervento di burro e latte in polvere non hanno di fatto determinato nessuna diminuzione diretta del prezzo di vendita del proprio prodotto. Di conseguenza le misure introdotte dal Reg. Ce 1782/03, che dovevano servire a compensare i tagli dei contributi percepiti dai produttori, hanno rappresentato di fatto un premio ulteriore per le aziende da latte. Il mercato lattiero-caseario nel corso del 2007 ha segnato un trend di forte aumento dei prezzi dei prodotti, quasi a dimostrare che la riduzione delle misure di mercato della Pac non ha determinato situazioni di difficoltà nemmeno ai produttori di latte europei.

Bibliografia

- 1) FERRI G. (2006). La riforma di medio termine della Politica Agricola Comunitaria con particolare riferimento al settore zootecnico. *Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Parma, XXVI*, 381-400.
- 2) HENKE R. (a cura di), (2004). Verso il riconoscimento di una agricoltura multifunzionale. *Teorie, politiche, strumenti*. Edizioni Scientifiche Italiane, INEA, Roma.
- 3) FRASCARELLI A. (2005). La riforma della PAC - Anno II. *Terra e Vita*, supplemento al n. 44.
- 4) INEA (2006). Le politiche agricole dell'Unione Europea, Rapporto 2004-05. Osservatorio sulle politiche agricole dell'UE. (<http://www.inea.it/opaue>) INEA-LG, Roma.
- 5) PRETOLANI R. (2004). Contenuti e problematiche della riforma in IreR - Riforma della PAC e impatto sul sistema agricolo lombardo. Rapporto finale, Milano.
- 6) SALGHETTI A., FERRI G. (2006). Nuove opportunità di reddito per l'imprenditore agricolo. *Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Parma, XXVI*, 359-379.
- 7) ISTAT (2004). V° Censimento Generale dell'Agricoltura, 2000, ISTAT, Roma.

STRATEGIE D'IMPRESA E MULTIFUNZIONALITA' IN AGRICOLTURA*

BUSINESS STRATEGIES AND MULTIFUNCTIONALITY IN AGRICULTURE

Salghetti A., Ferri G., Manghi E.**

PAROLE CHIAVE:

agricoltura, strategie d'impresa, multifunzionalità.

KEY WORDS:

Agriculture, business strategies, multifunctionality.

Riassunto

La multifunzionalità in agricoltura è oggetto di particolare attenzione da parte del mondo imprenditoriale e istituzionale, nella convinzione che rappresenti una grande opportunità per l'occupazione e l'ampliamento del budget delle aziende e che indirettamente favorisca la produzione di esternalità positive per la rivitalizzazione delle aree rurali.

Le nuove attività produttive e di servizi che oggi sono rese accessibili al settore agricolo richiedono un ripensamento delle funzioni imprenditoriali e l'adozione di nuove strategie che non possono più essere quelle tradizionali, ma orientate alla ricerca di nuovi equilibri in condizioni di permanente dinamicità.

Lo scopo della nostra indagine è quello di mettere a punto una metodologia di analisi economica che possa differenziare l'apporto delle attività connesse rispetto a quelle tradizionali all'interno del bilancio aziendale, quantificando la loro importanza e il ruolo che possono avere nel garantire continuità e sviluppo al settore agricolo.

Le rilevazioni contabili in corso interessano due gruppi di aziende zootecniche, con e senza attività connesse, dal loro confronto si potrà esprimere una valutazione di merito sulle strategie adottate dai diversi imprenditori alla ricerca delle soluzioni migliori per dare prospettive e sviluppo alle loro aziende.

Abstract

Multifunctionality in agriculture is the object of particular attention by the farming and institutional world, convinced that it represents a great opportunity for employment and the increase in farm budgets, and indirectly promoting the produc-

* Lavoro eseguito con finanziamento FIL (ex quota 60%). Lo studio è frutto di un lavoro comune dei tre autori. Tuttavia in sede di stesura del testo Andrea Salghetti ha redatto i paragrafi 1, 4, 5, 6; Elisa Manghi il paragrafo 2; mentre Giovanni Ferri ha redatto il paragrafo 3.

** Sezione di Risorse del Territorio, Dipartimento di Salute Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma.

tion of positive externalities for the revitalisation of rural areas. Today's new production activities and services made accessible to the agricultural sector require the re-thinking of business functions and the adoption of new strategies that can no longer be those traditionally used, but which must be oriented to the search for a new balance in conditions of permanent dynamicity.

The purpose of our survey is to highlight a methodology of economic analysis that leads to the differentiation of the contribution of ancillary activities compared to traditional ones in the farm balance sheets, quantifying their importance and the role they may have in guaranteeing continuity and development for the agricultural sector.

The accounting data gathered in the study involves two groups of zootechnical farms, with and without ancillary activities, and from their comparison it is possible to express an assessment of the strategies adopted by different farm businesses in identifying the best solutions offering prospects and development for their farms.

1. Introduzione

La riforma a medio termine della Pac ha rimesso in discussione il ruolo tradizionale dell'imprenditore agricolo e dello stesso settore produttivo, proponendo nuove prospettive di sviluppo nell'ambito di un'economia dinamica rivolta alla globalizzazione. In particolare al settore agricolo vengono riconosciute nuove funzioni imprenditoriali con l'allargamento delle competenze che si estendono ad attività precipue del passato nei settori secondario e terziario. Se poi teniamo conto dell'importanza dell'agricoltura nella salvaguardia del territorio e dell'ambiente, della sicurezza e qualità degli alimenti ecc. ben si addice il più moderno ruolo multifunzionale che oggi viene riconosciuto al settore agricolo.

La tradizionale funzione produttiva ricoperta dal settore nell'approvvigionamento di beni alimentari sarebbe stata limitativa delle possibilità di sviluppo dell'agricoltura. Infatti questa funzione può essere assolta compiutamente da un numero limitato di aziende, quelle più produttive ed efficienti, marginalizzando ulteriormente la parte più numerosa delle aziende precarie e dei relativi addetti. Inoltre le produzioni alimentari di massa sono disponibili sul mercato globale in grande quantità e a prezzi molto concorrenziali.

Per la salvaguardia del settore agricolo, in particolare dell'occupazione e del reddito delle famiglie contadine, era necessario trovare delle alternative che potessero attutire gli effetti della transizione verso un mercato globale.

Pertanto le strategie imprenditoriali non saranno più le stesse del passato, ripetitive di quanto è stato sempre fatto, ma dovranno trovare altri sbocchi, altre alternative, altre professionalità, anche non usuali per l'agricoltura. Il nuovo imprenditore agricolo è chiamato ad assumere nuove funzioni, nuovi ruoli che presuppongono una diversa strategia d'impresa con innovazioni non convenzionali, ma estese a nuove opportunità d'impresa e quindi di reddito (8).

Lo scopo è quello di assicurare alle famiglie agricole delle fonti di reddito alternative a quelle convenzionali per salvaguardare un bilancio familiare adeguato alle aspettative di un modello di vita analogo a quello delle famiglie di altri settori produttivi. Nell'ambito del processo evolutivo di differenziazione del settore agricolo,

abbiamo assistito in un primo tempo alla nascita delle aziende part-time e successivamente alla fuoriuscita dal settore delle imprese marginali. Con le nuove opportunità d'impresa e di reddito si dovrebbero allentare tali processi, non certamente arrestarsi, ben sapendo che gli addetti in agricoltura nel nostro paese sono ancora troppi e sono destinati a ridursi ulteriormente, in analogia con quanto è avvenuto negli altri paesi più sviluppati.

2. Le fonti di reddito delle famiglie agricole

2.1 L'attività agricola tradizionale

Nell'ultimo ventennio il contesto socio-economico nazionale ha subito un processo di profondo cambiamento che ha modificato il ruolo del settore agricolo tradizionale. Il settore agricolo sta oggi attraversando un momento di particolare disagio e incertezza, ciò è dovuto in parte alla poca competitività in termini di prezzo dei nostri prodotti agricoli rispetto a quelli internazionali, in parte alle ridotte dimensioni delle aziende italiane che non permettono di avvalersi delle economie di scala e non sono quindi in grado di ridurre i costi di produzione. In questo modo molte aziende agricole rischiano l'abbandono dell'attività e l'uscita dal settore primario.

Nel 2006 in Italia l'incidenza del settore agricolo sul totale dell'economia è stato del 2% pari ad un valore di 27.192 milioni di euro. Da un'indagine ISTAT nel 2005 in Italia sono state rilevate 1.728.532 aziende agricole, con una superficie agricola utilizzata (SAU) pari a 12.707.846 ettari. Rispetto al 2000 il numero delle aziende è nel complesso diminuito di 425.192 unità (-19,7%) e di 936.020 unità (-35,1%) rispetto al 1990, a fronte di una contrazione più contenuta della SAU che è diminuita del 2,7% dal 2000. Prosegue invece l'incremento della SAU media aziendale che è passata da 6,1 ettari nel 2000 a 7,4 nel 2005 con un aumento del 17,6%. In sostanza negli ultimi anni abbiamo assistito ad una continua contrazione del numero di aziende, sono scomparse nel giro di 15 anni oltre 1/3 delle aziende italiane, pur se ciò è stato compensato da un aumento della dimensione media della SAU (13).

Tabella 1: Aziende agricole, SAU e SAU media aziendale per ripartizione geografica (Anni 2000 e 2005).

AREE	AZIENDE (n)			SUPERFICIE AGRICOLA UTILIZZATA (ettari)			SAU MEDIA AZIENDALE		
	2005	2000	variazione % 2005/ 2000	2005	2000	variazione % 2005/ 2000	2005	2000	variazione % 2005/ 2000
Nord	453.935	580.116	-21,8	4.578.414	4.856.018	-5,7	10,1	8,4	16,8
Centro	281.784	375.916	-25,0	2.329.479	2.424.277	-3,9	8,3	6,4	22,9
Mezzogiorno	992.809	1.197.692	-17,1	5.799.953	5.781.961	0,3	5,8	4,8	17,2
ITALIA	1.728.532	2.153.724	-19,7	12.707.846	13.062.256	-2,7	7,4	6,1	17,6

Fonte: Istat

L'intensità delle variazioni intervenute, considerando l'ultimo quinquennio, sono risultate differenti nelle varie ripartizioni territoriali; la diminuzione delle aziende è stata più intensa nel centro (-25%) e nel nord Italia (-21,8%) e più contenuta nel Mezzogiorno (-17,1%), anche il calo della SAU è stata più intensa nel Nord Italia (-5,7%) e nel Centro Italia (-3,9%) rispetto al Mezzogiorno dove, seppur modestamente, è incrementata (+0,3%), infine la SAU media aziendale è in costante crescita in tutte le aree considerate anche se continuano a persistere differenze significative di valori, 10,1 è la SAU media aziendale nel Nord, 8,3 nel Centro e 5,8 nel Mezzogiorno (6).

Altro fattore rilevante dell'agricoltura italiana è la polverizzazione aziendale: nel 2005 il 49,3% delle aziende ha meno di 2 ettari e coltiva solo il 6% circa della SAU totale, mentre solo il 2,2% delle aziende ha più di 50 ettari concentrando però il 38,9% della SAU totale. La maggioranza delle aziende italiane risulta quindi di dimensioni piccola o piccolissima, a queste aziende si contrappongono poche aziende di grandi dimensioni, altamente specializzate e più competitive sul mercato. Il 39,7% della superficie totale delle aziende agricole nazionali, pari ad oltre 7 milioni di ettari, viene utilizzata per i seminativi e gli orti familiari, il 21,2% da boschi e arboricoltura da legno, il 18,8% da prati permanenti e pascoli, il 12,8% da coltivazioni legnose agrarie e il restante 7,5% da altre superfici. Fra i seminativi prevalgono le coltivazioni di cereali in particolar modo il frumento e il granturco da granella, mentre tra le coltivazioni legnose agrarie prevalgono l'olivo e la vite. Il settore cerealicolo nel 2005 è stato caratterizzato da una notevole flessione delle quantità prodotte, ciò in gran parte è dovuto ad un primo effetto della nuova politica agricola comunitaria che prevede il disaccoppiamento.

Anche il settore zootecnico è in costante flessione: gli allevamenti zootecnici nel 2005 hanno avuto una contrazione del 18,6% rispetto al 2003, ciò è in gran parte dovuto alla crisi del settore ovicolo. Nel 2005 le aziende con allevamenti erano 302.264, pari al 17,5% del totale di aziende agricole, la Campania e la Lombardia sono le regioni con maggior numero di allevamenti (11).

Il numero complessivo di persone impegnate nel settore agricolo, secondo un'indagine Istat, nel 2005 è di oltre 4 milioni di addetti, di cui 1.699.463 sono i conduttori, 1.427.994 sono la manodopera familiare e 1.039.966 sono altra manodopera aziendale; il dato complessivo risulta in calo dell'11,8% rispetto al 2003, tale riduzione è da attribuirsi in gran parte alla diminuzione della manodopera familiare (-13,2%) e degli operai a tempo determinato (-10,9%) e si presenta con valori elevati al Sud e nelle Isole (rispettivamente -15,7% e -23,2%), più contenuti al Centro (-10,6%) e con valori in crescita in alcune regioni del Nord.

Il nuovo assetto agricolo mostra chiaramente le difficoltà che si trova ad affrontare l'agricoltura italiana, a tal punto che oggi l'attività agricola è spesso non sufficiente a garantire la sopravvivenza degli ambiti rurali, come invece lo era in passato. La funzione primaria che l'agricoltura ha sempre svolto nel sistema economico, cioè quella di produrre alimenti, oggi non è più sufficiente e diviene necessario riconoscere all'agricoltura funzioni aggiuntive quali possono essere una funzione turistica, ricreativa, di presidio del territorio e di salvaguardia ambientale e paesaggistica, nasce così il concetto di agricoltura multifunzionale (6). Ciò ha portato all'affermarsi

di un dualismo agricolo che si è tradotto, a livello di occupazione della famiglia, in imprese full time e in imprese part-time; per le prime il reddito aziendale è sufficiente ai fabbisogni della famiglia, le aziende full time possono inoltre comprendere anche le aziende multisettoriali che accanto alle attività agricole tradizionali hanno sviluppato attività connesse come nel caso di attività agrituristiche, artigianali e didattiche e come nel caso di servizi di contoterzismo o di mantenimento del verde, mentre per le seconde il reddito aziendale non è sufficiente ai fabbisogni della famiglia, che dedica quindi all'agricoltura solo una parte del proprio tempo totale di lavoro, e di conseguenza i componenti della famiglia cercano, come integrazione di reddito, attività extra-agricole dando origine ad aziende pluriattive o aziende part-time (8).

2.2 Le attività connesse

La multifunzionalità, intesa come la capacità del settore primario di produrre beni e servizi secondari di varia natura, ha avuto un suo pieno riconoscimento politico con Agenda 2000, che ha permesso la coesistenza di forme di agricoltura diverse, orientate, non più alla semplice produzione di alimenti, ma alla cura del paesaggio rurale, al mantenimento della vitalità delle comunità rurali e dell'occupazione agricola, alla diversificazione delle attività. Oggi la multifunzionalità rappresenta quindi per l'imprenditore agricolo una nuova opportunità di occupazione e di reddito, può essere una via di sbocco alla precarietà e può assicurare la permanenza sul territorio di popolazione e di addetti agricoli specialmente nelle area di montagna e di collina.

A livello legislativo l'art. 2135 del Codice civile è stato modificato dall'art. 1 del Decreto legislativo n. 228/2001, avente per oggetto "Orientamento e modernizzazione del settore agricolo", in cui si considerano connesse alle attività agricole principali:

"...le attività esercitate dal medesimo imprenditore agricolo, dirette alla manipolazione, conservazione, trasformazione, commercializzazione e valorizzazione che abbiano ad oggetto prodotti ottenuti prevalentemente dalla coltivazione del fondo o del bosco o dell'allevamento di animali, nonché le attività dirette alla fornitura di beni e servizi mediante l'utilizzazione prevalente di attrezzature o risorse dell'azienda normalmente impiegate nell'attività agricola esercitata, ivi comprese le attività di valorizzazione del territorio e del patrimonio rurale, e forestale, ovvero di ricezione ed ospitalità come definite dalla legge".

Alla luce di ciò anche la normativa fiscale è stata modificata, facendo rientrare alcune attività connesse nel reddito agrario dei terreni. Il 19 marzo 2004 è stato emanato un DM, pubblicato nella G.U. n. 78 del 2 aprile 2004, con un primo elenco delle attività connesse rientranti nel reddito agrario, tale decreto è stato applicato per il biennio 2004, 2005 e dal momento che per il biennio successivo non è stato emanato per tempo un decreto sostitutivo è stato applicato anche per il periodo d'imposta 2006; per gli anni 2007 e 2008 si dovrà invece far riferimento al nuovo DM del 26 ottobre 2007, pubblicato sulla G.U. n. 264 del 13 novembre.

La tabella allegata al DM del 26 ottobre 2007 va a sostituire non solo quella

del precedente decreto ma anche quella del DM dell'11 luglio 2007. Rispetto al DM dell'11 luglio 2007, nel più recente decreto sono state inserite fra le attività connesse che rientrano nel reddito agrario anche le attività di manipolazione di prodotti derivanti dalle coltivazioni di cui alle classi 1.11, 1.12 e 1.13 (Codici Atecofin). Inoltre vengono incluse anche altre attività, non rientranti nel DM del 19 marzo 2004, riguardanti la produzione di prosciutti, salami ed insaccati che normalmente rappresentavano un'attività esercitata dagli allevatori (ex 15.13.0), la disidratazione di erba medica che era un'attività praticata normalmente dai produttori agricoli di foraggio (ex 15.71.0), la lavorazione, raffinazione e confezionamento del miele (ex 15.89.0), le attività relative alla piscicoltura, con riguardo, in particolare, alla produzione di filetti di pesce (ex 15.20.1 e ex 15.20.2).

Tabella 2: Attività connesse rientranti nel reddito agrario

Ordine	Descrizione delle attività connesse	Codici Atecofin
1	Produzione di carni e prodotti della loro macellazione	15.11.0- 15.12.0
2	Produzione di carne essicata, salata o affumicata (speck, prosciutti crudo, bresaola), produzione di salsicce e salami	Ex 15.13.0
3	Lavorazione e conservazione delle patate, escluse le produzioni di pure di patate disidratato, di snak a base di patate, di patate fritte e la sbucciatura industriale delle patate	15.31.0
4	Produzione di succhi di frutta e ortaggi	15.32.0
5	Lavorazione e conservazione di frutta e ortaggi	15.33.0
6	Produzione di olio d'oliva e di semi oleosi	01.13.2 - 15.41.1- 15.41.2
7	Produzione di olio di semi di granturco (olio di mais)	Ex 15.62.0
8	Trattamento igienico del latte e produzione di derivati del latte	01.21.0- 01.22.1- 15.51.1- 15.51.2
9	Lavorazione delle granaglie	Da 15.61.1 a 15.61.3
10	Produzione di vini	01.13.1- 15.93.1 - 15.93.2
11	Produzione di aceto	Ex 15.87.0
12	Produzione di sidro e altre bevande fermentate	Ex 15.94.0
13	Disidratazione di erba medica	Ex 15.71.0
14	Lavorazione, raffinazione e confezionamento del miele	Ex 15.89.0
15	Conservazione di pesce, crostacei e molluschi, interi, mediante congelamento, surgelamento, essiccazione, affumicatura, salatura, immersione in salamoia e produzione di filetti di pesce	Ex 15.20.1 e ex 15.20.2
16	Manipolazione di prodotti derivanti dalle coltivazioni, nonché di quelli derivanti dalle attività di cui ai sopraelenchiati gruppi e classi	01.11, 01.12 e 01.13

Fonte: Aggiornate al Decreto Ministeriale 26 ottobre 2007, pubblicato sulla G.U. n.264 del 13 novembre 2007

Il nuovo DM introduce quindi nuove tipologie di prodotti, ottenuti dalla la-

vorazione di prodotti agricoli, che vanno soggetti a reddito agrario e non più a reddito d'impresa. La tassazione catastale, che può essere invocata dalle imprese agricole condotte da persone fisiche, società semplici ed enti non commerciali, è limitata alle attività di manipolazione e trasformazione dei prodotti agricoli, viene esclusa cioè la semplice commercializzazione che rimane reddito d'impresa. Il reddito delle attività connesse non rientranti nell'elenco ministeriale verrà determinato applicando il 15% dell'ammontare dei corrispettivi registrati ai fini dell'Iva.

Nel 2005 secondo una indagine ISTAT le aziende agricole con attività connesse, intese come quelle attività diverse dalle tradizionali attività di coltivazione e di allevamento, sono 105.394, in aumento del 17,7% rispetto al 2003, sono distribuite per il 40,8% nel Mezzogiorno, per il 37,5% nel Nord e per il 21,7% nel Centro. Le attività connesse all'agricoltura rilevate sono di varia natura: l'agriturismo, le attività di artigianato, la lavorazione dei prodotti agricoli vegetali, la lavorazione di prodotti agricoli animali, la lavorazione del legno, la produzione di energia rinnovabile, l'acquacoltura, i lavori per conto terzi effettuati utilizzando le attrezzature dell'azienda, le attività ricreative, la produzione di mangimi completi e complementari e altre attività (13).

Le attività connesse più rappresentative sono la trasformazione di prodotti vegetali (73.869 aziende), la trasformazione di prodotti animali (17.646 aziende) e l'agriturismo (12.705 aziende). Nel complesso le aziende con attività connesse rappresentano solo il 6,1% delle aziende totali e risultano per lo più aziende di media e piccola o piccolissima dimensione: il 55,8% delle aziende ha una SAU compresa tra i 2 e i 50 ettari, il 38,2% ha SAU inferiore ai 2 ettari e solo il 6% ha SAU oltre i 50 ettari. In particolare le aziende con solo un'attività connessa sono le aziende di piccola o piccolissima dimensione, le aziende con due attività connesse sono quelle di media dimensione e le aziende con tre o più attività connesse sono le aziende di grandi dimensioni, quindi ne risulta che all'aumentare della multifunzionalità corrisponde una maggiore dimensione aziendale.

2.3 Il Part-time

Il Decreto Legislativo 29 marzo 2004 n. 99 ("Disposizioni in materia di soggetti e attività, integrità aziendale e semplificazioni amministrativa in agricoltura") ha apportato una serie considerevole di innovazioni in materia di riconoscimento delle figure professionali esistenti in agricoltura. Viene definito, nel citato decreto, imprenditore agricolo professionale (IAP) colui il quale, in possesso di conoscenze e competenze professionali, dedica alle attività agricole e alle attività connesse di cui all'art. 2135 del Codice Civile, direttamente o in qualità di socio di società, almeno il 50% del proprio tempo di lavoro complessivo e che ricavi dalle attività medesime almeno il 50% del proprio reddito globale da lavoro. Per gli imprenditori che operano in zone svantaggiate, individuate nei Piani di sviluppo regionale, la soglia sia del tempo di lavoro che del reddito si abbassa al 25%.

Dalle rilevazioni del Censimento generale dell'agricoltura del 2000 risulta che in Italia il 73,5% dei conduttori (pari a 1.892.659 conduttori) non svolgono alcuna attività remunerativa fuori dalla propria azienda (conduttori full time), mentre

il 26,5% (pari a 684.135 conduttori) svolge attività lavorative anche all'esterno della propria azienda (conduttori part-time). Rispetto al 1990 si è registrata una flessione del 17% dei conduttori part-time. La maggior parte dei conduttori part-time, il 97,1%, dedica ad attività lavorative extra-aziendali più del 50% del proprio tempo di lavoro e in questo caso si parla di conduttori part-time prevalente, mentre solo il 2,9% di loro dedica all'attività lavorativa extra-azienda meno del 50% del proprio tempo di lavoro e in questo caso si parla di conduttori part-time secondari. I settori di attività nei quali i part-timers trovano principalmente impiego è rappresentato dall'industria (175.298 aziende con conduttori part-time), seguono il settore dei servizi (165.525 aziende con conduttori part-time), il commercio, i pubblici esercizi ed alberghi (117.169 aziende con conduttori part-time).

Tabella 3: Aziende secondo l'attività aziendale ed extra-aziendale del conduttore

Conduttori	Numero di aziende	Valore percentuale
Full time	1.892.659	73,5
Part time secondario	19.058	0,7
Part time prevalente	665.077	25,8
TOTALE	2.576.794	100,0

Fonte: Istat, V° Censimento Generale dell'Agricoltura

È importante distinguere le situazioni in cui è il solo conduttore dell'azienda a svolgere contemporaneamente attività aziendali ed extra-aziendali, da quelle situazioni in cui la combinazione di queste attività riguarda l'intera famiglia. Si parla in genere di pluriattività quando almeno un componente della famiglia, titolare della conduzione di un'azienda agricola, svolge attività esterne a quelle aziendali. Il part-time del solo conduttore risulta essere quindi un caso specifico di pluriattività familiare. Il ricorso a forme di part-time da parte dei conduttori dipende da una serie di fattori quali la dimensione aziendale, la capacità reddituale dell'azienda stessa, le opportunità di integrazione del reddito offerte dal contesto esterno, le opportunità di integrazione con altre attività extra-aziendali, fattori interni alla famiglia quali la composizione familiare e la capacità lavorativa della famiglia. In Italia il ricorso al part-time, in particolare nelle zone svantaggiate, evita molto spesso l'abbandono del territorio e dell'attività agricola in quanto il reddito della sola attività agricola risulta non sufficiente ai fabbisogni della famiglia.

3. La multifunzionalità in agricoltura

3.1 Le caratteristiche

La multifunzionalità dell'agricoltura rappresenta una delle chiavi strategiche di valorizzazione e sviluppo del settore. A livello nazionale l'Istat rileva le attività multifunzionali come quelle attività diverse da quelle prettamente agricole di coltivazione e allevamento ma ad esse connesse e svolte comunque mediante utiliz-

zo di risorse dell'azienda o di suoi prodotti. Secondo l'Unione europea, il termine multifunzionalità illustra "il nesso fondamentale tra agricoltura sostenibile, sicurezza alimentare, equilibrio territoriale, conservazione del paesaggio e dell'ambiente, nonché garanzia dell'approvvigionamento alimentare". Il settore primario non è più considerato per la sola funzione di produzioni di derrate alimentari, ma assume nuove importanti funzioni nella tutela e conservazione dell'ambiente. Questo nuovo ruolo del mondo agricolo generato dalle indicazioni della Politica agricola comunitaria (Pac) già a partire dagli anni 80, viene riconosciuto a livello di legislazione nazionale attraverso il D.L. n. 228/2001 che dà una nuova configurazione giuridica e funzionale all'impresa agraria e amplia il numero di attività che possono essere svolte dal settore agricolo.

La modificazione normativa incoraggia in maniera decisa una grande apertura alle attività che possono essere attuate in ambito rurale, ma differenti dalla funzione produttiva primaria. La specializzazione produttiva ha portato ad aziende che per poter essere competitive hanno bisogno di far leva sulle cosiddette economie di scala, e quindi ampliare continuamente la base produttiva e la quantità ottenuta al fine di ridurre i costi di produzione. La conseguenza è la presenza di aziende sempre più grandi in cui l'introduzione dell'innovazione deve condurre alla riduzione dei costi; ciò risulta tanto più evidente nelle aziende zootecniche in cui il passaggio dalla stabulazione fissa a quella libera ha portato senz'altro a notevoli miglioramenti produttivi in termini di benessere animale, ma soprattutto ha ridotto l'utilizzo di manodopera.

Tale evoluzione, che si è accompagnata negli anni ad un notevole calo del numero delle aziende agricole e della superficie agricola utilizzata (Sau), soprattutto nelle aree montane del nostro Appennino, rende difficile il permanere di attività agricole in aree marginali, in quanto troppo onerose in relazione alle minori produzioni ottenute. Ciò nonostante sono sorte delle realtà aziendali anche in questi territori, in controtendenza alla logica produttivistica, che hanno saputo cogliere le occasioni messe in atto dai nuovi orientamenti di Politica agricola comunitaria e dalla legislazione nazionale. Fin dagli anni '80 infatti l'Ue ha abbandonato la politica di sostegno dei prezzi, che aveva generato delle scorte eccessive soprattutto di cereali, soia e latte in polvere e ha attuato delle contromisure che consentissero di limitare l'agricoltura intensiva a favore di un'agricoltura più sostenibile, a tutto vantaggio del rispetto per l'ambiente. L'aiuto compensativo è stato spostato dapprima sull'ettaro coltivato, poi con l'ultima riforma della Pac (2003) è andato a beneficio diretto del produttore diventando un diritto nominativo e liberando lo stesso dal vincolo della produzione di determinate coltivazioni, lasciandogli la possibilità di scegliere quella più conveniente sul mercato.

Parallelamente sono stati introdotti degli aiuti per favorire la cosiddetta rifo-restazione con impianti di siepi o piante in montagna, ma anche in pianura. Dunque chi ha saputo cogliere le nuove opportunità che venivano prospettate a livello comunitario e nazionale ha iniziato ad affiancare alla produzione agricola tradizionale altre attività, dall'agriturismo, alla trasformazione di prodotti in azienda (formaggi, salumi, conserve vegetali, ecc), alla creazione di spacci aziendali, alla partecipazione ai mercati locali, ecc.

3.2 Le tipologie

Prendiamo in esame le forme più rappresentative della multifunzionalità.

Agriturismo - Una delle prime attività complementari all'attività agricola tradizionale è stata quella agrituristica, disciplinata dalla legge n. 63/2006 che ha sostituito la prima legge nazionale la n. 730/1985. I primi imprenditori agricoli che iniziarono questo tipo di offerta turistica all'interno della propria azienda erano di solito collocati in aree marginali, ad esempio in zone montane. L'approccio iniziale è piuttosto semplice e le prime attività offrono servizi di ristorazione od alloggio a livello molto familiare.

Per la nuova legge sono considerate attività agrituristiche tutte le attività di ricezione e ospitalità esercitate dagli imprenditori agricoli di cui all'articolo 2135 del codice civile, anche nella forma di società di capitali o di persone, oppure associati fra loro. Possono essere addetti allo svolgimento dell'attività agrituristica l'imprenditore agricolo e i suoi familiari, nonché i lavoratori dipendenti a tempo determinato, indeterminato e parziale, i quali sono considerati lavoratori agricoli ai fini della vigente disciplina previdenziale, assicurativa e fiscale. L'articolo 2 al comma 3 specifica le attività che rientrano tra quelle agrituristiche:

- dare ospitalità in alloggi o in spazi aperti destinati alla sosta di campeggiatori;
- somministrare pasti e bevande costituiti prevalentemente da prodotti propri e da prodotti di aziende agricole della zona, ivi compresi i prodotti a carattere alcolico e superalcolico, con preferenza per i prodotti tipici e caratterizzati dai marchi DOP, IGP, IGT, DOC e DOCG o compresi nell'elenco nazionale dei prodotti agroalimentari tradizionali (sono considerati di propria produzione anche quelli ricavati da materie prime dell'azienda agricola seppur lavorati esternamente);
- organizzare degustazioni di prodotti aziendali, inclusa la mescita di vini;
- organizzare attività ricreative, culturali, didattiche, di pratica sportiva, nonché escursionistiche.

Ai fini del riconoscimento delle diverse qualifiche di imprenditore agricolo, il reddito proveniente dall'attività agrituristica è considerato reddito agricolo. La concessione delle autorizzazioni avviene da parte dei comuni, mentre criteri, limiti ed obblighi amministrativi per lo svolgimento dell'attività agrituristica sono fissati dalle regioni che hanno anche il compito di istituire l'elenco dei soggetti abilitati all'esercizio delle attività agrituristiche.

La diffusione dell'agriturismo in Italia in questi anni è stata notevole, si è passati dalle circa 6.000 aziende del 1985 alle 6.800 del 1990, fino alle 16.765 del 2006. La Tabella 4 mostra il notevole aumento delle aziende con ristorazione che sono passate da 800 nel 1985 a 7.877 nel 2006. Il numero dei posti letto invece è più che triplicato dal 1985 al 2006 passando da 55.000 a 167.053.

Tabella 4: Evoluzione dell'attività agrituristica in Italia (n)

Descrizione	ANNO								
	1985	1990	1997	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Az. agrituristiche	6.000	6.800	7.500	9.700	11.500	13.019	14.017	15.327	16.765
Posti letto	55.000	85.000	105.000	110.000	118.000	130.195	140.685	150.856	167.053
Az. con ristorazione	800	1.800	4.000	4.700	7.200	6.193	6.833	7.201	7.877
Az. con equitazione	500	1.000	1.500	1.300	1.500	1.364	1.494	1.478	1.535

Fonte: Istat

La ripartizione geografica dell'attività agrituristica, vede alcune regioni in cui questa è storicamente concentrata: Toscana, Trentino Alto Adige, ma oggi è significativa anche in Veneto, Lombardia e Umbria. Nel 2006 oltre il 45% delle aziende risultava ubicato nelle regioni del Nord. La sola Provincia autonoma di Bolzano rappresentava da sola oltre il 17% del totale nazionale. Nelle regioni centrali era localizzato circa il 35% delle aziende agrituristiche con una significativa concentrazione in Toscana, quasi il 23% del totale nazionale. Nelle regioni meridionali e nelle isole la presenza di tali aziende era più bassa (circa 19%), ma in profonda evoluzione (14).

Agricoltura biologica - Anche l'agricoltura biologica ha avuto un ruolo molto importante e riconosciuto nella valorizzazione dell'agricoltura come produttrice di externalità positive per l'intera collettività. Si tratta di produzioni ottenute senza l'utilizzo di prodotti chimici di sintesi (concimi, prodotti fitosanitari), ma utilizzando esclusivamente prodotti naturali. Questa modalità di produrre riconosciuta da due regolamenti comunitari (Reg. Ce n. 834/2007 e n. 1804/1999) è stata applicata in Italia con grande passione da imprenditori che hanno creduto in un'agricoltura non intensiva che ottenesse prodotti salubri e di qualità. Per questo si è fatto ricorso a pratiche culturali e rimedi naturali antichi recuperati dal passato.

In Italia in 11 anni la superficie biologica è più che quintuplicata passando dai circa 200.000 ettari del 1995 a 1.147.459 ettari nel 2006. La superficie investita è rappresentata in gran parte da foraggi, cereali, prati e pascoli che insieme occupano circa il 73% della superficie destinata a colture biologiche. Parallelamente anche il numero degli operatori biologici in Italia nel medesimo periodo è quintuplicato, erano 10.851 nel 1995 e sono arrivati a 51.034 nel 2006; di questi quasi il 90% sono aziende agricole produttrici.

Oggi l'Italia è il maggiore produttore biologico della Ue e quarto a livello mondiale. Il fatturato di questo settore è stato nel 2006 di circa 1,6 miliardi di euro a fronte di quello della Ue di circa 14 miliardi di euro (10).

Interessante è notare che tra gli operatori che si occupano della vendita del prodotto biologico la maggior parte è rappresentata da aziende ed agriturismi che fanno vendita diretta (2.163 punti vendita), e da negozi specializzati (1.094 punti vendita), entrambi in aumento del 7,5% rispetto al 2005. In calo invece la vendita di prodotti biologici all'interno del circuito della GDO (- 2,6%) (11).

Biodiversità - Le esternalità positive attese dal settore primario derivano anche dallo sviluppo di un'agricoltura sostenibile che tuteli e conservi le diverse specie sia animali che vegetali. La salvaguardia della biodiversità è una delle priorità a livello comunitario finanziata da un apposito programma (Life) con ben 2,1 miliardi di euro nel periodo 2007-2013.

Già dal 1992, con la Direttiva n. 92/43/CEE relativa alla "Conservazione degli habitat naturali e seminaturali e della flora e della fauna selvatiche", meglio conosciuta come "Habitat", l'Ue ha previsto di contribuire a preservare la biodiversità attraverso la costituzione della rete Natura 2000. Si tratta di una serie di aree destinate alla tutela di habitat e specie animali e vegetali particolarmente rari elencati negli allegati I e II della medesima direttiva. Si prevede che gli Stati dell'Unione Europea contribuiscano alla costituzione della rete ecologica Natura 2000 in funzione della presenza e della rappresentatività sul proprio territorio di questi ambienti e delle specie, individuando aree di particolare pregio ambientale denominate Siti di Importanza Comunitaria (Sic), ai quali vanno aggiunte le Zone di Protezione Speciale (Zps), previste dalla Direttiva "Uccelli" n. 409 del 1979.

In Italia con la Legge n. 157/1992 e i DPR n. 357/1997 e n. 120/2003 sono state recepite le indicazioni provenienti dalle direttive comunitarie sopra citate. Il ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio ha istituito con il DM 25/3/05 oltre 500 Zps e quasi 3000 Sic per i quali sono state individuate una serie di misure relative ad agricoltura, infrastrutture, attività venatoria, cave e discariche.

In Emilia-Romagna la Rete Natura 2000 è costituita da 146 aree corrispondenti a circa 256.800 ettari, tra cui 127 Sic e 75 Zps (è da tenere presente che in alcuni casi Sic e Zps coincidono).

Produzioni di qualità - Tra i benefici attesi e forniti dal settore agricolo vi è anche la realizzazione di prodotti di qualità, riconosciuti a livello comunitario con la denominazione di origine. Si tratta di una certificazione volontaria attraverso la quale il produttore mira a garantire al consumatore determinate caratteristiche relativamente all'origine e alla trasformazione del proprio prodotto.

La modalità è indicata da due regolamenti comunitari, il Reg. Ce n. 2081/1992 relativo alle Denominazioni di Origine Protetta (Dop) e alle Indicazioni Geografiche Protette (Igp) e il Reg. Ce n. 2082/1992 relativo alle Specialità Tradizionali Garantite (Stg). Nel 2007 le denominazioni di origine in Italia sono arrivate al considerevole numero di 164, erano 156 nel 2005. La maggior parte di queste sono rappresentate da produzioni vegetali (49 prodotti), olii extra vergine di oliva (38 prodotti), formaggi (32 prodotti), salumi (28 prodotti).

Quantitativamente però, sono i formaggi a rappresentare più del 52% dei prodotti a denominazione d'origine prodotti in Italia nel 2005, mentre l'olio di oliva raggiunge appena l'1% della produzione. In termini di valore stiamo parlando di 4,6 miliardi di euro alla produzione che diventano 9,3 al consumo, (si osserva che solo il 50% del prezzo finale pagato dal consumatore finisce nelle tasche del produttore). Formaggi e salumi pesano per circa il 95% del valore del prodotto. Sempre in termini di peso economico oltre il 60% delle produzioni di origine è attribuibile a soli 4 prodotti: i due grana tipici, Parmigiano-Reggiano e Grana Padano, e i due prosciutti più

importanti, il Prosciutto di Parma e il Prosciutto di San Daniele (11).

Le aziende interessate da queste produzioni sono state nel 2005 più di 54.000. Di queste il numero maggiore è dedicato alla produzione di formaggi (oltre 17.500) e di olii extravergine di oliva (oltre 17.300), agli ortofrutticoli, ai cereali e alle preparazioni di carni (15).

Dal punto di vista geografico la maggior concentrazione di denominazioni di origine si ha in Emilia-Romagna, regione dove si producono 25 tra prodotti Dop e Igp e il valore più elevato del fatturato.

Tra le produzioni di qualità discorso a parte va fatto per i vini che a livello comunitario sono regolati da un'apposita normativa riguardante le produzioni Doc (Denominazione di origine controllata) e Docg (Denominazione di origine controllata e garantita).

Il vino Doc, a differenza del cosiddetto "vino da tavola", deve essere sempre ricavato in quantità prestabilite (per non forzare le viti) da uve di una zona geografica ben delimitata.

I vini Docg invece godono di un particolare pregio qualitativo e di notorietà nazionale ed internazionale, vengono sottoposti a controlli più severi e devono portare un contrassegno dello Stato che dia la garanzia dell'origine, della qualità e che consenta la numerazione delle bottiglie prodotte (Legge n. 164/1992). Il dato produttivo mostra che nel 2006 la produzione di vini di qualità (Doc e Docg) si attesta sui 14,8 milioni di ettolitri rappresentando circa il 31% dell'intera produzione di vino (11).

Tra i vini di qualità comprendiamo anche quelli Igt (Indicazione geografica tipica), anch'essi regolamentati da un disciplinare ma contraddistinti da una zona di produzione più ampia. Nel 2005 ne sono stati prodotti 12,9 milioni di ettolitri.

Oltre alle produzioni a Denominazione di origine il MIPAAF ha recentemente istituito con D.L. n. 173/1998 i Prodotti Agroalimentari Tradizionali, le cui metodiche di lavorazione, conservazione e stagionatura risultano consolidate nel tempo e omogenee per tutto il territorio interessato, secondo regole tradizionali. L'Italia vanta oltre 4.000 prodotti tradizionali.

In definitiva i prodotti di qualità possono rappresentare una carta vincente per il mondo rurale. Essi rappresentano una risorsa su cui investire in termini di identificazione culturale, sviluppo economico e sociale, conservazione ambientale e qualità della vita.

Agroenergia - Ruolo importante della multifunzionalità è anche quello relativo allo sviluppo delle fonti energetiche rinnovabili (Fer), divenute sempre più importanti per effetto della volatilità dei prezzi dei prodotti petroliferi e delle problematiche ambientali generate dalle emissioni dei combustibili fossili in atmosfera. Si tratta delle energie eolica, geotermica, idroelettrica, fotovoltaica e da biomasse.

A livello europeo nel 2005 l'importanza di queste energie alternative ha rappresentato il 6,5% del fabbisogno energetico. Tra queste le biomasse rivestono un ruolo molto importante saturando il 4,2% del totale di energia consumata nell'Ue.

La produzione comunitaria di biocarburanti nel 2005 è stata di 3,9 milioni di tonnellate. Si tratta di vari prodotti tra i quali principalmente il biodiesel e il bioe-

tanolo. Il primo è ottenuto dagli oli vegetali ricavati da semi oleosi (colza, girasole, soia). Il bioetanolo si ottiene dalla fermentazione alcolica degli zuccheri (amido e saccarosio) contenuti in colture quali cereali, canna da zucchero, barbabietola (11).

L'Italia dal canto suo ha prodotto quasi 400.000 tonnellate di biodiesel collocandosi al terzo posto in Europa alle spalle di Germania e Francia. Per favorire lo sviluppo e la produzione di energia rinnovabile l'Ue ha emesso ben 3 direttive: la n. 2001/77/Ce sulla promozione dell'energia elettrica rinnovabile (si dovrebbe raggiungere il 22% sul totale di energia prodotta nel 2010), la n. 2003/30/Ce che ha fissato al 5,75% nel 2010 la quota di biocarburanti che dovrebbero entrare nel gasolio e nella benzina e, infine, la n. 2003/96/Ce sulla tassazione dei prodotti energetici e dell'elettricità che ha autorizzato gli Stati membri a concedere riduzioni o esentare i biocarburanti dalle accise sui carburanti (9).

A livello nazionale il governo italiano ha disposto un contratto quadro nazionale con l'obiettivo di raggiungere una superficie coltivata a oleaginose destinate alla produzione di energia di 70.000 ettari.

Filiera corta - Il mercato globale e la diffusione delle informazioni, dell'informatica e di internet ad ogni livello ha fatto emergere l'interesse delle aziende agricole per la commercializzazione diretta dei loro prodotti e servizi. L'attività di vendita è stata organizzata in diversi modi: con la vendita aziendale, con la partecipazione ai mercati locali, con l'apertura di negozi e sportelli informativi, con contatti con gruppi d'acquisto e ristoratori, con la vendita online.

La filiera corta punta a stabilire una relazione diretta fra chi consuma e chi produce. Ciò consente da una parte il contenimento dei costi di distribuzione, l'ottimizzazione della tracciabilità, a beneficio del consumatore e dall'altra una maggiore remunerazione dei produttori.

La modalità di vendita diretta è stata recentemente regolamentata, attraverso la già citata Legge di Orientamento, D.L. n. 228/2001 e successive modificazioni e integrazioni. I prodotti che possono essere oggetto della vendita diretta sono sia quelli ottenuti direttamente in azienda, ma anche quelli derivati dalla loro lavorazione o trasformazione.

Nel 2006 il numero di aziende agricole che praticava la vendita diretta, almeno per quanto riguarda i prodotti biologici, oltrepassava le 1.300 unità (10); in termini territoriali il maggior numero di aziende si trova nell'Italia del Nord, concentrate in Toscana ed Emilia-Romagna. L'offerta, in genere, si compone di produzioni fresche e stagionali, oppure di trasformati tradizionali come conserve, vino, olio. Le modalità operative di vendita risultano varie e vanno dagli spacci comuni a più produttori associati, alla vendita presso mercati, ai sistemi più avanzati come abbonamenti, prenotazioni, o per corrispondenza, o ancora attraverso i gruppi di acquisto. La natura delle aziende con vendita diretta è eterogenea, ma si sottolinea la presenza di agriturismi, che superano nella vendita diretta il numero delle aziende agricole in senso stretto.

Tra le forme di commercio innovative e che accorciano la distanza tra produttore e consumatore esistono anche i gruppi d'acquisto composti da persone che liberamente e spontaneamente decidono di unirsi per poter effettuare acquisti all'in-

grosso di prodotti agroalimentari o di uso comune che poi ridistribuiscono tra loro. I gruppi hanno la possibilità di rivolgersi direttamente ai produttori recuperando un rapporto con il territorio, accorciando la filiera, riducendo passaggi e intermediazioni con un conseguente vantaggio nei prezzi d'acquisto.

La finanziaria prevede dal 2008 la nascita dei *farmer market*, già diffusi nel resto d'Europa, anche in Italia. Si tratta di veri e propri mercatini agricoli dove sarà possibile acquistare i prodotti direttamente dal produttore. Questi spazi saranno affidati alla gestione dei comuni e gli imprenditori agricoli avranno l'obbligo di presentare prodotti freschi o trasformati della propria azienda o comunque del territorio dove ha sede il mercato.

Fattorie didattiche - Da ultimo affrontiamo il ruolo della formazione svolto dall'impresa agricola attraverso la modalità ormai nota a tutti delle fattorie didattiche. Si tratta di aziende agricole che attraverso un progetto educativo, aprono le porte alle scuole e ai gruppi organizzati in un'ottica di multifunzionalità, di offerta di nuovi servizi.

Le fattorie didattiche rappresentano un momento di collegamento tra città e campagna, uno strumento di comunicazione diretta fra agricoltore e cittadino, a cominciare dalle giovani generazioni, per far conoscere la vita degli animali, l'origine dei prodotti che consumiamo, stimolare la curiosità. Una maniera per i giovani di scoprire l'importanza sociale ed economica di un mestiere spesso sottovalutato.

L'esperienza delle fattorie didattiche si è sviluppata in Italia da circa 10 anni. Nel 2002 se ne contavano oltre 400 diffuse in tutte le regioni del territorio nazionale, ma prevalentemente nel Nord Italia, quasi sempre organizzate nell'ambito di programmi promossi da Enti pubblici o Consorzi Agrituristici. Le fattorie didattiche della regione Emilia-Romagna sono attualmente 284.

4. L'analisi economica della multifunzionalità

4.1 Metodologia

L'analisi economica della multifunzionalità, che ai nostri fini si identifica con l'esercizio delle attività connesse, si inserisce nel contesto più generale dell'analisi economica dell'azienda agraria multifunzionale. La multifunzionalità si aggiunge e si integra con l'attività agricola tradizionale formando un tutt'uno nel quale i risultati economici si concretizzano nel calcolo del reddito netto, valore residuale e complessivo di tutte le attività esercitate, senza una specifica disaggregazione.

Per differenziare la componente multifunzionale sono necessarie ulteriori analisi economiche che, partendo proprio dai risultati del bilancio, siano in grado di individuare i rispettivi apporti sui ricavi e sui costi delle attività multifunzionali nel loro insieme, oppure per singola funzione svolta.

Mentre l'analisi di bilancio è un'operazione prettamente oggettiva, perché frutto della contrapposizione di ricavi e di costi desunti da documenti contabili, la disaggregazione delle voci per tipo di produzione o per tipo di attività svolta richiede delle elaborazioni complesse con forti connotazioni soggettive, dovendo disaggre-

gare le varie componenti di ricavo e di costo che non sempre sono evidenziate dal bilancio economico.

Per affrontare correttamente l'analisi è necessario applicare una metodologia che consenta di ridurre al minimo la componente soggettiva per rendere più oggettivi e attendibili i risultati economici dell'analisi. Le difficoltà maggiori sono connesse alla disaggregazione dei costi, il cui riparto richiede rielaborazioni contabili complesse, a fronte di risultati con forti componenti soggettive di valutazione.

Solamente in presenza di particolari condizioni è possibile superare l'ostacolo dell'attribuzione soggettiva dei costi. Sono le condizioni ideali per poter applicare la Teoria del Proni (7), secondo la quale il costo di produzione di un bene, o anche di un servizio, che rappresenta la quota largamente prevalente dei ricavi aziendali, può essere correttamente valutato dalla differenza fra i costi totali dell'azienda e i costi delle produzioni secondarie, nell'ipotesi che tali produzioni siano state ottenute in un mercato di perfetta concorrenza, con eguaglianza tra prezzi e costi.

Pertanto ci dovremmo trovare nella condizione che i ricavi delle attività multifunzionali siano prevalenti sulle produzioni agricole tradizionali, un'ipotesi alquanto improbabile nelle aziende che oggi sono orientate alla multifunzionalità, considerata ancora complementare dell'attività agricola tradizionale.

In realtà, quando la multifunzionalità coinvolge aziende precarie e con basso volume d'affari, l'apporto delle attività connesse può assumere un ruolo di tutto rilievo che potrebbe giustificare l'applicazione della Teoria del Proni.

Oltre alle analisi economiche incentrate sul bilancio economico proposto dal Serpieri, quali sono quelle sviluppate in precedenza, si prospettano nuove forme economiche di analisi come modello di riferimento per tutti i tipi d'impresa, per tutti i settori e per tutte le realtà dell'Unione europea e internazionali.

L'evolversi in modo integrato delle attività agricole con altri settori – la multifunzionalità si muove proprio in questa direzione – e la necessità di definire un modello base di riferimento omologo universalmente adottato suggerisce di applicare anche per il settore agricolo il modello di provenienza extragricola.

Pertanto, il modello base di riferimento anche per l'agricoltura nel prossimo futuro non può non essere che quello reso obbligatorio per tutte le società operanti nella Ue, sancito dalla IV direttiva CE del 1978, recepito in Italia nel 1991 e operativo dal 1993.

Il bilancio comunitario è composto da tre documenti: il conto economico, lo stato patrimoniale e la nota integrativa. I primi due documenti sono assimilabili al bilancio economico e al bilancio patrimoniale dell'economia agraria, sia pure redatti con schemi e regole diverse (4).

Per l'analisi economica della multifunzionalità, rivolta a quantificare il contributo apportato al reddito dell'impresa agricola, viene più opportuno il prospetto del conto economico, al quale faremo riferimento nel corso della trattazione.

Lo schema del conto economico infatti consta di due parti:

- la prima parte è relativa alla gestione caratteristica, che interessa l'esercizio della produzione in senso stretto, che possiamo identificare con l'attività agricola tradizionale;
- la seconda parte è relativa alla gestione extracaratteristica, che interessa

le altre attività svolte dall'impresa, a prevalente natura finanziaria, non comprese tra le attività precedenti, che possiamo identificare, per i nostri scopi, con le attività multifunzionali.

4.2 La gestione caratteristica

Nella gestione caratteristica si mette in contrapposizione il valore ed i costi diretti di produzione, variabili e fissi, per addivenire al risultato finale che è il Reddito operativo. Se al valore della produzione ci limitiamo a sottrarre i soli costi variabili otteniamo il Reddito lordo, un indicatore della gestione valido per confronti tra aziende indipendentemente dal tipo di impresa.

Pertanto l'analisi della gestione caratteristica non presenta particolari difficoltà ed i relativi valori sono desunti dai dati contabili-amministrativi dell'azienda, ma anche dal bilancio economico tradizionale, previa riclassificazione di alcune voci. Ad esempio, nel bilancio economico serperiano la produzione di carne si ottiene dall'utile lordo di stalla, che rappresenta un minibilancio nel bilancio complessivo, che viene collocato nella produzione lorda vendibile. Nel conto economico invece non sono ammesse compensazioni, per cui le voci di entrata e di uscita dell'utile lordo di stalla vanno disaggregate in due parti: la parte attiva rappresentata dalle vendite va collocata nella produzione, la parte passiva, rappresentata dagli acquisti, va collocata tra i costi.

Schema della gestione caratteristica:

A) Valore della produzione

1. Ricavi delle vendite e delle prestazioni
2. Variazione delle rimanenze di prodotti in corso di lavorazione, semilavorati e finiti
3. Variazione di lavori in corso su ordinazione
4. Incrementi di immobilizzazioni per lavori interni
5. Altri ricavi e proventi con separata indicazione dei contributi in conto esercizio

B) Costi di produzione

6. Per materie prime, sussidiarie, di consumo e di merci
7. Per servizi
8. Per godimento di beni di terzi
9. Per il personale
10. Ammortamenti e svalutazioni
11. Variazioni delle rimanenze di materie prime, sussidiarie, di consumo e merci
12. Accantonamenti per rischi
13. Altri accantonamenti
14. Oneri diversi di gestione

La differenza fra valore e costi della produzione (A-B) = Reddito operativo (Ro)

Il conto economico ha una struttura articolata e un ordine strettamente vincolante delle singole voci, che vengono contraddistinte da una numerazione progressiva avente carattere obbligatorio. Certamente questo modello suscita diverse perplessità metodologiche quando viene applicato al settore agricolo. Trattandosi di un modello universale alcune delle voci elencate potranno non interessare l'attività agricola, nel qual caso verranno lasciate in bianco le relative postazioni.

4.3 La gestione extracaratteristica

La seconda parte del conto economico riguarda la gestione extracaratteristica, prevalentemente di natura finanziaria, nella quale trovano collocazione le risultanze contabili relative alle attività diverse da quelle precipue dell'impresa.

La ripartizione del conto economico nelle due parti è funzionale all'obiettivo di tenere distinta l'attività preminente dell'impresa, per ottenere delle analisi economiche e gestionali specifiche che siano confrontabili con quelle di imprese analoghe. In tal modo la presenza di attività collaterali, diverse dall'attività principale che alcune imprese possono esercitare, non vanno ad inquinare le risultanze gestionali dell'attività principale.

La collocazione delle attività multifunzionali dell'azienda agricola nella gestione extracaratteristica del conto economico presuppone che le stesse non siano quelle preminenti dell'attività aziendale e sia possibile trattarle distintamente a livello di gestione economica, consentendo di quantificare il loro contributo sul reddito di esercizio dell'impresa.

Pertanto, nella parte extracaratteristica figurano la gestione finanziaria, se presente, le erogazioni dei servizi produttivi extraziendali e le componenti di ricavo e di costo legate all'esercizio delle attività extraproduttive. Queste ultime comprendono i servizi alle persone, alla collettività e al territorio, in funzione del livello di multifunzionalità raggiunto dall'impresa.

Schema della gestione extracaratteristica:

- C) Proventi ed oneri finanziari
- D) Rettifiche di valore di attività finanziarie
- E) Proventi e oneri straordinari

La differenza tra il Reddito operativo e le voci attive e passive di C, D, ed E ci consentono di addivenire all'Utile (o perdita) di esercizio. Se la gestione extracaratteristica viene depurata dalle attività finanziarie, se presenti, rimane per differenza la gestione dei servizi produttivi extraziendali e dei servizi extraproduttivi legati alle attività multifunzionali svolte dall'impresa.

La procedura indicata costituisce la premessa per definire degli indicatori di multifunzionalità dell'impresa sui risultati economici complessivi. Gli indicatori possono essere riferiti al complesso di tali attività multifunzionali, oppure facendo riferimento alle singole attività quando è possibile la disaggregazione delle componenti.

4.4 Le rilevazioni aziendali

Condizione indispensabile per condurre le analisi economiche sulla multifunzionalità nelle imprese agricole è la disponibilità di informazioni contabili di tipo analitico che consentano di differenziare le singole componenti di ricavo e di costo, o comunque possano consentire l'eventuale disaggregazione delle voci con sufficiente attendibilità.

Ai nostri fini le aziende agricole con attività multifunzionale sono intese, seguendo la classificazione dell'Istat, quelle attività diverse dalle tradizionali di coltivazione ed allevamento e che rientrano tra le attività connesse.

In particolare è necessario disporre di una raccolta analitica dei dati che sia in grado di consentire l'elaborazione di una contabilità in partita doppia, accanto alla raccolta di dati analitici extracontabili sulle singole attività svolte in azienda per quanto riguarda le produzioni agricole e le attività multifunzionali.

L'introduzione delle attività connesse nelle aziende agricole del nostro territorio è un fenomeno assai recente e poco conosciuto, del quale non è nota l'entità e i risvolti economici ed organizzativi sulle imprese. Abbiamo pertanto intrapreso una indagine specifica sul campo, che riguarda le prime esperienze in corso nella nostra Provincia, attraverso la rilevazione dei risultati conseguiti da alcune aziende agricole multifunzionali presenti e nella prospettiva che tale scelta imprenditoriale possa assumere un'importanza crescente nel prossimo futuro.

Per quanto riguarda la raccolta dei dati e le relative elaborazioni disponiamo della metodologia e dei software dedicati grazie all'annesso Laboratorio di gestione e contabilità agraria che opera presso di noi da alcuni decenni.

Le rilevazioni in corso si riferiscono ad un gruppo di 12 aziende zootecniche della provincia di Parma suddivise in due categorie:

- aziende dedite alle produzioni tradizionali di prodotti agricoli;
- aziende che, accanto alle produzioni tradizionali, hanno introdotto, sia pure in gradi diversi, attività multifunzionali intese come attività connesse all'attività agricola principale.

Le attività multifunzionali, tutte introdotte dalle aziende in tempi recenti e tutt'ora in fase di espansione, attengono principalmente alle seguenti iniziative:

- riappropriazione della fase di trasformazione del latte, che nel passato era stata espulsa dall'azienda e delegata ai caseifici sociali o privati;
- introduzione dell'agricoltura biologica, come nuovo modo di produrre per la valorizzazione dell'ambiente e dei beni ivi ottenuti;
- ingresso nella fase commerciale con l'adozione della filiera di distribuzione corta, in modo da consentire la vendita diretta dei prodotti ad un prezzo più vantaggioso per il produttore e per il consumatore;
- apertura di attività agrituristiche rivolte alla ristorazione e all'alloggio, con progressiva estensione a servizi di altra natura (ippoturismo, traking ecc.);
- apertura di fattorie didattiche.

Con le analisi in corso nelle aziende sotto controllo ci si propone lo scopo di differenziare l'apporto delle attività multifunzionali da quelle produttive tradizionali

in modo da poter quantificare il contributo apportato al reddito d'impresa e per un successivo confronto con le aziende dedite alle sole attività produttive tradizionali.

La raccolta dei dati presso le aziende agricole è iniziata con la redazione dell'inventario iniziale al primo gennaio 2007, a seguire la rilevazione di tutti i movimenti amministrativi dell'annata per concludersi con la compilazione dell'inventario finale al 31 dicembre. I risultati dell'indagine saranno disponibili con l'elaborazione dei dati e con la chiusura dei bilanci economici delle aziende zootecniche nel corso del 2008.

5. Nuove strategie della famiglia e dell'impresa agricola

5.1 Strategie familiari

Nell'agricoltura italiana la commistione tra famiglia e impresa agricola è una condizione assai nota, le interdipendenze sono piuttosto strette e non è infrequente che il bilancio familiare formi un tutt'uno con quello aziendale (2).

Le strategie familiari sono rivolte a dare piena occupazione agli addetti ed a trarne un reddito soddisfacente. Se le potenzialità dell'azienda non sono sufficienti ecco che l'attività agricola diventa un trampolino di lancio verso impieghi extragricoli con il diffondersi della pluriattività familiare (part-time).

Viceversa se nell'azienda vi sono prospettive di sviluppo queste si possono esplicitare in forme orizzontali, con ampliamento delle attività agricole tradizionali, oppure in forme verticali con la differenziazione aziendale e l'acquisizione di attività di trasformazione, di commercializzazione e di prestazione di servizi, secondo la strategia della multifunzionalità, intesa come l'acquisizione all'impresa di attività connesse.

Le scelte della famiglia pertanto non si possono limitare alle analisi tecniche ed economiche realizzate all'interno dell'impresa agricola. Infatti lo studio del comportamento delle famiglie è rivolto ad individuare quali sono le regole che determinano l'allocazione delle risorse – sia familiari che aziendali – tra le varie attività svolte in azienda e nella famiglia identificando quelle strategie che consentono alle famiglie agricole di ottenere un reddito equo, in rapporto alle alternative possibili, dal punto di vista economico e sociale.

Nelle strategie delle famiglie agricole non vanno disgiunti gli obiettivi dell'occupazione e del reddito da quelli più generali sulla qualità della vita che attengono alla salubrità dell'ambiente in cui si vive, all'abitazione, alla qualità e tipicità dei consumi alimentari della famiglia, alle tradizioni familiari e locali, ecc.

La gestione del reddito familiare può fare leva su fonti diversificate per la frequente commistione di reddito derivante dall'esercizio di attività agricole con quello di lavoro esercitato al di fuori dell'azienda e delle pensioni, nonché da eventuali investimenti familiari di tipo immobiliare e finanziario (1).

Il budget familiare rappresenta un volano per dare prospettive di sviluppo all'impresa agricola, ma nello stesso tempo può fungere da volano per accompagnare i membri della famiglia nel cercare occupazione e reddito al di fuori del settore agricolo, con l'avvio anche di nuove imprese sia agricole che extragricole.

In conclusione, le gestione dinamica di tutte le risorse della famiglia consente la realizzazione di strategie capaci di dare vita a nuove tipologie di impresa familiare, capaci di far mantenere “vitale” nel tempo tale forma di conduzione, ma nello stesso tempo può dirottare le sue forze per agevolare soluzioni occupazionali al di fuori dell’azienda agricola. In quest’ultimo caso la famiglia agricola accompagna tali scelte con la forza del suo reddito per la nuova intrapresa e le consente di attutire eventuali difficoltà di percorso.

Pertanto, le strategie della famiglia agricola sono orientate alla ricerca della migliore soluzione tra sostegno all’attività agricola e ricerca di alternative per i componenti familiari con l’obiettivo di un migliore benessere dei componenti in funzione delle aspirazioni personali.

5.2 Strategie d’impresa

Le nuove opportunità di intrapresa offerte al settore agricolo dalle recenti normative europee e nazionali non possono non suscitare l’interesse degli imprenditori con l’adozione di nuove strategie, in coerenza con la globalizzazione dei mercati.

A supporto delle strategie imprenditoriali contribuisce in modo significativo la possibilità di accedere alla multifunzionalità per diversificare le produzioni aziendali tradizionali con altre produzioni innovative e l’acquisizione di parte o di tutte le fasi della filiera mercantile sino a realizzare il canale diretto (3).

Le strategie d’impresa muovono dagli interessi del nucleo familiare e dalle disponibilità umane, professionali e di capitali per affrontare le nuove forme di intrapresa. Un ruolo determinante rivestono i condizionamenti ambientali, i vincoli normativi e quant’altro di origine extrafamiliare e extraaziendale.

In ogni caso gli imprenditori per svolgere il loro ruolo debbono perseguire degli obiettivi dinamici per adeguarsi alle nuove realtà. A tale scopo possono mettere in atto le loro strategie d’impresa operando con diverse modalità che possono riguardare:

- adeguamento delle dimensioni aziendali per avvalersi dei vantaggi delle economie di scala, con la riduzione dei costi di produzione;
- differenziazione delle attività aziendali per acquisire ulteriori valori aggiunti a parità di dimensioni fisiche dell’azienda, ma con ampliamento delle dimensioni economiche.

In entrambi i casi gli obiettivi dell’imprenditore sono rivolti ad ampliare il budget aziendale per raggiungere la piena occupazione e un reddito soddisfacente. Mentre nel primo caso è l’ampliamento della dimensione fisica dell’azienda che consente l’ampliamento del budget, nel secondo caso si prescinde dall’ampliamento della dimensione aziendale perché l’obiettivo del budget si raggiunge con una pluralità di processi produttivi aziendali e non, che valorizzano il lavoro umano e trattengono in azienda dosi successive del valore aggiunto della filiera. Questo obiettivo è reso possibile dall’allargamento delle competenze assegnate al settore agricolo dalle recenti normative che estendono il campo d’azione dell’imprenditore agricolo dalla produzione dei beni alimentari, alla produzione di beni non alimentari, alle prestazioni di servizi alle persone, all’ambiente e alla collettività (5).

Le nuove opportunità d'impresa rendono più dinamiche le strategie imprenditoriali e mettono alla prova le loro capacità d'intrapresa per affrontare le sfide del prossimo futuro. In questo nuovo contesto emergono gli imprenditori più preparati, dotati di competenze in grado di affrontare le nuove sfide e i nuovi rischi di un'agricoltura più integrata con l'ambiente e con la collettività che la circonda. Sono le sfide che si presentano al nuovo imprenditore del terzo millennio e il cui approccio potrà dare nuovi stimoli imprenditoriali e nuovi spazi per la permanenza nel settore agricolo e trarre da questo tutte le soddisfazioni e le aspettative in termini professionali e di reddito.

6. Conclusioni

L'introduzione della multifunzionalità in agricoltura è abbastanza recente e le normative di applicazione hanno già raggiunto un'adeguata definizione, ma il cantiere legislativo è ancora in corso per cogliere gli aspetti operativi più aderenti alla realtà e all'evolversi del settore primario.

Infatti, le nuove opportunità d'impresa offerte dalla multifunzionalità non si esauriscono nella formulazione di norme legislative ma è necessario tener conto dell'impatto con il mondo imprenditoriale, delle strategie di adeguamento alle nuove opportunità d'intrapresa da parte degli agricoltori e degli aggiustamenti necessari sulle norme applicative in base ai riscontri effettuati sulla gestione aziendale.

Nel settore agricolo vi sono ulteriori elementi di complicazione dalla cosiddetta impresa-famiglia nella quale le decisioni nell'ambito familiare possono notevolmente influire sulla competitività. Le cose si complicano a maggior ragione nei casi di pluriattività in cui l'elemento fondamentale di valutazione economica diventa il reddito familiare.

La nuova agricoltura si caratterizza per un continuo processo di diversificazione dei redditi agricoli, diversificazione fortemente sostenuta dalla nuova politica agricola comunitaria e dalle normative di recepimento nazionali, che mirano sempre di più a valorizzare le funzioni secondarie dell'agricoltura.

Tali funzioni vengono anche incluse nel termine più corrente di multifunzionalità che comprende, in un'accezione più ampia, tutti i processi di diversificazione aziendale che portano alla produzione di beni privati, ma indirettamente favoriscono la produzione di beni pubblici. Ciò comporta un'organizzazione delle imprese inedita che richiede nuove strategie imprenditoriali con una crescente interattività con l'ambiente e il territorio.

Oggi le fonti di reddito delle famiglie agricole spaziano in ambiti un tempo preclusi al settore, consentendo l'ampliamento del budget dell'azienda (multisetorialità) e della famiglia (pluriattività). Pertanto l'analisi economica della multifunzionalità acquista sempre maggiore importanza per quantificare il relativo apporto sul reddito aziendale e il contributo che può fornire al sostegno del reddito della famiglia agricola, che sia in grado di giustificare la piena occupazione e la permanenza degli addetti nel settore agricolo.

A tale scopo abbiamo in corso delle analisi economiche sulle aziende che hanno diversificato le loro attività orientandosi verso la multifunzionalità. La metodologia di calcolo proposta è quella applicabile a tutti i tipi d'impresa, per tutti i set-

tori e per tutte le realtà dell'Unione europea, sancita dalla IV direttiva CE del 1978. L'adozione del bilancio comunitario ci consente la redazione del conto economico dell'azienda discriminando tra la gestione caratteristica, con riferimento all'attività agricola tradizionale, e la gestione extracaratteristica, che interessa le attività connesse facenti parte della multifunzionalità dell'azienda.

Sono in corso le rilevazioni di due gruppi di aziende zootecniche del territorio: il primo gruppo è dedito alle attività tradizionali, il secondo gruppo ha introdotto le attività connesse accanto a quelle tradizionali. Dall'analisi economica dei due gruppi sarà possibile risalire all'apporto delle attività caratteristiche ed extracaratteristiche delle aziende, consentendo di quantificare i relativi rapporti e di effettuare dei confronti tra le diverse strategie imprenditoriali.

Le strategie d'impresa non vanno disgiunte dalle strategie familiari per la stretta connessione impresa-famiglia che caratterizza il settore agricolo. La multifunzionalità introduce nuove opportunità d'intrapresa e di reddito che possono essere raccolte dall'impresa-famiglia agricola con l'adozione di nuove strategie che possono rispondere più e meglio alle loro aspettative.

Bibliografia

- 1) BARTOLI L., DE ROSA M., SABBATINI M. (2006). Strutture aziendali e dinamiche demografiche delle famiglie in agricoltura. *Rivista di Economia Agraria*, LXI, 2, 169-190.
- 2) CESARETTI G. P. (2003). L'impresa familiare nell'agricoltura italiana. *Atti XXXIX Convegno di Studi della SIDEA*, Firenze, 2002, pp. 123-174.
- 3) EBOLI M. G. (2004). L'agricoltura multifunzionale: un contributo metodologico per la misurazione. In "Verso il riconoscimento di una agricoltura multifunzionale" (a cura di Henke R.), INEA, Edizioni Scientifiche Italiane.
- 4) FRANCO S., DE SANTIS V. (2005). Tipologie d'impresa, multifunzionalità e strumenti di contabilità aziendale. In *Rivista di Economia Agraria*, n. 2, 429-448.
- 5) GARGANO N., SARDONE R. (2004). Multifunzionalità e ambiente. In *Inea: Verso il riconoscimento di un'agricoltura multifunzionale*. Edizioni Scientifiche Italiane, Napoli.
- 6) HENKE R. (a cura di), (2004). Verso il riconoscimento di una agricoltura multifunzionale. *Teorie, politiche, strumenti*. Edizioni Scientifiche Italiane, INEA, Roma.
- 7) PRONI G. (1940). Contributo allo studio del costo di produzione in agricoltura. INEA. Roma.
- 8) SALGHETTI A., FERRI G. (2007). Nuove opportunità di reddito per l'imprenditore agricolo. *Annali Fac. Med. Vet., Università di Parma*, XXVI, 359-379.
- 9) ZEZZA A. (2007). I biocarburanti: siamo di fronte ad un'alternativa energetica sostenibile? *Agriregionieuropa*, anno 3, n. 9.
- 10) BIOBANK (2007). Superfici bio in italia, trend 1995-2006, www.biobank.it
- 11) INEA (2007). L'agricoltura italiana conta 2007, INEA, Roma.
- 12) ISTAT (2004). V° Censimento Generale dell'Agricoltura, 2000, ISTAT, Roma.
- 13) ISTAT (2006). Strutture e produzioni delle aziende agricole, Anno 2005, ISTAT,

Roma.

14) ISTAT (2006). Dati annuali sull'agriturismo, Anno 2006, ISTAT, Roma.

15) ISTAT (2007). I prodotti Dop e Igp, Anno 2005, ISTAT, Roma.

L'ANALISI DI GESTIONE: UN'APPLICAZIONE AL COMPARTO DEL "PROSCIUTTO DI PARMA DOP"¹

MANAGEMENT ANALYSIS: AN APPLICATION TO "PARMA PDO HAM" SECTOR

Bonazzi Giuseppe - Iotti Mattia²

PAROLE CHIAVE:

Prosciutto di Parma DOP.
Analisi del punto di pareggio.
Leva operativa.
Margine di contribuzione.

KEY WORDS:

Parma Pdo Ham.
Break even analysis.
Operative leverage.
Contribution margin.

Sommario

Il comparto della lavorazione della carne suina per la produzione di "Prosciutto di Parma DOP" è in una fase di cambiamento che interessa gli assetti delle proprietà ed i risultati della gestione delle imprese, in una situazione in cui si sono rilevati numerosi casi di crisi.

Il lavoro applica indicatori per l'analisi dei costi di produzione e l'analisi dell'elasticità di gestione, al fine di valutare gli esiti di strategie aziendali volte al miglioramento dell'efficienza della gestione aziendale. Nel lavoro è stato infatti analizzato il caso di un'impresa del comparto che ha prodotto esiti reddituali positivi, pur in una situazione esterna sfavorevole, grazie ad una strategia di differenziazione della produzione verso produzioni di nicchia.

La produzione è quella del "Prosciutto di Parma DOP" della tipologia merceologica "Parma grosso", con lunga stagionatura, superiore ai 24 mesi. Le azioni di miglioramento dell'efficienza della gestione hanno interessato il controllo dei costi di produzione e

¹ Lo studio è frutto del lavoro comune dei due autori, tuttavia, in sede di stesura del testo Giuseppe Bonazzi ha redatto i paragrafi 1, 2, 3, 6, 8 Mattia Iotti ha redatto i paragrafi 4,5,7.

² Sezione Risorse del Territorio, Dipartimento di Salute Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma.

l'aumento dell'elasticità della gestione d'impresa. L'impresa analizzata evidenzia che il peso dei costi fissi sul fatturato e sul totale dei costi è contenuto, evidenziando un alto livello di elasticità dei costi e, quindi, di reattività della struttura di costo dell'impresa ad eventuali oscillazioni di volume di produzione e fatturato.

Le analisi evidenziano le caratteristiche dei costi del comparto, l'incidenza dei Costi fissi e dei Costi variabili, il Margine di contribuzione, il Punto di pareggio, il Margine di sicurezza e la Leva operativa.

Nel caso aziendale si nota una scelta di efficienza e differenziazione della produzione che ha consentito di ottenere un risultato economico positivo, tuttavia il livello di profitto appare modesto, in rapporto al fatturato ed in rapporto agli investimenti effettuati, a causa, anche, di un peso notevole degli oneri finanziari sulla redditività dell'impresa.

Abstract

Meat of pork sector of Parma Pdo Ham is in a phase of changing that concerns property and economic results of companies, in a situation in which it's possible to find many company crises. The paper uses indexes to analyse production costs and production elasticity in order to valuate company strategies. These strategies are created to improve efficient managing methods in different firm. The paper shows a case study in which is analysed a company that is able to produce a good profit level, even in an unfavourable market scenario. The firm obtains good results using differentiation strategies, as a niche strategy. The production is Parma Pdo Ham of great dimension called "Parma grosso". This type of ham could achieve a long term seasoning, even more 24 months, and it uses strategies to improve efficiency, in reducing production costs and in improving company elasticity to manage the firm. The analysed firm has a low level of fixed costs, in relation with total cost and in relation with total turnover. In this way it's possible to achieve a high level of cost elasticity obtaining a great level of structure cost reactivity, even in a situation in which it's possible to note shocks in turnover or in production level.

The paper analyses the costs structure in the sector, the weight of fixed and variable costs, the contribution margin, the break even point, the security margin and the operative leverage.

In the analysed case is possible to note that strategies to differentiate production have achieved a positive result. Moreover, the profit level is not very high related to turnover and considering a high level of financial costs in reducing profit level.

1. Premessa

Il comparto della lavorazione della carne suina per la produzione di "Prosciutto di Parma DOP" ha fatto segnare negli anni recenti profonde trasformazioni che hanno interessato gli assetti proprietari ed i risultati della gestione delle imprese, spesso in presenza di situazioni di crisi. Tale situazione ha

evidenziato l'attenzione per l'applicazione di indicatori finalizzati all'analisi dei costi di produzione e all'analisi dell'elasticità di gestione. Detti indicatori sono applicati, nel presente lavoro, ad un caso³ d'impresa del comparto di "Prosciutto di Parma DOP", per verificare gli esiti di strategie aziendali finalizzate al miglioramento dell'efficienza della gestione aziendale.

2. Il comparto del "Prosciutto di Parma DOP"

Il "Prosciutto di Parma DOP" è una produzione tipica della salumeria italiana, ammessa alla tutela comunitaria sulle denominazioni di origine protetta (DOP). Il "Prosciutto di Parma DOP" ha area di produzione nella provincia di Parma, con confine settentrionale delimitato da una retta tracciata a 5 km a sud della SS 9 (Via Emilia), con confine meridionale agli Appennini, ad un'altitudine che, tuttavia, non deve superare i 900 metri sul livello del mare. Il territorio di produzione è delimitato ad ovest dal torrente Stirone e ad est del torrente Enza. La materia prima di produzione è data da cosce fresche, derivanti da suini selezionati, nati, allevati e macellati in 10 Regioni d'Italia, cioè Veneto, Lombardia, Piemonte, Emilia-Romagna, Umbria, Toscana, Marche, Abruzzo, Lazio e Molise. L'età dei suini non deve essere inferiore a nove mesi ed il peso deve essere superiore ai 150 kg. La stagionatura del "Prosciutto di Parma DOP" richiede almeno 12 mesi, al termine della quale i prosciutti sono sottoposti alla valutazione dell'organismo di controllo, autorizzato alla certificazione di conformità, Istituto Parma Qualità (IPQ) e, ove ritenuti rispondenti al disciplinare di produzione, i prosciutti sono marchiati a fuoco col marchio identificativo del "Prosciutto di Parma DOP", dato dalla "Corona Ducale" a cinque punte. Per quanto riguarda le dimensioni del comparto, il "Consorzio del Prosciutto di Parma", nato nel 1963 come organizzazione dei produttori, associa nel 2006, 171 imprese produttrici di "Prosciutto di Parma DOP". La produzione è stata nel 2006 di 9,443 milioni di prosciutti, mentre la filiera del prodotto è composta da 4.968 allevamenti suinicoli e la materia prima deriva da 122 macelli. Gli addetti del comparto sono stimati in circa 3 mila e il valore alla produzione del "Prosciutto di Parma DOP" è pari, per il 2006, a circa 850 milioni di Euro, con un fatturato al consumo di circa 1.700 milioni di Euro, pari al 40,6% del fatturato totale del comparto prosciutti in Italia. Tale fatturato è segmentato, nelle restanti quote, per il 14,2% "Prosciutto di San Daniele DOP", e per il 45,2% "Altri prosciutti". I dati confermano la caratteristica del "Prosciutto di Parma DOP" quale leader del mercato nazionale, in termini di quota di mercato e, inoltre, evidenziano la presenza di un peso notevole di produzioni "minori", in prevalenza non soggette al regime di tutela previsto per i marchi della Denominazione di Origine Protetta (DOP) ed Indicazione Geografica Protetta (IGP). Tra queste produzioni notevole è

³ Si ringrazia la proprietà e la direzione dell'impresa Casoni Snc per la disponibilità in sede di messa a disposizione dei dati aziendali e per la collaborazione concessa nell'analisi dei dati tecnici di produzione. Si ringraziano lo Studio Garzi, Stefano Garzi e Gabriele Tosini, che hanno fornito la situazione contabile annuale 2006 ed i dati contabili di base utilizzati nel caso analizzato. La responsabilità di quanto scritto resta, in ogni caso, integralmente a carico degli autori.

il peso di prosciutti di ridotta dimensione, in termini di peso, all'avvio della lavorazione e al consumo. Si tratta di prosciutti derivanti da cosce suine nazionali ed estere, caratterizzate dalla necessità di minori tempi di stagionatura e da minori costi di lavorazione. Si rileva come, anche all'interno dell'area di produzione del "Prosciutto di Parma DOP", detta produzione è stimata in circa 7,0 milioni di prosciutti annui, a fronte degli altri 9,0 milioni di prosciutti annui marchiati come "Prosciutto di Parma DOP". Questo conferma quindi un peso notevole anche di questa produzione in termini di impatto economico nella caratterizzazione dell'economia del territorio della provincia di Parma.

Per quanto riguarda il rilievo del comparto del "Prosciutto di Parma DOP" nel complesso del sistema economico della Provincia di Parma, i dati elaborati dalla locale Unione Industriali stimano, per l'anno 2006, in circa 6,5 miliardi di Euro il complesso del fatturato prodotto dall'industria alimentare, pari al 36% circa del complesso del fatturato industriale provinciale. A fronte di un dato di prevalenza della connotazione agroalimentare del settore industriale locale, emerge il peso dell'industria della lavorazione delle carni che, includendo altre produzioni di salumeria, quali il "Culatello di Zibello DOP", la coppa, il salame di Felino, la spalla cotta di San Secondo, ed altre produzioni minori, genera un fatturato pari a circa 1,8 miliardi di Euro, alle spalle, in ambito locale, del comparto molitorio e della pasta. È altresì interessante rilevare come, a fronte di una produzione assestata ad oltre 9 milioni di cosce fresche omologate annualmente nel periodo 2002 - 2006, con un picco nell'anno 2004, i prosciutti stagionati conformi abbiano avuto un incremento nello stesso periodo del 7,96%, mentre si è avuto un forte aumento nelle elaborazioni di prosciutto affettato e confezionato "Prosciutto di Parma DOP", sempre nello stesso periodo, del 114,74% per numero di prosciutti affettati e del 87,24% per numero di confezioni prodotte. La quota di prosciutti stagionati conformi destinati al prodotto affettato è passata dal 4,37% del 2002 all'8,70% nel 2006 a sottolineare una modificazione dell'approccio al mercato a favore di modalità di consumo più pratiche. In questo modo le imprese del comparto aumentano il valore aggiunto derivante dalla trasformazione.

Tab. 1 – Cosce fresche omologate, prosciutti stagionati conformi, prosciutti affettati, confezioni prodotte del "Prosciutto di Parma DOP"

Anno	Cosce fresche omologate n	Prosciutti stagionati conformi n	Prosciutti affettati n	Confezioni prodotte n
2002	9.373.199	8.746.652	382.646	20.514.741
2003	9.730.055	9.159.521	436.077	24.105.493
2004	10.112.183	9.383.872	530.319	26.410.802
2005	9.909.657	9.839.564	627.344	30.885.106
2006	9.326.002	9.443.150	821.925	38.410.802

Fonte: Istituto Parma Qualità

Per l'analisi delle dinamiche interne del comparto, ed ai fini dell'analisi dei relativi riflessi gestionali, si rileva la differenziazione delle imprese in considerazione della specializzazione produttiva, infatti si hanno differenti classificazioni merceologiche del prodotto finito in relazione al variare del peso

della coscia fresca da sottoporre a lavorazione e in relazione al tempo di stagionatura del prodotto. Al riguardo, le maggiori differenziazioni riguardano la classificazione tra prosciutto piccolo o grande, data dal peso della coscia suina lavorata. La coscia suina che, al termine della stagionatura, presenta un peso inferiore ai 9,0 kg di peso, viene classificata come “Parma piccolo”, cioè un “Prosciutto di Parma DOP” di peso inferiore ai 9,0 kg al termine della stagionatura. Di contro, ove la coscia suina al termine della stagionatura presenti un peso superiore ai 9,0 kg di peso, si ha la classificazione merceologica “Parma grosso”, cioè un “Prosciutto di Parma DOP” di peso superiore ai 9 kg, sempre al termine della stagionatura.

Il comparto dei salumifici, in ambito provinciale, ha un notevole rilievo, con una concentrazione delle imprese nei comuni della cintura urbana meridionale, in zona preappenninica. In comuni come Felino, Langhirano e Sala Baganza, il settore della lavorazione della carne suina caratterizza l’economia locale in via diretta e tramite attività di indotto (Bonazzi G., 2002, op. cit.). Relativamente agli assetti proprietari, il comparto, storicamente caratterizzato dalla presenza di un numero elevato di imprese di piccola dimensione, a carattere familiare, ha visto l’ingresso di numerosi gruppi dell’industria della lavorazione delle carni, operanti a livello nazionale, attraverso l’acquisizione di pacchetti azionari di controllo di società del comparto, oppure attraverso la costituzione di società di nuovo impianto, anche con realizzazione ex novo di stabilimenti industriali (Bonazzi G., Iotti M, 2006, op. cit.).

L’aumento del livello di concorrenza del comparto, unito alla rilevata contrazione dei prezzi, ha determinato situazioni di crisi d’impresa. Le motivazioni derivano altresì da situazione di rigidità della struttura di costo delle imprese, in termini di rilevanza dei costi fissi sul totale dei costi, ed anche a fronte di un prezzo di mercato insoddisfacente che, quindi, ha diminuito il margine derivante dalla vendita del prodotto stagionato, con conseguente incremento del magazzino e relativo ampliamento delle necessità di copertura finanziaria del ciclo del capitale circolante, aumento del livello di indebitamento e conseguente aumento degli oneri finanziari. Il comparto resta caratterizzato dalla permanenza di imprese a connotazione familiare, con la coincidenza tra soggetto proprietario e soggetto con funzioni direttive dell’impresa. In molti casi si rilevano imprese caratterizzate da imperfetto equilibrio patrimoniale e finanziario, con problematiche legate a sottocapitalizzazione, per prevalenza di indebitamento rispetto ad apporti di patrimonio netto. Dette situazioni sono amplificate dall’elevata necessità di fonti finanziarie a servizio dell’impresa, a motivo anche del lungo ciclo di stagionatura del prosciutto, che comporta un notevole aumento delle necessità finanziarie (Bonazzi G., 2002, op. cit.). Aspetti di rilievo delle strategie delle imprese del comparto sono l’aumento della dimensione delle imprese, l’integrazione di filiera e la specializzazione produttiva.

3. Analisi dei dati economici e analisi dei costi

I prezzi del comparto nel corso del biennio 2005 - 2006 sono stati in contrazione. Tale andamento ha depresso ulteriormente il profitto delle imprese, in una situazione di reddito operativo già modesto ed in alcuni casi negativo. Le crisi aziendali hanno avuto sovente come concausa, la citata amplificazione delle necessità finanziarie, determinate da un incremento del peso, tra gli investimenti, del magazzino, ritenuto nel ciclo di stagionatura, e non posto in vendita a fronte di prezzi di mercato giudicati non remunerativi dalle imprese. Il comparto è stato interessato pertanto da modifiche relativamente alla struttura della proprietà, del mercato e della gestione. In tale contesto le analisi dei dati economici delle imprese assumono interesse, anche mediante indicatori di efficienza della gestione, al fine di evidenziare quali tipologie di imprese e quali scelte di strategia aziendale siano portatrici di un maggior livello di efficienza di gestione. Di rilievo risultano pertanto le analisi dei dati economici finalizzate a quantificare la capacità di un'impresa nel produrre reddito, cioè la variazione che il patrimonio netto subisce per effetto della gestione (Azzini L., op. cit.). Si tratta pertanto di analisi in merito alla capacità dell'impresa di generare ricchezza, a favore dei portatori di capitale di rischio, per cui il punto di avvio delle analisi di tipo economico è l'analisi del conto economico aziendale che assume forma scalare definita dal codice civile in modo rigido, per le imprese soggette alla redazione del bilancio d'esercizio.

L'analisi del conto economico fornisce indicazioni sulla redditività aziendale ma, al fine di analizzare con maggiore approfondimento il risultato economico, sono proposte riclassificazioni del conto economico civilistico, finalizzate alla determinazione di margini economici intermedi e, tra le diverse ipotesi di riclassificazione del conto economico, è stata utilizzata quella definita a "valore aggiunto" (Andrei P., Fellegara A., op. cit.).

Tab. 2 - Conto economico riclassificato a “valore aggiunto” (CoIn)

Ricavi delle vendite e delle prestazioni
Altri ricavi e proventi
Produzione dell'esercizio
Rimanenze iniziali
Costi per materie prime, sussidiarie, di consumo...
Rimanenze finali
Consumo di materie prime
MARGINE SULLA MATERIE PRIMA
Costi per servizi
Costi per godimento di beni di terzi
Altri costi esterni di produzione
VALORE AGGIUNTO
Costi per il personale
Accantonamento per rischi e altri accantonamenti
Oneri diversi di gestione
Costo del lavoro, accantonamenti, oneri diversi
EBITDA - MARGINE OPERATIVO LORDO - MOL
Ammortamenti e svalutazioni
Ammortamenti e svalutazioni
EBIT - REDDITO OPERATIVO
Proventi da partecipazione
Altri proventi finanziari
Totale proventi finanziari
Interessi e altri oneri finanziari
Totale oneri finanziari
Utili e perdite su cambi
Saldo gestione finanziaria
Rivalutazioni
Svalutazioni
Saldo rettifiche di valori di attività finanziarie
Proventi straordinari
Oneri straordinari
Saldo gestione straordinaria
RISULTATO ANTE IMPOSTE
Imposte reddito d'esercizio, correnti, differite...
UTILE (PERDITA) DELL'ESERCIZIO

Fonte: nostre elaborazioni su Pavarani E., op. cit.

Detta riclassificazione permette di evidenziare dei risultati economici intermedi. Il valore aggiunto esprime la ricchezza prodotta dall'impresa al netto dei costi esterni di produzione. Il valore aggiunto è quindi il margine disponibile per la remunerazione dei fattori interni di produzione (Azzini L., op. cit.). Il Margine operativo lordo (Mol), definito Ebitda in terminologia anglosassone, esprime la quota di valore della produzione disponibile per remunerare gli investimenti effettuati in impresa in attività immobilizzate attraverso ammortamenti, interessi passivi e generazione di utile (Azzini L., op. cit.). Sottraendo dal Mol gli ammortamenti e le svalutazioni, si perviene al reddito operativo (*Ro*), Ebit in terminologia anglosassone, che esprime il risultato della gestione corrente, espressiva della capacità dell'impresa di remunerare gli investimenti attraverso il risultato della gestione tipica e delle gestioni accessorie. Infine si ha il risultato ante imposte e, per sottrazione del carico tributario di competenza, il risultato economico, cioè il profitto disponibile a favore dei portatori di capitale di rischio. Si può rilevare come anche per la riclassificazione a "valore aggiunto" (Pavarani E., 2006, op. cit.) esistano differenti formulazioni, a volte lievemente diverse tra loro (Andrei P., Fellegara A., op. cit.). La versione adottata di riclassificazione a "valore aggiunto" esposta in Tab. 2 evidenzia un significativo margine intermedio, dato dal margine sulla materia prima, non previsto in alcune delle formulazioni del conto economico riclassificato, e contemplata nei casi in cui il rilievo del costo di acquisto della materia prima assuma importanza tra le differenti voci di costo (Andrei P., Fellegara A., op. cit.). Inoltre, non è stata prevista un'autonoma sezione del conto economico scalare volta a determinare il saldo delle gestioni accessorie ma le voci di Altri ricavi e proventi e Oneri diversi di gestione sono state separate ed incluse in distinte relative sezioni del conto economico, a motivo della scarsa rilevanza di dette aree gestionali nello specifico del comparto del prosciutto oggetto di analisi. Infine il complesso dei valori è incluso nel conto economico sulla base della metodologia contabile definita di competenza economica. Detta metodologia privilegia il momento di creazione del valore rispetto al momento di manifestazione dell'entrata o dell'uscita di denaro, metodologia, questa, definita di cassa (Andrei P., Fellegara A., op. cit.), utilizzata in particolare per approfondimenti sulla dinamica finanziaria delle imprese.

Peraltro al crescere della complessità, l'impresa esprime sempre più l'esigenza di sviluppare un orientamento alla specializzazione che richiede una progressiva suddivisione di lavoro e compiti con l'aumento della complessità di gestione; la programmazione ed il controllo di gestione hanno il fine di favorire, attraverso la valutazione delle prestazioni, un'azione correttiva mediante un insieme di meccanismi operativi ed organizzativi che rendono possibile il raggiungimento dei fini aziendali.

Tab. 3 - Differenze fondamentali fra i sistemi di Contabilità Generale (CoGe) e Contabilità Industriale (CoIn)

Elemento di confronto	Contabilità Generale	Contabilità Industriale
Scopo	Determinazione del risultato globale : reddito di esercizio e capitale di funzionamento	Determinazione ed analisi dei risultati nel tempo e nello spazio: analisi decisioni e controllo gestione
Oggetto	Risultati globali aziendali	Risultati parziali di gestione
Destinatari	Esterni/interni azienda (azionisti, banche, fornitori, fisco, etc)	Interni all'azienda (decisori e responsabili della gestione)
Criteri di classificazione dei costi e ricavi	Rilevazioni per natura e per origine	Rilevazioni per natura e destinazione/localizzazione/imputazione ed asseznazione)
Momento della rilevazione	All'atto dell'accertamento	Per competenza del periodo/all'atto del consumo)
Periodicità/tempestività	In genere annuale/trimestrale	In genere mensile/trimestrale
Qualità delle informazioni	Dati storici, oggettivi, esatti, documentati	Dati storici o predeterminati (previsti o standard), approssimati, attendibili/tempestivi

Fonte: Selleri L., *op. cit.*

Nell'ambito del sistema di contabilità direzionale, la contabilità analitica può essere intesa come un sottosistema informativo grazie al quale sono rilevati in modo sistematico i dati elementari di costo e di ricavo. Infatti, i sistemi di controllo di gestione sono finalizzati, in primo luogo, a definire il margine per prodotto (Selleri L., *op. cit.*). Il sistema informativo per la direzione quanto ai criteri di impostazione, a differenza del sistema informativo di tipo contabile e civilistico, non è soggetto a vincoli *ex lege*, e assume forma libera sulla base delle scelte applicative delle singole imprese.

La classificazione dei costi e la loro utilità, nelle specifiche situazioni decisionali, determinano le metodologie di classificazione dei costi. In specifico, la teoria aziendale prevede che i costi possono essere classificati (Selleri L., *op. cit.*) osservando le relazioni che esistono tra:

1. Livello di attività dell'impresa;
2. Oggetto di calcolo prescelto.

Per la classificazione dei costi in relazione al livello di attività (vendite, produzione o indicatori simili) si procede osservando il comportamento delle differenti classi di costo al variare del livello di attività aziendale. In questo modo (Selleri L., *op. cit.*) è possibile distinguere tra:

1. Costi fissi (*CF*);
2. Costi variabili (*CV*).

Si definiscono Costi fissi (*CF*) i costi che non variano, nel loro ammontare complessivo, al variare del volume di attività (produzione). Si può rilevare come, per ogni quantità di produzione (q), sino ad un livello di capacità di produzione massima al tempo t_0 (Q_{t_0}) il livello dei Costi fissi (*CF*) al tempo t_0 rimane costante

(CF_{t_0}) :

$$\forall q \Rightarrow CF = CF_{t_0} \quad (1)$$

Si tratta di un'analisi definita di breve periodo, intendendo per breve periodo quel tempo, logico, in cui non varia la struttura dell'impresa (Anthony R.N., Hawkins D.F., Macri D.M., Merchant K.A., op. cit.), tempo in cui non sono apportate modifiche tali alla struttura dell'impresa per cui debba essere aumentata la capacità produttiva, a raggiungere un livello di produzione $Q_{t_1} > Q_{t_0}$ e conseguente aumento del livello dei Costi fissi, ad un livello $CF_{t_1} > CF_{t_0}$.

Si definiscono Costi variabili (*CV*) i costi che variano, nel loro ammontare complessivo, al variare del volume di attività (produzione). Il Costo variabile unitario per prodotto (*Cv*) è dato dalla sommatoria dei costi di produzione unitari per singola voce di costo o categoria di fattore di produzione (ad esempio individuando le categorie sulla base della classificazione prevista nel conto economico riclassificato). Nel caso di *m* categorie di fattori di produzione variabili si ha:

$$Cv = \sum_{j=1}^m cv_j \quad (2)$$

Dove:

Cv = costo variabile unitario di prodotto;
cv_j = costo variabile unitario della *j*-esima categoria di fattori di produzione.

Nel caso in cui l'impresa produca prodotti di quantità (*q*), il totale dei costi di produzione dell'impresa relativi ad una singola categoria di fattori variabili di produzione è data da:

$$CVfatt = \sum_{i=1}^n cv_i q_i \quad (3)$$

CVfatt = costi variabili di un generico fattore di produzione variabile;
cv_i = costo variabile unitario, per categoria di fattore di produzione, del *i*-esimo prodotto;
q_i = quantità unitaria del *i*-esimo prodotto.

Dalla (3) deriva che la sommatoria dei costi delle *m* categorie di fattori di produzione variabili è pari al totale dei costi variabili:

$$CV = \sum_{j=1}^m CVfatt_j \quad (4)$$

Dove:

CV_{fatt_j} = costi variabili della j -esima categoria di fattori di produzione variabili.

Analogamente, nel caso in cui l'impresa produca n prodotti di quantità (q), il totale dei costi variabili è dato da:

$$CV = \sum_{i=1}^n C_{v_i} q_i \quad (5)$$

Dove:

CV = costi variabili;

C_{v_i} = costi variabili unitari di prodotto;

q_i = quantità unitaria di prodotto.

Per quanto riguarda la classificazione suddetta bisogna rilevare come esistono alcune ipotesi semplificatrici del modello (Selleri L., op. cit.), e cioè la relazione lineare della curve di costo, con assenza quindi di economie di scala, l'assenza di costi semi variabili, cioè costi caratterizzati da una quota di Costo fissa ed una quota di Costo variabile e infine la prospettiva di analisi di breve periodo, caratterizzata da invarianza dei Costi fissi.

In considerazione tuttavia dell'orizzonte temporale di breve periodo su cui è orientata l'analisi del presente lavoro e dell'obiettivo di valutazione della reattività di una data struttura aziendale alle oscillazioni di produzione, si utilizza nelle analisi applicative la metodologia di ripartizione dei costi sopra descritta nonostante i limiti delle relative ipotesi semplificatrici. Inoltre, in considerazione delle specificità del caso aziendale, in cui si analizza un'impresa mono prodotto, non sono necessari approfondimenti sulla metodologia di ripartizione dei costi (tra cui, le metodologie Direct costing, Full costing o Activity based costing) in quanto ogni costo aziendale è riferibile al prodotto oggetto di analisi (Cinquini L., op. cit.).

4. Analisi Costi, volumi, risultati (Break Even Analysis)

Al fine di analizzare l'efficienza gestionale si può applicare una metodologia di analisi che utilizza gli schemi operativi dell'analisi Costi, volumi, risultati che secondo la terminologia anglosassone viene definita Break Even Analysis (Selleri L., op. cit.). La metodologia consente di definire il grado di elasticità dell'impresa in relazione alla struttura dei costi, suddivisi in Costi fissi e Costi variabili, definendo altresì la capacità dell'impresa stessa di assorbire oscillazioni nel volume di produzione, senza determinazione di un risultato economico negativo (Selleri L., op. cit.). La metodologia di analisi discende dalla necessità di determinare il volume di attività di pareggio, in altre parole il livello di vendite in cui i ricavi di produzione eguagliano i costi. Secondo la seguente equazione si determina il Profitto:

$$\Pi = RT - (CF + CV) \quad (6)$$

Dove:

Π	=	profitto;
RT	=	ricavi totali;
CF	=	costi fissi;
CV	=	costi variabili.

Con Profitto nullo, si ha la formulazione del punto di pareggio seguente:

$$RT = CF + CV \quad (7)$$

Si tratta in altre parole del volume di produzione (espresso dai ricavi totali) in cui i Ricavi totali (RT) eguagliano i Costi totali (CT), indicando i Costi totali come somma dei Costi fissi e dei Costi variabili ($CT = CF + CV$). Sul punto è da notare (Atkinson A., Kaplan R., op. cit.) come in presenza di scorte di magazzino debba essere considerato, più propriamente, non la voce dei ricavi totali, bensì la voce del valore della produzione, che comprende anche la variazione delle scorte di magazzino. Nel caso in cui $RT > (CF + CV)$ l'impresa genera utile, mentre nel caso in cui $RT < (CF + CV)$ l'impresa genera perdita. La (7) può essere espressa come segue, nel caso di un'impresa mono prodotto:

$$\begin{aligned} RT &= CT; \\ RT &= CF + CV; \\ p_1 \cdot q_1 &= CF + Cv_1 \cdot q_1 \end{aligned} \quad (8)$$

Dove, rispetto alla (7):

CV	=	costi variabili;
p_1	=	prezzo di vendita del prodotto 1, con $p_1 > 0$;
q_1	=	quantità prodotta del prodotto 1 con $q_1 > 0$;
Cv_1	=	costo variabile unitario del prodotto 1 con $Cv_1 > 0$.

Nel caso in cui l'impresa produca n prodotti, la (8) può essere espressa come segue:

$$\sum_{i=1}^n p_i q_i = CF + \sum_{i=1}^n Cv_i q_i \quad (9)$$

Limitando l'analisi alla formulazione per un'impresa mono prodotto (8) ne discende che il Profitto conseguito dall'impresa diventa anch'esso espresso da una relazione lineare della quantità prodotta:

$$\Pi = p_1 \cdot q_1 - (CF + Cv_1 \cdot q_1) \quad (10)$$

Dove, rispetto alla (6):

Π = profitto dell'impresa mono prodotto.

Dalla (10), raccogliendo i fattori comuni:

$$\Pi = q_1(p_1 - Cv_1) - CF \quad (11)$$

La differenza contenuta tra parentesi tonda nella (11), cioè la differenza tra il prezzo unitario di vendita ed il costo unitario di produzione è definita (Atkinson A., Kaplan R., op. cit.) Margine di contribuzione unitario (Mcu):

$$Mcu = p_1 - Cv_1 \quad (12)$$

Dove:

Mcu = margine di contribuzione unitario.

Il Margine di contribuzione unitario (Mcu) rappresenta il beneficio economico netto che ogni singola vendita apporta all'impresa; questo margine reddituale intermedio è, innanzi tutto, destinato alla copertura dei Costi fissi, costi cioè che l'impresa dovrà sostenere in ogni caso, indipendentemente dalla produzione realizzata. Il prodotto tra la quantità prodotta ed il Margine di contribuzione unitario è definito (Atkinson A., Kaplan R., op. cit.) Margine di contribuzione totale (Mct):

$$Mct = q_1(p_1 - Cv_1) = RT - CV \quad (13)$$

Dove:

Mct = margine di contribuzione totale.

Quindi, il Margine di contribuzione unitario (Mcu) può essere espresso anche come segue:

$$Mcu = \frac{Mct}{q_1} \quad (14)$$

Nel caso in cui si intenda proporre il calcolo del punto di pareggio per quantità, si esprime la (7) come segue:

$$BEP_{q_1} = \frac{CF}{p_1 - Cv_1} \quad (15)$$

Dove:

BEP_{q_1} = quantità di pareggio.

La (15) esprime come la quantità di pareggio è data dal rapporto tra i Costi fissi (CF) ed il Margine di contribuzione unitario (Mcu), cioè la differenza tra Prezzo di

vendita (p) e Costo variabile unitario (Cv). Affinché la (15) abbia soluzione $q_1^* > 0$ deve essere verificata la condizione $p_1 > Cv_1$ (con $CF > 0$). Questo significa che, al fine di avere una quantità di pareggio positiva (soluzione $q_1^* > 0$) il prezzo di vendita deve essere superiore al Costo variabile di produzione. Questo significa che solo nel caso in cui $Mcu > 0$ la soluzione q_1 verifica la condizione $q_1^* > 0$.

Per quanto riguarda il calcolo del punto di pareggio non in termini di quantità, ma in termini di fatturato, sempre nel caso di un'impresa mono prodotto⁴ si può procedere ponendo $w = Cv_1 / p_1$ ad esprimere l'incidenza del Costo variabile unitario sul prezzo. Ne consegue che $CV = w RT$. Poiché, nel punto di pareggio $CT = RT$, ne consegue che $CV + CF = RT$, quindi $w RT + CF = RT$, da cui si ha:

$$BEP_{RT} = \frac{CF}{1-w} \quad (16)$$

Dove:

BEP_{RT} = ricavo totale di pareggio.

Nella (16) il denominatore $(1 - w)$ costituisce l'incidenza del Margine di contribuzione unitario (Mcu) sul prezzo. Infatti:

$$1 - \frac{Cv}{p} = \frac{(p - Cv)}{p} \quad (17)$$

Peraltro:

$$w = \frac{Cv_1}{p_1} = \frac{Cv_1 q_1}{p_1 q_1} = \frac{CV}{RT} \quad (18)$$

Da cui la (15), in eventuale assenza di disponibilità di dati di dettaglio in merito ai Costi variabili ed ai prezzi di vendita per prodotto, può essere espressa anche come segue:

$$BEP_{RT} = \frac{CF}{1 - \frac{CV}{RT}} \quad (19)$$

Sulla base della (19), il Profitto è determinato come segue, in relazione lineare:

$$\Pi = RT - \frac{CF}{1-w} = RT(1-w) - CF \quad (20)$$

⁴ Nel caso in cui l'impresa oggetto di analisi non operasse in mono produzione si procederebbe attraverso il calcolo di una media aritmetica ponderata, mediante i volumi di produzione.

Nella (20) il coefficiente angolare è dato dal termine tra parentesi ($l - w$) mentre l'intercetta è data dal valore (negativo) dei Costi fissi (CF). La soluzione dell'equazione (20) esprimerà il punto di pareggio. In considerazione dell'assunzione di linearità delle funzioni di ricavo e costo, si ha che le inclinazioni delle rette di Ricavo totale (RT) e Costo variabile (CT) sono date rispettivamente dalla tangente degli angoli formati da queste rette in intersezione con l'asse delle ascisse, rispettivamente angolo α ed angolo β , cioè Tan_{α} e Tan_{β} . Si tratta quindi della derivata prima delle rette di Ricavo e Costo variabile, pari rispettivamente al Prezzo (p) ed al Costo variabile unitario (Cv). Ne consegue quindi che, al variare dei parametri di Prezzo e Costo variabile unitario, in una simulazione di statica comparata, si modifica l'inclinazione (angolo α ed angolo β) delle rette di Ricavo e Costo variabile. Relativamente al modello proposto nella (7) sono possibili alcune precisazioni. L'equazione (7) suddetta costituisce il punto di avvio, altresì, per la determinazione della capacità dell'impresa di assorbire variazioni in diminuzione delle vendite, senza far registrare perdite. Al riguardo si esprime la relazione:

$$M_q = \frac{(q_2 - q_1^*)}{q_2} \quad (21)$$

Dove:

$$\begin{aligned} M_q &= \text{ margine di sicurezza in quantità;} \\ q_1^* &= \text{ quantità di produzione di pareggio con } q_1^* > 0; \\ q_2 &= \text{ quantità di produzione effettiva con } q_2 > 0. \end{aligned}$$

Il Margine di sicurezza esprime quindi la variazione percentuale di volume di produzione, rispetto al volume di produzione effettiva, che l'impresa oggetto di analisi può sostenere senza incorrere in perdite. Se $M_q > 0$ l'impresa è in una situazione di utili ($q_2 > q_1^*$), se $M_q = 0$ l'impresa è in pareggio ($q_2 = q_1^*$), mentre se $M_q < 0$ ($q_2 < q_1^*$), l'impresa è in una situazione di perdita. La (21) può essere espressa anche in valore di fatturato esprimendo quindi:

$$M_{RT} = \frac{(p_1 q_2 - p_1 q_1^*)}{p_1 q_2} \quad (22)$$

$$M_{RT} = \text{ margine di sicurezza in fatturato.}$$

Da cui:

$$M_{RT} = \frac{(BEP_{RT_2} - BEP_{RT_1})}{BEP_{RT_2}} \quad (23)$$

Dove:

BEP_{RT_1} = ricavo totale di pareggio;

BEP_{RT_2} = ricavo totale effettivo.

Le considerazioni relative alla (23) sono le medesime fatte rispetto alla (21), considerando non le quantità q_1^* e q_2 ma i ricavi BEP_{RT_1} e BEP_{RT_2} . La (23) è espressa quindi in valore assoluto di fatturato, come differenza tra BEP_{RT_2} e BEP_{RT_1} . Il punto di pareggio può anche essere espresso in relazione alla Capacità produttiva (CP) dell'impresa. In tal caso il punto di pareggio consente di determinare il Load factor (L) cioè fattore di utilizzo della capacità di produzione (Atkinson A., Kaplan R., op. cit.), espresso come rapporto tra quantità fisiche di produzione (q):

$$L = \frac{q_1^*}{CP} \quad (24)$$

Dove, rispetto alla (22):

L = load factor;

CP = capacità produttiva massima dell'impresa.

Sul punto è da notare come il calcolo del Load factor (L) evidenzia che l'analisi si sviluppa nel breve periodo, cioè nell'ipotesi di non attuazione di modifiche alla struttura dell'impresa tali per cui possa derivare un incremento della capacità produttiva.

Anche la (13) espressa come rapporto tra quantità fisiche di produzione (q), può essere espressa in termini monetari, attraverso la moltiplicazione di numeratore e denominatore per il prezzo di vendita (p_1) ricordando come, anche nel caso della (24) così espressa, si stia proponendo un'analisi per impresa mono prodotto e caratterizzata, quindi, da un solo prezzo di vendita dell'unica produzione (p_1).

5. Analisi dell'elasticità di gestione

L'analisi Costi, volumi, risultati consente di apprezzare, sia pure in prima approssimazione, le implicazioni che scelte di prezzo, di livello di attività, di struttura di costo hanno sul risultato economico (Anthony R.N., Hawkins D.F., Macri D.M., Merchant K.A., op. cit.). A tal fine si parla di Grado di leva operativa (Glo), metodologia che consente di quantificare la variabilità del risultato aziendale al variare del volume della produzione. Si tratta quindi di una metodologia adatta alla quantificazione del rischio connesso ad una determinata produzione e ad una data struttura aziendale (Anthony R.N., Hawkins D.F., Macri D.M., Merchant K.A., op. cit.). L'analisi del Grado di leva operativa parte dalla considerazione secondo cui in imprese diverse si rileva una differente variazione del profitto al variare della quantità venduta (o delle vendite). Il Grado di leva operativa è il parametro che

esprime la variabilità dei profitti d'impresa alle variazioni dei volumi di produzione o vendita, espresso come rapporto tra le Variazioni del Profitto e delle Quantità vendute:

$$Glo_q = \frac{\frac{\Delta\Pi}{\Pi}}{\frac{\Delta Q}{Q}} = \frac{\Delta\% \Pi}{\Delta\% Q} \quad (25)$$

Dove:

Glo_q	=	grado di leva operativa calcolato sulle quantità;
Π	=	profitto;
$\Delta\Pi$	=	variazione del profitto;
$\Delta\% \Pi$	=	variazione percentuale del profitto;
Q	=	quantità venduta;
ΔQ	=	variazione della quantità venduta;
$\Delta\% Q$	=	variazione percentuale della quantità venduta.

Alcuni autori (Anthony R.N., Hawkins D.F., Macri D.M., Merchant K.A., op. cit.) indicano il Grado di leva operativa come parametro che esprime la variabilità del reddito operativo alle variazioni dei volumi di produzione o vendita, dato dal rapporto tra le Variazioni del Reddito operativo e della Quantità:

$$Glo_q = \frac{\frac{\Delta Ro}{Ro}}{\frac{\Delta Q}{Q}} = \frac{\Delta\% Ro}{\Delta\% Q} \quad (26)$$

Dove, rispetto alla (25):

Ro	=	reddito operativo.
ΔRo	=	variazione del reddito operativo;
$\Delta\% Ro$	=	variazione percentuale del reddito operativo.

La formulazione della (26) sottrae quindi all'analisi, rispetto alla (25), quelle voci di costo (quali costi finanziari, costi straordinari ed imposte) che nella riclassificazione del conto economico aziendale sono sottratte al reddito operativo per pervenire alla determinazione del profitto aziendale (cui si perviene, peraltro, sommando, come voci di reddito, i ricavi finanziari, i ricavi straordinari e gli anticipi di imposte). Procedendo nell'analisi, per valutare il grado di rischio operativo che un'impresa deve sopportare si analizza la variazione del Reddito operativo (Ro) a seguito di una variazione di produzione in Quantità (Q), nell'ipotesi che tutta la Quantità (Q) medesima sia venduta, oppure valorizzata, secondo il principio della competenza

economica, quale Rimanenze finali, come componente positiva del reddito d'esercizio.

Considerando la (25) e passando ad una formulazione che consideri, per il Grado di leva operativa, non la Quantità (Q), ma i Ricavi totali (RT), si considera la seguente:

$$Glo_{Rt} = \frac{\frac{\Delta\Pi}{\Pi}}{\frac{p_1 \frac{\Delta Q}{Q}}{p_1}} = \frac{\frac{\Delta\Pi}{\Pi}}{\frac{\Delta RT}{RT}} = \frac{\Delta\% \Pi}{\Delta\% RT} \quad (27)$$

Dove, rispetto alla (25):

Glo_{Rt} = grado di leva operativa calcolato sul totale dei ricavi.

Si consideri come la variazione assoluta del Profitto (ΔI) è pari alla variazione assoluta del Margine di contribuzione totale (ΔMct), poiché la differenza tra le due grandezze è rappresentata dalla costante dei Costi fissi. Indicando la variazione del Profitto (ΔI) dal tempo t_0 al tempo t_1 si ha:

$$\Delta\Pi = \Pi_{t_1} - \Pi_{t_0} = (RT_{t_1} - CV_{t_1} - CF_{t_1}) - (RT_{t_0} - CV_{t_0} - CF_{t_0}) \quad (28)$$

Dove tutti gli addendi sono espressi nei loro valori al tempo t_0 e al tempo t_1 rispettivamente.

Considerando quindi, per definizione, l'invarianza dei Costi fissi, cioè:

$$CF_{t_1} = CF_{t_0} \quad (29)$$

Si ha:

$$\Delta\Pi = (RT_{t_1} - CV_{t_1}) - (RT_{t_0} - CV_{t_0}) = Mct_{t_1} - Mct_{t_0} = \Delta Mct \quad (30)$$

La (30) esprime come la variazione assoluta del Profitto (ΔI) è pari alla variazione assoluta del Margine di contribuzione totale (ΔMct). Quindi, sulla base della (30), la (27) assume la seguente formulazione:

$$Glo_{Rt} = \frac{\frac{\Delta Mct}{\Pi}}{\frac{\Delta RT}{RT}} = \frac{\frac{\frac{\Delta RT}{RT} Mct}{\Pi}}{\frac{\Delta RT}{RT}} = \frac{\Delta RT}{RT} \frac{Mcu}{\Pi} \frac{RT}{\Delta RT} = \frac{Mct}{\Pi} \quad (31)$$

La (31) indica come il Grado di leva operativa (Glo_{Rt}) possa essere espresso anche come rapporto tra il Margine di contribuzione totale (Mct) e Profitto (Π) in un medesimo volume di produzione:

$$Glo_{Rt} = \frac{Mct}{\Pi} = \frac{Mct}{Mct - CF} = \frac{q_1(p_1 - Cv_1)}{q_1(p_1 - Cv_1) - CF} \quad (32)$$

Nel caso in cui i Costi fissi (CF) siano nulli, il Grado di leva operativa (Glo_{Rt}) assume valore pari ad 1. Infatti:

$$Glo_{Rt} = \frac{q_1(p_1 - Cv_1)}{q_1(p_1 - Cv_1)} = 1 \quad (33)$$

Di significato simile alla leva operativa è l'Elasticità dei Costi totali alle variazioni di Quantità, che esprime la Variazione (%) dei Costi totali dell'impresa in conseguenza di variazioni (%) nelle Quantità prodotte. Si tratta quindi di una misura strettamente dipendente dalla natura dei costi dell'impresa, ed in particolare dalla maggiore o minore presenza di Costi variabili.

$$Ec = \frac{\frac{\Delta CT}{CT}}{\frac{\Delta q_1}{q_1}} \quad (34)$$

Dove
 Ec = elasticità dei costi.

Se si considera, per l'invarianza dei Costi fissi nel breve periodo, che la variazione dei Costi totali è pari alla Variazione dei Costi variabili, si ha:

$$\Delta CT = \Delta CV = \Delta q_1 Cv \quad (35)$$

Di conseguenza, la (23) può essere espressa come segue:

$$Ec = \frac{\frac{\Delta q_1 Cv}{CT}}{\frac{\Delta q_1}{q_1}} = \frac{\Delta q_1 Cv}{CT} \frac{q_1}{\Delta q_1} = \frac{q_1 Cv}{CT} = \frac{CV}{CT} \quad (36)$$

La (36) esprime quindi l'indice di Elasticità dei costi misurato come rapporto tra Costi variabili e Costi fissi, cioè il grado di variabilità dei costi, ad esprimere il grado di rigidità della struttura dei costi dell'impresa oggetto di analisi e la sua flessibilità in caso di modifiche nel livello di produzione. Anche l'Elasticità dei costi (Ec) è un indicatore del livello di rischio dell'impresa, espressione della capacità dell'impresa di adattare la propria struttura di costo a shock di mercato o di produzione (Atkinson A., Kaplan R., op. cit.).

6. Analisi dei dati economici e analisi dei costi del caso aziendale

Le metodologie esposte nei precedenti paragrafi sono state applicate ad un caso di impresa del comparto del "Prosciutto di Parma DOP". Il comparto del "Prosciutto di Parma DOP" come precedentemente evidenziato non è omogeneo, presentando al proprio interno imprese di dimensioni differenti e con specializzazioni produttive differenti. In tale ambito il lavoro intende analizzare una particolare tipologia di imprese, caratterizzata da gruppo di controllo familiare, con produzione di "Prosciutto di Parma DOP" della categoria merceologica di grande pezzatura, definita "Parma grosso". Si tratta quindi di imprese che lavorano un "Prosciutto di Parma DOP" di peso superiore ai 9,0 kg, caratterizzato dalla possibilità di stagionare 24 mesi ed oltre.

L'interesse per tale categoria di imprese è motivato dal fatto che questa esprime una evoluzione della tradizionale forma aziendale del comparto. Si tratta di imprese che, pur permanendo nell'ambito del gruppo familiare proprietario, presentano sovente un'evoluzione strategica di differenziazione. Si tratta infatti di imprese che per differenziare la produzione rispetto ai concorrenti, spesso imprese di grandi dimensioni, hanno avviato la produzione di un prodotto di nicchia, quale il "Parma grosso", caratterizzato da lunga stagionatura, e dalla vendita al consumatore finale in esercizi di vicinato e gastronomie. L'analisi di questa tipologia aziendale permette quindi di avvicinare il tema della sostenibilità del ciclo aziendale di imprese di minore dimensione che, strategicamente, hanno avviato una scelta di differenziare la produzione. Peraltro, l'analisi dell'efficienza di gestione di queste imprese è rilevante, in quanto si tratta di imprese caratterizzate sovente da un elevato indebitamento, con un'alta incidenza degli oneri finanziari sulla redditività d'impresa. Sono inoltre imprese che possono risentire di problemi di gestione dei rapporti commerciali, con situazioni connesse al rischio di incasso dei crediti verso i clienti. Queste imprese familiari caratterizzano ancora oggi il comparto ed a detta categoria appartiene anche l'impresa oggetto di analisi del presente lavoro. Si tratta

di un'impresa attiva in forma societaria e presenza del gruppo familiare che detiene la totalità delle quote di partecipazione nel capitale della società. Il gruppo familiare è altresì presente attivamente nell'impresa, con differenti mansioni in ambito direzionale, commerciale, amministrativo e produttivo. L'impresa si avvale altresì di un responsabile della produzione assunto come dipendente, oltre a diversi collaboratori, in amministrazione ed in produzione. La capacità produttiva massima degli impianti è di circa 3.000 prosciutti avviati alla lavorazione per settimana, pari a circa 150 mila prosciutti su base annua. L'impresa produce esclusivamente "Prosciutto di Parma DOP", con attenzione alla selezione della coscia fresca, alla lavorazione e alla stagionatura. Si tratta di una produzione di qualità di grande dimensione in coscia fresca, in grado di sostenere un lungo periodo di stagionatura. La produzione è integralmente della categoria merceologica "Parma grosso" e sono assenti altre produzioni di salumeria. L'attenzione che l'impresa ha rivolto alla selezione della produzione, in una fase generale non positiva per il mercato del "Prosciutto di Parma DOP", ha consentito, peraltro, di mantenere prezzi di vendita in grado di remunerare gli investimenti, con un risultato economico di utile. La vendita della produzione avviene tramite agenti, avendo come canale distributivo l'esercizio di vicinato e la gastronomia per gran parte della produzione. Le vendite in partita, alla grande distribuzione o alla distribuzione organizzata, sono canalizzate verso operatori di primaria importanza ed attenti al livello qualitativo delle produzioni.

L'analisi dei dati del conto economico della società prende l'avvio dall'analisi del valore della produzione, dato da cui emerge un volume d'affari nell'esercizio 2006 per circa 13,4 milioni di Euro. I margini reddituali sono positivi, in termini di risultato netto, pur in concomitanza con la crisi del mercato del prosciutto. Il risultato economico 2006, che evidenzia un utile per 130 mila Euro, è dato anche da una valutazione del magazzino che ha utilizzato il metodo dei costi industriali, che la proprietà ed il management hanno inteso effettuare nel rispetto dei principi contabili. Questa prudente valutazione contribuisce anch'essa sul modesto margine della materia prima.

Tab. 4 - Conto economico riclassificato del caso aziendale

CONTO ECONOMICO RICLASSIFICATO	Valori assoluti		Valori percentuali	
	Anno 2006		Anno 2006	
Ricavi delle vendite e delle prestazioni		11.790.240		88,14%
Altri ricavi e proventi		1.587.208		11,86%
Produzione dell'esercizio		13.377.448		100,00%
Rimanenze iniziali	-	6.566.753		-49,09%
Costi per materie prime, sussidiarie, di consumo...	-	7.632.106		-57,05%
Rimanenze finali		3.690.227		27,59%
Consumo di materie prime	-	10.508.632		-78,55%
MARGINE SULLA MATERIE PRIMA		2.868.816		21,45%
Costi per servizi	-	1.532.910		-11,46%
Costi per godimento di beni di terzi		-		-
Altri costi esterni di produzione	-	1.532.910		-11,46%
VALORE AGGIUNTO		1.335.906		9,99%
Costi per il personale	-	544.087		-4,07%
Accantonamento per rischi e altri accantonamenti		-		-
Oneri diversi di gestione	-	1.546		-0,01%
Costo del lavoro, accantonamenti, oneri diversi	-	545.634		-4,08%
EBITDA - MARGINE OPERATIVO LORDO - MOL		790.272		5,91%
Ammortamenti e svalutazioni	-	91.472		-0,68%
Ammortamenti e svalutazioni	-	91.472		-0,68%
EBIT - REDDITO OPERATIVO		698.800		5,22%
Proventi da partecipazione		-		-
Altri proventi finanziari		79		0,00%
Totale proventi finanziari		79		0,00%
Interessi e altri oneri finanziari	-	573.926		-4,29%
Totale oneri finanziari	-	573.926		-4,29%
Utili e perdite su cambi		5.802		0,04%
Saldo gestione finanziaria	-	568.046		-4,25%
Rivalutazioni		-		-
Svalutazioni		-		-
Saldo rettifiche di valori di attività finanziarie		-		-
Proventi straordinari		-		-
Oneri straordinari		-		-
Saldo gestione straordinaria		-		-
RISULTATO ANTE IMPOSTE		130.754		0,98%
Imposte reddito d'esercizio, correnti, differite...		-		-
UTILE (PERDITA) DELL'ESERCIZIO		130.754		0,98%

Fonte: nostre elaborazioni su dati aziendali

L'elevato livello qualitativo della produzione ha permesso di contenere gli scarti sotto l'1% del numero dei pezzi lavorati, elemento questo che permette anche di produrre un prosciutto di lunga stagionatura e di grande pezzatura in termini di peso medio. La qualità della produzione è infatti elemento della strategia dell'impresa analizzata per raggiungere la clientela del dettaglio alimentare e della distribuzione organizzata di nicchia. Ne deriva pertanto un vantaggio in termini di prezzo di vendita per effetto della differenziazione in termini di livello di qualità della produzione, per selezione delle cosce fresche, pezzatura e grado di stagionatura del prosciutto posto in vendita.

Accanto al costo di acquisto della materia prima, principale voce di costo del conto economico aziendale del comparto (Bonazzi G., 2002, op. cit.), hanno inciso sulla redditività dell'impresa l'azione di riduzione dei costi per servizi tra cui, in particolare, i costi per lavorazioni esterne ed utenze, grazie alla razionalizzazione del personale interno e alla progressiva ottimizzazione del livello

di produzione. L'impresa lavora circa 1.600 prosciutti per settimana, con una diminuzione rispetto ai 1.900 / 2.000 prosciutti per settimana lavorati nel corso dell'esercizio 2005. La diminuzione ottenuta ha permesso la riduzione delle lavorazioni che utilizzano forza lavoro esterna (artigiani e fornitori di mano d'opera) e una maggiore attenzione alla selezione dei contatti commerciali, a vantaggio dei prezzi di vendita e delle garanzie di incasso. Dall'analisi dell'esito gestionale emerge inoltre una dinamica finanziaria che presenta un saldo, in termini di incidenza quale componente negativo di reddito, del 4% circa del valore della produzione. Un'incidenza di questo livello, prossima alla soglia di attenzione, ha attirato l'attenzione da parte della proprietà, che ha attuato una serie di misure di riassetto, che verranno espone in seguito, in tema di riequilibrio della situazione finanziaria, tra cui il consolidamento del debito, con accensione di mutui a medio lungo termine nel corso dell'esercizio 2007, al fine di migliorare l'equilibrio tra impieghi finanziari e fonti di finanziamento.

Per approfondire le analisi sul risultato economico, l'analisi considera la ripartizione dei dati di costo derivanti dalla contabilità aziendale in categorie di costo, cioè Costi fissi (*CF*) e Costi variabili (*CV*). Detta scelta ha necessariamente implicato alcune semplificazioni, a motivo della non sempre immediata evidenza di appartenenza, di una voce di costo, all'una o all'altra categoria. Inoltre, parte dei costi potrebbero essere imputati alle categorie di costo definite semivariabili, cioè caratterizzate da una quota fissa ed una quota variabile (Selleri L., op. cit.). Detta ripartizione di costo, pur semplificata per certi versi, non pone il problema della classificazione dei costi sulla base di metodologie più complesse, ad esempio (Atkinson A., Kaplan R., op. cit.) sulla base dell'Activity Based Costing (ABC), anche in considerazione della realtà analizzata, caratterizzata da una mono produzione di "Prosciutto di Parma DOP" della merceologia "Parma grosso". Vi è quindi una riduzione della necessità di ripartizione dei costi per prodotto o per area aziendale, come tipicamente necessario (Selleri L., op. cit.) nel caso di imprese caratterizzate da maggior varietà di beni in produzione e con differenti centri di costo, mentre altre complessità possono essere relative a differenti aree d'affari, a differenti mercati di sbocco, a differenti stabilimenti di produzione, e così oltre. Per quanto riguarda la metodologia utilizzata nell'analisi del caso in esame è stata prevista la classificazione della voce delle Rimanenze iniziali tra le voci di costo, in questo caso come voce di Costo variabile, in ossequio ad un principio di valorizzazione dei valori aziendali sulla base del principio della competenza economica (Andrei P., Fellegara A., op. cit.), al fine di considerare, quindi, il momento di creazione del valore nel processo di trasformazione dei fattori di produzione (input) in prodotti finiti (output), preferendo questa metodologia rispetto al principio di movimentazione della liquidità finanziaria, ovvero principio di cassa (Andrei P., Fellegara A., op. cit.). Sul punto è da notare come anche i principi contabili nazionali ed internazionali, e le indicazioni normative previste dal Codice Civile italiano in merito alla tenuta della contabilità ed in merito alla redazione del bilancio d'esercizio, considerino corretto il solo principio sopra citato di competenza economica. Relativamente all'analisi del Valore della produzione, logica di classificazione prevista dal legislatore, internazionale e nazionale, come principio cardine di regolamentazione nella redazione del conto economico

civilistico, è stata classificata tra le voci di Ricavo (o Valore della produzione), la voce delle Rimanenze finali. Anche in merito a questa classificazione, come sopra esposto per la voce delle Rimanenze iniziali, si è fatto riferimento al principio della competenza economica. In questo modo la ripartizione dei valori economici, positivi e negativi considera una logica di analisi dei valori ispirata al principio della competenza economica (Andrei P., Fellegara A., op. cit.).

I dati del conto economico del caso aziendale analizzato mostrano un complesso di Valore della produzione, indicato con la simbologia di Ricavo totale (*RT*), pari a 17,073 milioni di Euro. Il dato di Valore della produzione è determinato, in parte preponderante, dalla voce relativa a Ricavi delle vendite e delle prestazioni, per 11,79 milioni di Euro. Sono in ogni caso da considerare, quali voci ulteriori, i proventi derivanti dalle lavorazioni di prosciutti di terzi, acquistati a fine lavorazione e sottoposti a successiva vendita, con classificazione tra gli Altri ricavi e proventi, con quantificazione di detta voce in 1,587 milioni di Euro. Noto, come sovente rilevato nel comparto (Bonazzi G., 2002, op. cit.), il peso delle variazioni di magazzino nella determinazione del complesso del Valore della produzione. Nel caso in esame la componente attiva delle variazioni di magazzino, cioè le Rimanenze finali con transito a conto economico assume un valore pari a 3,69 milioni di Euro. Sul punto è opportuno rilevare, in ogni caso, una notevole contrazione del magazzino aziendale. L'analisi dei dati ha messo in evidenza come la direzione aziendale abbia assunto la decisione di ridurre in modo consistente i prosciutti a magazzino, detenuti anche in considerazione di prezzi giudicati non remunerativi rilevati nel corso del 2005. Trascurabili e scarsamente influenti sul complesso del Valore della produzione sono le voci connesse ai proventi finanziari e alle operazioni su cambi. Assenti, infine, proventi derivanti da rivalutazioni o da eventi straordinari.

Tab. 5 – Analisi dei dati economici del caso aziendale (1)

	Valori assoluti €	Valori percentuali €
Ricavi totali (RT)	17.073.555	100.00%
Costi variabili (CV)	-15.675.740	-91.81%
Costi fissi (CF)	-1.267.061	-7.42%
Costi totali (CT)	-16.942.801	-99.23%

Fonte: nostre elaborazioni su dati aziendali

Relativamente alle voci di costo, nel caso aziendale oggetto di analisi, il Costo totale aziendale (*CT*), calcolato sulla base della (8), pari quindi alla somma di Costi variabili (*CV*) e Costi fissi (*CF*), è pari a 16,942 milioni di Euro. Ne consegue che l'utile netto aziendale (Profitto), calcolato sulla base della (8) è pari a 0,13 milioni di Euro. Del complesso dei costi (*CT*), 15,675 milioni di Euro sono classificabili, sulla base dell'analisi della contabilità aziendale, come Costi variabili

(CV), mentre 1,267 milioni di Euro sono classificabili come Costi fissi (CF). Nella ripartizione si deve considerare l'inevitabile grado di soggettività che deriva, in primo luogo, dalla classificazione adottata dall'impresa in sede di imputazioni contabili e, in secondo luogo, da scelte effettuate in sede di classificazione da parte di chi conduce l'analisi per ogni caso aziendale. L'analisi condotta, pur nella sua soggettività e nella semplificazione dicotomica in ripartizione dei costi, evidenzia, in modo piuttosto netto, la prevalenza della struttura dei Costi variabili, tanto sul valore della produzione, quanto sul complesso dei costi. Dall'analisi emerge infatti, un'incidenza dei Costi variabili pari ad 91,81% dei Ricavi totali, mentre l'incidenza dei Costi fissi, sempre sui Ricavi totali, è pari al 7,42%. Il dato evidenzia la già evidenziata modesta redditività aziendale rilevata nell'esercizio 2006 considerato che può scontare, peraltro, ragioni congiunturali, qui accennate e che, tuttavia, travalicano gli obiettivi del presente lavoro. Dall'analisi emerge inoltre, un'incidenza dei Costi variabili pari ad 92,52% del totale dei costi, mentre l'incidenza dei Costi fissi, sempre sul totale dei costi, è pari al 7,48%, con prevalenza dei Costi variabili all'interno della struttura di costo.

Tab. 6 – Analisi dei dati tecnici del caso aziendale

"Prosciutto di Parma DOP" merceologia "Parma grosso"	
Pezzi lavorati in ;	102 450
Peso lavorato (kg) ;	1 449 668
Peso medio per pezzo lavorato (kg) ;	14 15

Fonte: nostre elaborazioni su dati aziendali

Questo favorisce l'aumento dell'elasticità della struttura aziendale, in particolare in tema di assorbimento di oscillazioni di produzione, tema che sarà successivamente analizzato e che permette già di evidenziare come il solo costo di acquisto delle Materie prime, sussidiarie e di consumo e altre, classificato tra i Costi variabili, assorba il 44,7% del valore della produzione, ed il 45,05% dei costi totali a conferma (Bonazzi G., 2002, op. cit.) della rilevanza di detta categoria di costi nel comparto del "Prosciutto di Parma DOP". Al fine di approfondire l'analisi, in merito al calcolo del costo di produzione per unità fisica, sono stati condotti alcuni approfondimenti ulteriori, in primo luogo sulle quantità di produzione, in termini di "Prosciutti di Parma DOP" della merceologia "Parma grosso" lavorati, come unica produzione aziendale, ed in termini di peso, espresso in kg lavorati, sempre nell'anno di analisi 2006. Tali dati permettono altresì di pervenire alla conoscenza del peso medio, in termini di kg di carne suina fresca avviata alla lavorazione, per "Prosciutto", come sopra qualificato⁵. Al fine dell'analisi connessa alla

⁵ Al riguardo è da notare come dette analisi, condotte sul peso della carne fresca, cioè ancora non stagionata, avviata alla lavorazione, tengano in considerazione un dato che, pur certo, differisce dal dato di peso espresso al momento della vendita che, per effetto della stagionatura, risulta sensibilmente inferiore, a motivo della perdita di peso connaturata con il

quantificazione dei costi, in termini di Costi fissi, variabili e totali (*CF*, *CV* e *CT*) come qualificati, per unità fisiche, è opportuno evidenziare come, tra le voci oggetto di analisi, non debbano essere considerate le voci relative alle variazioni del magazzino. Infatti, i parametri tecnici di unità fisiche lavorate, cioè le quantità lavorate nel corso dell'anno, consentono di esprimere il costo della lavorazione, senza necessità di rettifiche del dato contabile, in quanto già espressione del principio di competenza economica.

Tab. 7 – Analisi dei dati economici del caso aziendale (2)

	Voci di costo al netto delle variazioni di magazzino (Rimanenze iniziali - Rimanenze finali)							
	CF €	CV €	CT €	CF (%CF)	CF (%CT)	CV (%CV)	CV (%CT)	CT (%CT)
Costi per materie prime - sussidiarie di consumo...	0	-7.632.106	-7.632.106	0,00%	0,00%	83,79%	73,56%	73,56%
Costi per servizi	-502.611	-1.030.269	-1.532.910	39,67%	4,84%	11,31%	9,93%	14,77%
Costi per godimento di beni di terzi	0	0	0	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
Costi per il personale	-97.475	-446.612	-544.087	7,69%	0,94%	4,90%	4,30%	5,24%
Accantonamento per rischi e altri accantonamenti	0	0	0	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
Oneri diversi di gestione	-1.546	0	-1.546	0,12%	0,01%	0,00%	0,00%	0,01%
Ammortamenti e svalutazioni	-91.472	0	-91.472	7,22%	0,08%	0,00%	0,00%	0,08%
Interessi e altri oneri finanziari	-573.926	0	-573.926	45,30%	5,53%	0,00%	0,00%	5,53%
Totale	-1.267.061	-9.108.987	-10.376.048	100,00%	12,21%	100,00%	87,79%	100,00%

Fonte: nostre elaborazioni su dati aziendali

I dati così analizzati evidenziano un costo totale di produzione medio nell'anno 2006, per "Prosciutto di Parma DOP" della merceologia "Parma grosso" lavorato, pari a 101,28 Euro, di cui 12,37 Euro per Costi fissi e 88,91 Euro per Costi variabili. Prevale, anche nella quantificazione dei costi per unità fisica la rilevanza della voce di costo relativa alla materie prime (data da Costi per materie prime, sussidiarie, di consumo e altre). I dati così analizzati evidenziano un costo totale di produzione medio nell'anno 2006, per kg di carne fresca avviata alla produzione, sempre per "Prosciutto di Parma DOP" della merceologia "Parma grosso", pari a 7,16 Euro, di cui 0,87 Euro per Costi fissi e 6,28 Euro per Costi variabili.

Sul punto è possibile rilevare, pur con considerazione di portata inevitabilmente limitata, dati gli obiettivi dello studio, quanto modesto appaia il margine disponibile per la remunerazione dell'apporto imprenditoriale, in termini di capitale proprio, in una situazione in cui, pur in una realtà aziendale efficiente, come esposto, i prezzi di mercato siano compressi, anche per produzioni differenziate, per lunga stagionatura ed elevato peso medio, rispetto alla media delle produzioni presenti sul mercato (Bonazzi G., 2006, op. cit.).

processo stesso di stagionatura. In questo modo, costi calcolati "ante stagionatura" e prezzi di vendita "post stagionatura" non sono confrontabili o, meglio, sono confrontabili solo ove si conosca, con precisione, il parametro tecnico di "calo in peso" derivante dal processo di stagionatura.

Tab. 8 – Analisi dei dati economici del caso aziendale (3)

Voci di costo al netto delle variazioni di magazzino (Rimanenze iniziali - Rimanenze finali)						
	CF per prosciutto €	CF per kg €	CV per prosciutto €	CV per kg €	CT per prosciutto €	CT per kg €
Costi per materie prime, sussidiarie, di consumo...	0,00	0,00	-74,50	-5,26	-74,50	-5,26
Costi per servizi	-4,91	-0,35	-10,06	-0,71	-14,96	-1,06
Costi per godimento di beni di terzi	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Costi per il personale	-0,95	-0,07	-4,36	-0,31	-5,31	-0,38
Accantonamento per rischi e altri accantonamenti	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Oneri diversi di gestione	-0,02	-0,00	0,00	0,00	-0,02	-0,00
Ammortamenti e svalutazioni	-0,89	-0,06	0,00	0,00	-0,89	-0,06
Interessi e altri oneri finanziari	-5,60	-0,40	0,00	0,00	-5,60	-0,40
Totale	-12,37	-0,87	-88,91	-6,28	-101,28	-7,16

Fonte: nostre elaborazioni su dati aziendali

7. Analisi Costi, volumi, risultati e analisi dell'elasticità di gestione del caso aziendale

Al fine dell'analisi Costi, volumi, risultati del caso aziendale sono state condotte alcune ulteriori elaborazioni finalizzate ad un approfondimento sui dati di gestione dell'impresa analizzata. Il dato evidenzia, avendo come base di calcolo la carne fresca lavorata nell'anno 2006, un Margine di contribuzione unitario (*Mcu*) pari a 0,96 Euro per kg di carne fresca avviata alla lavorazione e pari a 13,64 Euro per prosciutto avviato alla lavorazione, procedendo al calcolo sulla base della (12). È stato calcolato⁶, sulla base della (13) il Margine di contribuzione totale (*Mct*) pari a 1,397 milioni di Euro, pari a 8,19% dei Ricavi totali (*RT*), con conferma, anche per questa analisi, della prevalenza dei Costi variabili nella struttura di costo aziendale oggetto di analisi.

Interessante procedere, poi, nelle analisi, attraverso la determinazione del Punto di pareggio (*BEP*) in quantità, sulla base della (15), notando come il calcolo può essere effettuato tanto in termini di kg di carne fresca avviata alla lavorazione, quanto in termini di prosciutti lavorati. Nel primo caso, cioè calcolo del Punto di pareggio in termini di kg, il risultato della (15) sarà dato dalla quantità, in kg, di carne fresca avviata alla lavorazione. Nel caso aziendale il Punto di pareggio (*BEP*) così calcolato è pari a 1,314 milioni di kg a fronte di una quantità effettivamente lavorata pari a 1,449 milioni di kg. Nel secondo caso, cioè calcolo del Punto di pareggio in termini di prosciutti lavorati, il risultato della (15) sarà dato dalla quantità, in numero, di prosciutti lavorati, da cui deriva che il Punto di pareggio (*BEP*), è risultato pari a 92.867 prosciutti lavorati, a fronte di una quantità effettivamente lavorata pari a 102.450 prosciutti.

⁶ La metodologia di calcolo utilizza, come annotato in sede di formulazione della metodologia di calcolo del Margine di contribuzione totale (*Mct*), una quantificazione delle voci di ricavo e costo che include la variazione del magazzino, secondo la metodologia definita a Valore della produzione che considera, quindi, il principio di competenza economica.

Tab. 9 – Analisi dei dati economici del caso aziendale (4)

	Valori
Margine di contribuzione totale (Mct) (Euro)	1.397.815
Margine di contribuzione unitario (Mcu) per "kg." lavorati (Euro)	0.96
Margine di contribuzione unitario (Mcu) per "Prosciutti" lavorati (Euro)	13.64
Punto di pareggio (BEP) in "kg." lavorati (numero kg.)	1.314.063
Punto di pareggio (BEP) in "Prosciutti" lavorati (numero prosciutti)	92.867
Punto di pareggio (in fatturato) (Euro)	15.476.465
Margine di sicurezza (in quantità) in "kg." lavorati (%)	9.35%
Margine di sicurezza (in quantità) in "kg." lavorati (numero kg.)	135.604
Margine di sicurezza (in fatturato) (%)	9.35%
Margine di sicurezza (in fatturato) (Euro)	1.597.091
Fattore di utilizzo della capacità di produzione (Load factor) in "kg." lavorati (%)	78.36%

Fonte: nostre elaborazioni su dati aziendali

L'analisi del Punto di pareggio (*BEP*), espresso in termini di Ricavi totali (*RT*) con calcolo sviluppato sulla base della (19), evidenzia un valore pari a 15,476 milioni di Euro, a fronte di un Valore della produzione rilevato da conto economico aziendale pari a 17,073 milioni di Euro. Il Margine di sicurezza sul fatturato è pari al 9,35%, mentre il Load factor (*L*) è pari al 78,36%, calcolato sulla base della (22). Il calcolo di *w*, rapporto tra Costi variabili (*CV*) e Ricavi totali (*RT*), in assenza di indicazioni di dettaglio derivanti dai dati aziendali in merito ai prezzi e relative quantità, è stato condotto sulla base della (19), con un valore del rapporto *w* pari a 0,9181. Questo indica, nel caso aziendale analizzato, un'elevata incidenza dei Costi variabili (*CV*) sui Ricavi totali (*RT*)⁷. Sul punto è da notare come il rapporto tra costi variabili Costi variabili (*CV*) e Ricavi totali (*RT*) esprime la variazione del Profitto (*IT*) a seguito della variazione dei Ricavi totali (*RT*). Tale variazione è diretta conseguenza della struttura dei costi interni alle imprese, in quanto una variazione del fatturato determina una simmetrica diminuzione dei costi variabili, mentre lascia immutato il livello dei Costi fissi. In questo modo, imprese in cui la percentuale dei costi variabili è maggiore, fanno segnare una variazione meno elevata, cioè una minor reattività, del Profitto (*IT*) a seguito della variazione dei Ricavi totali (*RT*). Ne consegue che imprese caratterizzate da elevati Costi fissi (*CF*) saranno più reattive a variazione dei Ricavi totali (*RT*). Si evidenzia nel caso analizzato l'elevata incidenza (0,9181) dei Costi variabili (*CV*) sui Ricavi totali (*RT*), che pur espressiva di modesti margini reddituali, consente all'impresa in esame di adattare la propria struttura di costo alle variazioni, positive e negative dei Ricavi totali (*RT*), con vantaggio, quindi, in termini di elasticità della struttura di

⁷ Il calcolo di *w* permette di definire la relazione lineare, semplificatrice, definita dalla (20) come segue: $\Pi = RT(1 - 0,9181) - 1.267.061$. La formulazione vede la quantificazione del coefficiente angolare all'interno della parentesi, con intercetta pari al valore dei Costi fissi (*CF*).

costo aziendale⁸.

Tab. 10 – Analisi dei dati economici del caso aziendale (5)

	Valori
Grado di leva operativa	10,69
Elasticità dei costi	0,9252

Fonte: nostre elaborazioni su dati aziendali

Al fine di approfondire il tema dell'elasticità della struttura di costo aziendale è stato calcolato sulla base della (27) il Grado di leva operativa (Glo_{RT}), espressivo della variazione del Profitto (I) a seguito della variazione dei Ricavi totali (RT). Tale variazione è diretta conseguenza della struttura dei costi delle imprese, a parità di Profitto (I), in considerazione della presenza, al numeratore della (31) del Margine di contribuzione totale (Mct), dato dalla differenza tra Ricavi totali (RT) e Costi variabili (CV). Infatti, una variazione dei Ricavi totali (RT) determina una simmetrica diminuzione dei Costi variabili (CV), mentre lascia immutato, per definizione, il livello dei Costi fissi (CF). Nel caso analizzato il valore del Grado leva operativa (Glo_{RT}) è pari a 10,69, espressivo di un tasso elevato di variazione potenziale del Profitto (I) alle variazioni dei Ricavi totali (RT). Sul punto è da rilevare come si tratti di variazioni potenziali, condotte in un'ottica di analisi di breve periodo, in quanto dette variazioni sono soggette ad ipotesi quali la possibilità di vendere sul mercato eventuali incrementi di produzione, l'invarianza dei prezzi di vendita, la linearità nella relazione tra variazione dei Costi variabili (CV) e variazioni dei Ricavi totali (RT), la costanza dei Costi fissi (CF), per definizione. Il dato esprime, in concordanza con quanto rilevato per il Grado di leva operativa (Glo_{RT}), la flessibilità della struttura di costo aziendale in grado di sviluppare variazioni potenziali di Profitto (I) al variare del fatturato dato dai Ricavi totali (RT).

8. Conclusioni

Dallo studio effettuato emerge come le analisi dei costi di produzione della elasticità aziendale e della leva operativa consentano di fornire indicazioni in merito all'efficienza gestionale, in termini assoluti e in comparazione con imprese del comparto. Le analisi permettono anche di disporre di informazioni in merito alla capacità delle imprese analizzate di far fronte a shock di mercato in relazione ai

⁸ Si deve considerare come la prevalenza dei costi fissi porterebbe ad una minore elasticità della struttura di costo, cioè con minore capacità di adattamento della struttura di costo stessa alle variazioni dei Ricavi totali (RT). In particolare una situazione di contrazione dei Ricavi totali (RT), comporta una riduzione del Profitto (I), tanto maggiore quanto più è elevata l'incidenza, sul totale dei costi, della voce dei Costi fissi (CF).

volumi di produzione, ai prezzi di vendita, ed anche in relazione ad incrementi di costo, come rilevato nel mercato del prosciutto, in termini di costi di acquisto delle materie prime, in particolare coscia suina fresca da avviare alla lavorazione.

Nonostante una situazione di mercato sfavorevole, caratterizzata da una contrazione del prezzo, l'impresa oggetto di analisi ha generato un risultato d'esercizio positivo. Detto esito reddituale è stato possibile, in una situazione esterna sfavorevole, a seguito di una strategia aziendale di differenziazione della produzione, verso produzioni di nicchia, con "Prosciutto di Parma DOP" della tipologia merceologica "Parma grosso" e con lunga stagionatura, superiore ai 24 mesi. Detta strategia si accompagna ad una scelta di efficienza nella gestione aziendale, attuata mediante selezione della materia prima e attenzione alla lavorazione, fattore che permette di limitare il numero degli scarti.

L'impresa analizzata evidenzia, pur con situazioni di notevole indebitamento a sostegno del ciclo di magazzino e connessa stagionatura, il modesto peso dei costi fissi sul fatturato e sul totale dei costi, con un alto livello di Elasticità dei costi e, quindi, di reattività della struttura di costo dell'impresa ad eventuali oscillazioni di volume di produzione e fatturato. Il Costo totale di produzione, medio nell'anno 2006, per kg di carne fresca avviata alla produzione è pari a 7,16 Euro, di cui 0,87 Euro per Costi fissi e 6,28 Euro per Costi variabili. Gran parte dei costi di produzione sono quindi relativi ai Costi variabili (CV) con incidenza del 91,81% dei Costi variabili (CV) sui Ricavi totali (RT), con una prevalenza, tra dette voci di costo, dei costi per acquisto di materie prime, in particolare coscia suina fresca da avviare alla lavorazione. È da rilevare come detta situazione, tuttavia, espone l'impresa analizzata, e le imprese del comparto, ad un elemento di debolezza contrattuale nei confronti delle imprese di macellazione suina, che operano in un comparto concentrato e che, quindi, influenzano in modo deciso la redditività delle aziende del comparto del prosciutto, a motivo della possibilità di influenzare in modo rilevante i costi di approvvigionamento della carne suina.

Il Margine di contribuzione totale (Mct), è di 1,397 milioni di Euro, pari ad 8,19% dei Ricavi totali (RT), con Margine di contribuzione unitario (Mcu), di 0,96 Euro per kg di carne fresca avviata alla lavorazione, pari a 13,64 Euro per prosciutto avviato alla lavorazione. L'analisi del Punto di pareggio (BEP), espresso in termini di fatturato (o, meglio, Valore della produzione), evidenzia un valore pari a 15,476 milioni di Euro, a fronte di un Valore della produzione rilevato da conto economico aziendale pari a 17,073 milioni di Euro. Il Margine di sicurezza sul fatturato è pari al 9,35%, mentre il Load factor (L) è pari al 78,36% e il livello di Grado di leva operativa (Glo_{RT}) riscontrato nel caso in analisi è pari a 10,69, rapporto che risulta certamente elevato.

In detto scenario nello specifico del caso aziendale si nota una scelta di efficienza e differenziazione della produzione che ha consentito di ottenere un risultato economico positivo che, tuttavia, appare modesto in rapporto al fatturato ed in rapporto agli investimenti effettuati, anche a motivo di un peso notevole degli oneri finanziari sulla redditività dell'impresa. Potrà quindi essere di interesse sviluppare ulteriori analisi che, partendo dai dati di costo dell'indebitamento, approfondiscano il tema delle scelte di finanziamento, finalizzate al sostegno degli

investimenti e del ciclo di stagionatura del prosciutto, effettuate delle imprese del comparto.

Bibliografia

- 1) ANDREI P., FELLEGARA A. (2006), Contabilità generale e bilancio d'impresa, Giappichelli, Torino.
- 2) AZZINI L. (1993), Economia aziendale, Giuffrè, Milano.
- 3) ANTHONY R.N., HAWKINS D.F., MACRÌ D.M., MERCHANT K.A., (2005), Analisi dei costi, McGraw-Hill, Milano.
- 4) ATKINSON A., KAPLAN R. (2001), Advanced management accounting, UTET, Torino.
- 5) BONAZZI G. (2002), Aspetti della gestione delle imprese agroindustriali: il prosciuttificio in provincia di Parma, supplemento a L'avvenire agricolo, Anno 110, n. 6, Parma.
- 6) BONAZZI G. (2006), Prosciutto di Parma DOP e sistema dei controlli, in Annali Facoltà Medicina Veterinaria di Parma, Anno XXV, 2005, Università degli Studi di Parma, Parma.
- 7) BONAZZI G., IOTTI M. (2006), Analisi per indici nell'impresa agraria, in Annali Facoltà Medicina Veterinaria di Parma, Anno XXV, 2005, Università degli Studi di Parma, Parma.
- 8) BREALEY R. A., MYERS S. C., SANDRI S. (2003), Principi di Finanza aziendale, McGraw-Hill, Milano.
- 9) CINQUINI L. (2003), Strumenti per l'analisi dei costi. Fondamenti di cost accounting, Giappichelli, Torino.
- 10) GIACINTI R., TELLARINI V., SALVINI E., DI IACOVO F., ANDREOLI M., MORUZZO R., OLIVIERI D. (2002), Analisi e gestione economico-contabile per l'impresa agro-zootecnica, Franco Angeli, Milano.
- 11) PAVARANI E. (2006), L'equilibrio finanziario, Vol. I, McGraw-Hill, Milano.
- 12) PAVARANI E. (2006), Pianificazione finanziaria, Vol. II, McGraw-Hill, Milano.
- 13) SCIARELLI S. (2004), Fondamenti di economia e gestione delle imprese, Cedam, Padova.
- 14) SELLERI L. (2006), Contabilità dei costi e contabilità analitica, Etas Libri, Milano.

LA VALUTAZIONE DEGLI INVESTIMENTI: UN APPROFONDIMENTO ATTRAVERSO L'ANALISI LIFE CYCLE COST (LCC) NELL'IMPRESA AGRARIA¹

INVESTMENT VALUATION: A STUDY USING LIFE CYCLE COST (LCC) ANALYSIS IN THE AGRARIAN FIRM

Bonazzi Giuseppe - Iotti Mattia²

PAROLE CHIAVE:

Life cycle cost (LCC).
Indici di valutazione finanziaria.
Valutazione dei progetti di investimento.

KEY WORDS:

Life cycle cost (LCC).
Financial valuation indexes.
Investment valuation.

Sommario

Nella valutazione degli investimenti produttivi è possibile considerare tutte le fasi dell'investimento, partendo dalla progettazione sino alla dismissione, utilizzando alcuni indici di valutazione finanziaria Van, Reu, Pbpa (Trc), Tir (Sri) integrati con approfondimenti condotti attraverso la metodologia LCC. In particolare, la metodologia LCC permette di considerare e scindere le differenti componenti dell'investimento nella componente immobiliare, nella componente di gestione dell'impianto, nella componente di trasformazione del prodotto.

La valutazione è stata applicata ad un'impresa agraria ad indirizzo produttivo zootecnico bovino da latte che ha attuato una strategia di differenziazione della produzione mediante realizzazione di uno stabilimento industriale per la lavorazione e l'imbottigliamento di latte alimentare fresco.

¹ Lo studio è frutto del lavoro comune dei due autori, tuttavia, in sede di stesura del testo Giuseppe Bonazzi ha redatto i paragrafi 1, 3, 4, 7, 8 Mattia Iotti ha redatto i paragrafi 2, 5, 6.

² Sezione Risorse del Territorio, Dipartimento di Salute Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma.

L'analisi esprime come l'investimento effettuato, pur in presenza di un costo iniziale di rilievo, presenti un costo di gestione annuo modesto, tanto nella gestione della componente immobiliare, quanto nella gestione della componente impiantistica, analizzate mediante l'analisi *LCC*. Gli indici di valutazione di tipo finanziario esprimono la convenienza e la sostenibilità dell'investimento e rilevano come i flussi in entrata derivanti dalla vendita del latte alimentare fresco in bottiglia siano superiori ai flussi in uscita, generati dalle diverse componenti dell'investimento, traendo vantaggio, come emerge dagli indici calcolati, dalla trasformazione del latte nel sito produttivo oggetto di investimento, rispetto alla vendita del latte alimentare all'industria di trasformazione.

Emerge quindi come un'impresa che abbia effettuato investimenti in differenziazione della produzione e miglioramento dell'efficienza, faccia registrare risultati gestionali positivi, pur in una situazione del comparto caratterizzata da numerose situazioni di dissesto delle imprese. Si evidenzia tuttavia come i risultati siano influenzati dalle ipotesi assunte, in tema di scelta del Tasso di sconto (k), determinazione del Valore terminale dell'edificio (Vt_{OT}^m) e dell'Utile di smaltimento dell'impianto ($Us Im_{OT}^m$), che condizionano quindi gli esiti dell'analisi *LCC* e le analisi condotte con indici finanziari.

Abstract

The valuation of productive investment has to consider all investment phases, starting from initial project planning, even to the end of investment cycle. It's useful to consider financial valuation indexes, *Van*, *Reu*, *Pbpa (Trc)*, *Tir (Sri)*, related to some other analysis that are obtained using *LCC* method. In particular, *LCC* method is useful to consider different investment phases, giving attention to real estate, planting and production phases.

The methods, exposed in the methodological part, are applied to an agrarian firm with bovine milk production. The firm applies a differentiation strategies, that is obtained realizing a production plant in order to transform and bottle fresh milk.

The analysis shows a situation in which there is an important initial investment, with a quite small annual cost of running, even in the real estate and in the plant part of investment. All these investment are analysed using *LCC* method. The paper shows that financial valuation indexes express a good level of profit. The indexes express the capacity to sustain realized investment too. Moreover, the paper shows that the analysed firm is able to generate a cash flow deriving from milk sold to a transformation company, and shows that cash flow is higher than production cost deriving from different part of the investment.

It's possible to consider that the analysed company was able to produce a good profit level, because of investment realized to improve a strategy of differentiation, even in an unfavourable market scenario in which it's possible to note various cases of firm crisis.

At the end, it's important to consider that the obtained results are influenced by rate of discount (k), terminal value (V_{OT}^m) and profit obtained at the end of investment cycle ($Us Im_{OT}^m$). In this way the paper shows that *LCC* and financial indexes are influenced by assumption used in the calculation methods. This fact has to be considered in producing a general valuation of investment.

1. Premessa

La realizzazione di investimenti è un momento di rilievo nella gestione dell'impresa che deve essere sorretta da valutazioni svolte attraverso metodologie espressive della convenienza alla realizzazione e gestione dell'investimento. Per tali finalità sono utilizzati in genere indici di valutazione finanziaria, quali *Van*, *Reu*, *Pbpa (Trc)*, *Tir (Sri)*, che consentono di quantificare la convenienza di un investimento in assoluto ed in comparazione con ipotesi alternative di investimento, mediante confronto tra flussi di cassa in entrata ed in uscita derivanti dalla gestione dell'investimento. Al fine del calcolo di detti indici può essere utile quantificare il costo relativo ad investimenti in strutture attraverso l'analisi Life cycle cost (*LCC*), metodologia che permette di analizzare con maggiore dettaglio la componente immobiliare ed impiantistica dell'investimento. In tale ambito il presente lavoro prevede un'analisi condotta mediante applicazione della *LCC* e di indici di valutazione finanziaria, relativa ad un investimento realizzato da un'impresa agraria, ad indirizzo zootecnico bovino da latte, finalizzato alla differenziazione della produzione aziendale attraverso la costruzione e gestione di uno stabilimento di imbottigliamento di latte vaccino alimentare fresco.

2. L'analisi Life cycle cost (*LCC*) applicata all'investimento immobiliare

Al fine di indagare, con maggiore dettaglio, i dati di uscita connessi alla valutazione degli investimenti è possibile segmentare le voci di uscita finanziaria connesse all'investimento e, a tal fine, è possibile approfondire la valutazione delle uscite connesse al complesso della vita utile (orizzonte temporale) della componente immobiliare dell'investimento utilizzando l'analisi Life cycle cost (*LCC*). La *LCC* consente di effettuare valutazioni di costo tenendo in considerazione tutto il ciclo di vita dell'edificio e permette di valutare ipotesi alternative di investimento con l'obiettivo di scegliere quella cui è associato il minor impegno in termini di flussi finanziari in uscita. La *LCC* permette di analizzare l'investimento nel complesso della sua vita utile, tenendo in considerazione tanto l'investimento iniziale nell'edificio quanto i costi connessi alla gestione dell'edificio stesso. Tramite la *LCC* ciascuna alternativa progettuale è valutata tenendo in considerazione tutte le fasi del ciclo di vita, dalla progettazione alla dismissione finale concentrando l'analisi, a differenza del *Van*, sui soli costi, o sulle sole uscite monetarie, connesse ad un investimento. L'utilizzo della *LCC* consente un maggior approfondimento sul dato relativo all'investimento immobiliare, isolando il costo connesso a questa componente dell'investimento con riferimento alla vita utile dell'edificio. La metodologia *LCC* tiene quindi in

considerazione il fattore tempo attraverso un'attualizzazione dei flussi di cassa rilevati nel corso del complesso della vita dell'edificio che corrisponde all'orizzonte temporale di valutazione.

La *LCC* considera (Rebitzer G., Seuring B., op. cit.), come primo elemento, i costi di progettazione e costruzione dell'edificio, cioè i Costi sostenuti all'avvio dell'investimento, qui indicati come *CIEd*. Si indicano con *CPEd* i Costi di progettazione (sostenuti in genere all'anno 0) e si indicano con *CCEd* i Costi di costruzione (sostenuti in genere all'anno 0), e tali costi si esprimono come segue:

$$CIEd = CPEd + CCEd \quad (1)$$

Dove:

CIEd = costi di avvio dell'investimento nell'edificio;

CPEd = costi di progettazione dell'edificio;

CCEd = costi di costruzione dell'edificio.

Sulla base di quanto sopra indicato si ha:

$$CPEd = \sum_{p=1}^q CpEd_p \quad (2)$$

Esprimendo come:

CpEd = singola voce di costo di progettazione dell'edificio.

Sulla base di quanto sopra indicato si ha:

$$CCEd = \sum_{c=1}^g CcEd_c \quad (3)$$

Esprimendo come:

CcEd = singola voce di costo di costruzione dell'edificio.

Quindi il costo di realizzazione dell'investimento nell'edificio è espresso come due vettori riga, di cui il primo $\underline{CPEd}_{1,q} = \langle CpEd_{1,1} \dots CpEd_{1,q} \rangle$, ed il secondo $\underline{CCEd}_{1,g} = \langle CcEd_{1,1} \dots CcEd_{1,g} \rangle$, indicando con *q* e *g*, rispettivamente, il numero delle singole voci di costo rilevate o stimate per le categorie di Costo di progettazione e di Costo di costruzione.

Si indica poi come segue il Costo di gestione dell'edificio (Rebitzer G., Seuring B., op. cit.), espresso su base annua, con anni da 1 a *n* (*n* orizzonte temporale dell'analisi, inteso come vita utile dell'edificio). Il Costo di gestione dell'edificio (*CGEd*) per un anno generico *t*, $t \in [0, m]$, è espresso nel modo seguente:

$$CGEd_t = CEEd_t + CMed_t + CDEd_t \quad (4)$$

Dove:

$CGEd_t$ = costi di gestione dell'edificio nell'anno generico (t), $t: t \in [1, n]$;

$CEEd_t$ = costi per energia (E) dell'edificio nell'anno generico (t), $t: t \in [1, n]$;

$CMEd_t$ = costi di manutenzione (M) dell'edificio nell'anno generico (t), $t: t \in [1, n]$;

$CDEd_t$ = costi diversi (D) dell'edificio nell'anno generico (t), $t: t \in [1, n]$.

Esprimendo per un anno generico t , $t: t \in [0, m]$:

$$CEEd = \sum_{i=1}^h CeEd_i \quad (5)$$

Dove, rispetto alla (10):

$CeEd$ = singola voce di costo per energia.

Ed anche:

$$CMEd = \sum_{j=1}^s CmEd_j \quad (6)$$

Dove, rispetto alla (4):

$CmEd$ = singola voce di costo di manutenzione.

Ed infine:

$$CDEd = \sum_{k=1}^z CdEd_k \quad (7)$$

Dove, rispetto alla (4):

$CdEd$ = singola voce di costo diverso.

Quindi il Costo annuo di gestione è espresso come somma di tre vettori riga, $\underline{CEEd}_{1,s} = \langle CeEd_{1,1} \dots CeEd_{1,s} \rangle$, $\underline{CM}_{1,h} = \langle CmEd_{1,1} \dots CmEd_{1,h} \rangle$, $\underline{CD}_{1,z} = \langle CdEd_{1,1} \dots CdEd_{1,z} \rangle$, indicando con s , h e z , rispettivamente, il numero delle singole voci di costo per le categorie di Costo per energia (E), manutenzione (M) e diversi (D). Il Costo di gestione è valutato $\forall t, t: t \in [1, n]$, orizzonte temporale (OT) del ciclo di vita dell'edificio fissato all'anno n .

Il modello del ciclo di vita può considerare (Artto K. A., op. cit.) altresì Utile (o perdita eventuale) derivante dallo smaltimento dell'edificio o dalla sua eventuale riqualificazione:

$$UsEd_{OT}^n = RsEd_{OT}^n - CsEd_{OT}^n \quad (8)$$

Dove:

$UsEd_{OT}^n$ = utile di smaltimento dell'edificio all'anno n , $n: n = OT$;

$RsEd_{OT}^n$ = ricavi di smaltimento dell'edificio all'anno n , $n: n = OT$;

$CsEd_{OT}^n$ = costi di smaltimento dell'edificio all'anno n , $n: n = OT$.

Si determina quindi il Costo totale derivante dalla *LCC* con l'attualizzazione dei flussi rilevati nel corso della vita utile:

$$CTEd_{OT}^n = CPEd_0 + CCEd_0 + \sum_{t=1}^n \frac{CGEd_t}{(1+k)^t} + \frac{UsEd_{OT}^n}{(1+k)^n} \quad (9)$$

Dove:

$CTEd_{OT}^n$ = costo totale dell'edificio per l'orizzonte temporale all'anno n , $n: n = OT$;

$CPEd_0$ = costi di progettazione dell'edificio (all'anno 0);

$CCEd_0$ = costi di costruzione dell'edificio (all'anno 0);

$CGEd_t$ = costi di gestione dell'edificio per un anno generico (t), $t: t \in [1, n]$;

$UsEd_{OT}^n$ = utile di smaltimento dell'edificio all'anno n , $n: n = OT$;

n = orizzonte temporale (*OT*) del ciclo di vita dell'edificio espresso in anni
 $n: n = OT$;

k = saggio (tasso) di sconto.

Con espressione del Costo medio annuo come segue (orizzonte temporale n anni):

$$\overline{CTEd_{OT}^n} = \frac{CTEd_{OT}^n}{n} \quad (10)$$

Dove:

$\overline{CTEd_{OT}^n}$ = costo medio annuo dell'edificio.

Nel caso in cui non si intenda analizzare il costo dell'edificio nel corso dell'intero orizzonte temporale di vita utile (n) ma si intenda limitare l'analisi ad un periodo ridotto (m), $m: m < n$, e con $m: m = OT$ è necessario calcolare un Valore terminale dell'edificio (Vt_{OT}^m) all'anno m , $m: m < n$. A tal fine si può procedere al calcolo del Deprezzamento percentuale di un edificio industriale (D) in funzione dell'età dell'edificio, rispetto alla vita utile, (UEC, op. cit.), e calcolando per un generico anno (t), $t: t \in [1, m]$:

$$A_{OT}^t = \frac{t}{OT} \quad (11)$$

Dove:

A'_{OT} = rapporto percentuale tra l'età e la vita utile dell'edificio, in anni;

Da cui si ha:

$$D'_{OT} = \frac{(A + 20)^2}{140} - 2,86 \quad (12)$$

Dove:

D'_{OT} = deprezzamento percentuale di un edificio industriale in funzione dell'età dell'edificio, rispetto alla vita utile.

È possibile quindi esprimere il valore di un edificio industriale, deprezzato per vetustà, come segue:

$$Vt'_{OT} = (CPEd_0 + CCEd_0) - D'_{OT}(CPEd_0 + CCEd_0) \quad (13)$$

Dove:

Vt'_{OT} = valore terminale dell'edificio per un generico anno (t), $t: t \in [1, m]$.

Nel caso in cui t sia pari ad m , cioè all'orizzonte temporale, cioè (t), $t: t = m$, e con $m: m = OT$ si ha:

$$Vt'_{OT} = Vt^m_{OT} \quad (14)$$

Dove:

Vt^m_{OT} = valore terminale dell'edificio all'anno m , $m: m = OT$.

Da cui:

$$CTEd^m_{OT} = CPEd_0 + CCEd_0 + \sum_{t=1}^m \frac{CGEd_t}{(1+k)^t} + \frac{Vt^m_{OT}}{(1+k)^m} \quad (15)$$

Dove:

$CTEd^m_{OT}$ = costo totale dell'edificio per l'orizzonte temporale all'anno m , $m: m = OT$;

m = orizzonte temporale (OT) del ciclo di vita dell'edificio espresso in anni
 $m: m = OT$.

Con espressione del Costo medio annuo come segue (orizzonte temporale m anni):

$$\overline{CTEd}_{OT}^m = \frac{CTEd_{OT}^m}{m} \quad (16)$$

Dove:

$$\overline{CTEd}_{OT}^m = \text{costo medio annuo dell'edificio, } OT = m, m : m < n.$$

La compressione dell'orizzonte temporale ad un anno m è utile nel caso in cui si intendano effettuare analisi di costo congiunte con altri investimenti caratterizzati da orizzonte temporale pari all'anno m , come il caso di impianti di produzione inseriti nell'edificio caratterizzati da vita utile pari ad m , come detto.

3. L'analisi Life cycle cost (LCC) applicata all'investimento produttivo

Al fine di applicare l'analisi *LCC* ad un impianto è opportuno ampliare l'analisi precedentemente esposta analizzando i Costi industriali di produzione, distinti tra Costi di gestione dell'impianto di produzione e altri Costi di trasformazione della materia prima.

A tal fine si distingue tra costi indipendenti dalla quantità di produzione, cioè Costi fissi (*CF*) e costi dipendenti dalla quantità di produzione, cioè Costi variabili (*CV*), pur nella semplificazione insita nella distinzione dicotomica dei costi nelle sole categorie dei Costi fissi e Costi variabili. È quindi possibile esprimere il Costo industriale di produzione, in relazione alla quantità di produzione espressa in unità fisiche (q), $q: q \in [0, Q_{max}]$ per un anno generico (t), $t: t \in [1, m]$, indicando Q_{max} ad indicare la capacità produttiva massima dell'impianto.

$$CGIm_t = CVGIm_t + CFGIm_t = CvGIm_t q_t + CFGIm_t \quad (17)$$

Dove:

$CGIm_t$ = costi di gestione dell'impianto per un anno generico (t), $t: t \in [1, m]$;

$CVGIm_t$ = costo variabile di gestione dell'impianto per un anno generico (t), $t: t \in [1, m]$;

$CvGIm_t$ = costo variabile unitario di gestione dell'impianto per un anno generico (t), $t: t \in [1, m]$;

$CFGIm_t$ = costo variabile di gestione dell'impianto per un anno generico (t), $t: t \in [1, m]$;

q = quantità (q), $q: q \in [0, Q_{max}]$.

Si applica quindi la metodologia *LCC* all'impianto di produzione, in modo tale che la (9) utilizzata per l'edificio è utilizzata anche per l'analisi del ciclo di vita dell'impianto:

$$CTIm_{OT}^m = CPI_{Im_0} + CCI_{Im_0} + \sum_{t=1}^m \frac{CGIm_t}{(1+k)^t} + \frac{UsIm_{OT}^m}{(1+k)^m} \quad (18)$$

Dove:

$CTIm_{OT}^m$ = costo totale impianto per l'orizzonte temporale (OT);

CPI_{Im_0} = costi di progettazione impianto (all'anno 0);

CCI_{Im_0} = costi di costruzione impianto (all'anno 0);

$CGIm_t$ = costi di gestione impianto per un anno generico (t), $t: t \in [1, m]$;

$UsIm_{OT}^m$ = utile di smaltimento impianto all'anno m , $m: m = OT$;

m = orizzonte temporale (OT) del ciclo di vita dell'impianto espresso in anni
 $m: m = OT$.

Da cui all'orizzonte temporale (OT), fissato in m anni:

$$CTIm_{OT}^m = CPI_{Im_0} + CCI_{Im_0} + \sum_{t=1}^m \frac{CvGIm_t q_t}{(1+k)^t} + \sum_{t=1}^m \frac{CFGIm_t q_t}{(1+k)^t} + \frac{UsIm_{OT}^m}{(1+k)^m} \quad (19)$$

Considerando poi i Costi di trasformazione, sempre in relazione alla quantità di produzione espressa in unità fisiche (q), $q: q \in [0, Q_{max}]$ per un anno generico (t), $t: t \in [1, m]$:

$$CTTr_t = CVTr_t + CFTr_t = CvTr_t q_t + CFTr_t \quad (20)$$

Dove:

$CTTr_t$ = costo totale di trasformazione per un anno generico (t), $t: t \in [1, m]$;

$CVTr_t$ = costo variabile di trasformazione per un anno generico (t), $t: t \in [1, m]$;

$CvTr_t$ = costo variabile unitario di trasformazione per un anno generico (t), $t: t \in [1, m]$;

$CFTr_t$ = costo fisso di trasformazione per un anno generico (t), $t: t \in [1, m]$;

q = quantità (q), $q: q \in [0, Q_{max}]$.

Da cui il Costo industriale è espresso come:

$$CInd_t = CGIm_t + CTTr_t \quad (21)$$

Dove:

$CInd_t$ = costo industriale per un anno generico (t), $t: t \in [1, m]$;

$CGIm_t$ = costo di gestione dell'impianto per un anno generico (t), $t: t \in [1, m]$;

$CTTr_t$ = costo totale di trasformazione per un anno generico (t), $t: t \in [1, m]$;

q = quantità (q), $q: q \in [0, Q_{max}]$.

Quindi si esprime il Costo industriale di produzione per l'orizzonte temporale (OT) del progetto ($CInd_{OT}^m$), pari ad m anni, come segue:

$$\begin{aligned} CInd_{OT}^m &= CPIm_0 + CCIm_0 + \\ &+ \sum_{t=1}^m \frac{CvGIm_t q_t}{(1+k)^t} + \sum_{t=1}^m \frac{CFGIm_t}{(1+k)^t} + \frac{UsIm_{OT}^m}{(1+k)^m} + \\ &+ \sum_{t=1}^m \frac{CvTr_t q_t}{(1+k)^t} + \sum_{t=1}^m \frac{CFTr_t}{(1+k)^t} \end{aligned} \quad (22)$$

Quindi si può esprimere, all'orizzonte temporale, come segue:

$$CTInv_{OT}^m = CTED_{OT}^m + CInd_{OT}^m \quad (23)$$

E cioè:

$$\begin{aligned} CTInv_{OT}^m &= CPED_0 + CCEd_0 + \sum_{t=1}^m \frac{CGEd_t}{(1+k)^t} + \frac{Vt_{OT}^m}{(1+k)^m} + \\ &+ CPIm_0 + CCIm_0 + \sum_{t=1}^m \frac{CvGIm_t q_t}{(1+k)^t} + \sum_{t=1}^m \frac{CFGIm_t q_t}{(1+k)^t} + \frac{UsIm_{OT}^m}{(1+k)^m} + \\ &+ \sum_{t=1}^m \frac{CvTr_t q_t}{(1+k)^t} + \sum_{t=1}^m \frac{CFTr_t}{(1+k)^t} \end{aligned} \quad (24)$$

Con espressione del Costo medio annuo come segue (orizzonte temporale m anni):

$$\overline{CTInv_{OT}^m} = \frac{CTInv_{OT}^m}{m} \quad (25)$$

Dove:

$\overline{CTInv_{OT}^m}$ = costo medio annuo.

4. La valutazione degli investimenti mediante indici di valutazione finanziaria

Le valutazioni degli investimenti fondate sui flussi di cassa considerano la manifestazione nel tempo dei flussi di denaro generati dall'investimento. Queste metodologie esprimono aspetti della valutazione colti solo in parte dagli indici derivati dall'analisi del bilancio d'esercizio, che non considerano, infatti, la manifestazione dei flussi di cassa nel tempo e che, quindi, non procedono all'attualizzazione dei flussi di cassa. Gli indici di bilancio, quali *Roi*, *Roe* e *Ros* ad esempio, in quanto derivati dal bilancio d'esercizio, utilizzano valori contabili rilevati sulla base del principio civilistico detto della competenza economica.

Tra gli indici di valutazione finanziaria il Valore attuale netto (*Van*) esprime la quantità di moneta generata o distrutta per effetto dell'investimento (Pavarani E., op. cit.), tenendo in considerazione i flussi di cassa, la loro manifestazione nel tempo e l'attualizzazione dei flussi sulla base di un tasso espressivo del rischio connesso all'investimento:

$$Van = \sum_{t=0}^m \frac{FE_t}{(1+k)^t} - \sum_{t=0}^m \frac{FU_t}{(1+k)^t} \quad (26)$$

Dove:

m = orizzonte temporale della valutazione, espresso in anni;

k = saggio (tasso) di sconto;

FE_t = flusso di cassa in entrata all'anno t , $t \in [0, m]$;

FU_t = flusso di cassa in uscita al tempo t , $t \in [0, m]$.

Al fine dell'attualizzazione è possibile proporre (Pavarani E., op. cit.) una formulazione che utilizzi due distinti tassi di attualizzazione, cioè il tasso espressivo del Costo del capitale (k), al fine di attualizzare i flussi in entrata, ed il tasso espressivo del Rendimento del capitale (r), per attualizzare i flussi di cassa in uscita:

$$Van = \sum_{t=0}^m \frac{FE_t}{(1+k)^t} - \sum_{t=0}^m \frac{FU_t}{(1+r)^t} \quad (27)$$

Dove:

k = saggio (tasso) del costo del capitale;

r = saggio (tasso) del rendimento del capitale.

È altresì possibile (Guatri L., Bini M., op. cit.) procedere all'attualizzazione usando come tasso di sconto il Weighted average cost of capital (*Wacc*). Detto tasso considera, congiuntamente, il costo esplicito del capitale di terzi ed il costo implicito del capitale proprio che, in questo modo, viene esplicitato. Si esprime quindi la (26) come segue:

$$Van = \sum_{t=0}^m \frac{FE_t}{(1+Wacc)^t} - \sum_{t=0}^m \frac{FU_t}{(1+Wacc)^t} \quad (28)$$

Dove:

$Wacc$ = weighted average cost of capital.

Nel caso in cui si intenda esprimere il Van in forma di rapporto, considerando quindi non valori assoluti, si esprime come segue la (26) ottenendo il Rapporto entrate uscite (Reu), cioè:

$$Reu = \frac{\sum_{t=0}^m \frac{FE_t}{(1+k)^t}}{\sum_{t=0}^m \frac{FU_t}{(1+k)^t}} \quad (29)$$

Relativamente alla valutazione degli investimenti, si considera anche il Tempo di recupero dell'investimento attualizzato ($Pbpa$, cioè pay back period attualizzato), che esprime (Pavarani E., op. cit.) il numero di periodi necessari, in genere anni, affinché gli investitori siano ripagati dell'investimento sostenuto, per ipotesi, all'anno iniziale dell'investimento:

$$\sum_{t=1}^{Pbpa} F_t(1+k)^{-t} = F_0 \quad (30)$$

Dove:

$Pbpa$ = pay back period attualizzato;

F_t = flusso di cassa all'anno t , $t: t \in [0, m]$;

F_0 = flusso cassa negativo iniziale all'anno 0;

k = tasso di attualizzazione.

Un ulteriore indice (Pavarani E., op. cit.) è il Tasso di rendimento interno (Tir), per esprimere il tasso che annulla il Van , rendendo uguali i flussi di cassa in entrata, attualizzati, ed i flussi di cassa, sempre attualizzati, in uscita:

$$\sum_{t=1}^m F_t(1+Tir)^{-t} = F_0 \quad (31)$$

Dove:

Tir = tasso di rendimento interno;

F_t = flusso di cassa all'anno t , $t: t \in [0, m]$;

F_0 = flusso cassa negativo iniziale all'anno 0.

5. L'analisi Life cycle cost (LCC) applicata all'investimento immobiliare nel caso aziendale

L'analisi *LCC* è stata applicata con la finalità di analizzare in dettaglio i costi connessi ad un investimento di differenziazione produttiva, con aspetti di miglioramento dell'efficienza gestionale, nel caso di un'impresa agraria ad indirizzo zootecnico bovino da latte con trasformazione del latte nella struttura produttiva aziendale, tenendo in considerazione gli investimenti di tipo immobiliare ed impiantistico, oltre ad analizzare gli aspetti di gestione dell'investimento che si esplicano nell'attività di trasformazione del latte.

L'impresa analizzata opera in forma societaria nel territorio della pianura padana, con produzione di formaggio Parmigiano-Reggiano DOP e trasformazione del latte in caseificio aziendale. L'impresa, per una strategia di differenziazione della produzione, ha avviato la produzione di latte alimentare fresco con trattamento ed imbottigliamento in uno stabilimento di produzione interno all'impresa, di nuovo impianto.

La strategia di differenziazione ha previsto quindi la costruzione di un fabbricato ad uso industriale, annesso al complesso aziendale esistente, con acquisizione di un impianto di lavorazione del latte.

La capacità produttiva massima di lavorazione dell'impianto è pari a 650 litri per ora. All'avvio dell'investimento la capacità di produzione è sfruttata solo in parte, con produzione di 400 litri per ora. La produzione si svolge su un turno di produzione di 8 ore con impiego di 6 addetti a tempo pieno nell'impianto di produzione.

Per l'analisi del progetto di differenziazione è stata utilizzata la *LCC* al fine di analizzare, in maggior dettaglio, i dati relativi al costo connesso all'investimento immobiliare. A tale fine sono stati considerati nella valutazione i dati effettivi di costo sostenuti in sede di avvio dell'investimento immobiliare, nel corso dell'anno 2006, da parte dell'impresa per progettazione e costo di costruzione. Questi dati sono stati integrati con le previsioni di costo di gestione annuale e di manutenzione dell'edificio. Le previsioni sono state calcolate sulla base dei costi dell'impresa edile che ha eseguito i lavori di costruzione dell'edificio. Infine, si è proceduto alla quantificazione dell'Utile connesso allo smaltimento dell'edificio, al termine dell'orizzonte temporale previsto, per la valutazione e per l'applicazione della *LCC*.

L'edificio ha vita utile stimata pari a 50 anni, con Costo di progettazione, all'anno di avvio dell'investimento ($CPEd_0$) pari a 45,72 mila Euro e con Costo di costruzione, all'anno di avvio dell'investimento ($CCEd_0$), pari a 1,08635 milioni di Euro. Il Costo di avvio dell'investimento, calcolato sulla base della (1), sostenuto integralmente in sede di avvio dell'investimento, è pari a 1,13207 milioni di Euro.

Per quanto riguarda i costi ipotizzati del periodo iniziale all'orizzonte temporale si hanno Costi di gestione dell'edificio ($CGEd_t$), calcolati annualmente sulla base della (4) che prevedono un Costo energetico, di riscaldamento e refrigerazione, (CEE_d_t) pari a 3,6 mila Euro per anno. I Costi di manutenzione (CME_d_t) sono stati quantificati in percentuale sul Costo di avvio dell'investimento ($CPEd_0 + CCEd_0$), pari a 0,25% del Costo di avvio dell'investimento per gli anni da

1 a 5, pari a 0,5% del Costo di avvio dell'investimento per gli anni da 6 a 10, pari a 1% del Costo di avvio dell'investimento per gli anni da 11 all'orizzonte temporale ($OT = 50$, espresso in anni). Il controvalore in Euro è pari a 2,83 mila Euro per gli anni da 1 a 5, in 5,66 mila Euro per gli anni da 6 a 10, 11,321 mila Euro per gli anni da 11 all'orizzonte temporale ($OT = 50$, espresso in anni). I costi di manutenzione straordinaria, classificati sempre tra i costi di manutenzione, prevedono la manutenzione sull'impianto elettrico (anno 20 e anno 40), di gronde e camini, facciata, serramenti, relativi ponteggi, impianto idraulico e varie (anno 25).

Tab. 1 – LCC dell'edificio (Euro)

	Periodo di riferimento				
	Anno 0 €	Anni 1 - 5 €	Anni 6 - 10 €	Anni 11 - 50 €	Anni diversi €
Costo di progettazione edificio (CPEd-0)	45.720	-	-	-	-
Costo di costruzione edificio (CCEd-0)	1.086.350	-	-	-	-
Costo di gestione edificio annuo (CGEd-t) non attualizzato	-	7.562	10.392	15.791	-
Utile di smaltimento edificio (UsEd-n) non attualizzato ($OT = 50$)	-	-	-	-	226.414
Valore terminale edificio (Vt-m) non attualizzato ($OT = 20$)	-	-	-	-	873.343
Costo totale edificio all'orizzonte temporale n (CTEd-OT-n) attualizzato ($OT = 50$)	1.582.455	-	-	-	-
Costo totale edificio all'orizzonte temporale m (CTEd-OT-m) attualizzato ($OT = 20$)	459.966	-	-	-	-

Fonte: nostre elaborazioni su dati aziendali

Allo stesso modo i Costi diversi ($CDEd$) sono stati stimati in percentuale sul Costo di avvio dell'investimento ($CiEd_0$), pari a 0,1% del valore per tutto l'orizzonte temporale, cioè anni da 1 a 50 ($OT = 50$, espresso in anni), con un controvalore, quindi, di 1,132 mila Euro per anno.

In considerazione di quanto esposto i Costi di gestione ($CGEd$), esposti in tabella 1 (Tab. 1) non attualizzati, calcolati sulla base della (4) relativamente all'edificio in cui ha sede il trattamento del latte, sono crescenti da 7,562 mila Euro per gli anni da 1 a 5, 10,392 mila Euro per gli anni da 6 a 10, 15,791 mila Euro per gli anni da 11 all'orizzonte temporale ($OT = 50$, espresso in anni). Dette voci di costo sono poi attualizzate con Tasso di attualizzazione (k) pari a 0,98%, dato dalla differenza tra il rendimento medio dei Buoni Ordinari del Tesoro (BOT) annuali per il 2006, pari al 3,08% ed il tasso di inflazione medio annuo per il 2006 calcolato da ISTAT, pari a 2,1%.

Infine, per quanto riguarda l'Utile di smaltimento ($UsEd_{OT}^n$) dell'edificio, al termine della vita utile, prevista in 50 anni, questo è stato stimato al netto dei Costi di smaltimento dell'edificio, ipotizzato nella misura del 20% dell'investimento iniziale, sulla base della (8), risultando pari a 226,414 mila Euro, in valore non attualizzato. Detto valore è poi attualizzato, con Tasso di attualizzazione (k) pari a 0,98% in considerazione della manifestazione monetaria relativa, rilevata in stima all'orizzonte temporale dell'investimento (n), $n: n = OT$, $OT = 50$, espresso in anni, con valore pari a 139,038 mila Euro.

Applicando poi la LCC sulla base della (9) il Costo dell'edificio ($CTEd_{OT}^n$), attualizzato sulla base delle ipotesi di base precedentemente esposte, in tema di Tasso di attualizzazione (k) e Vita utile dell'edificio (OT), si ha un valore

pari a 1,582 milioni di Euro, con un Costo medio annuo dell'edificio ($\overline{CTEd_{OT}^n}$) calcolato sulla base della (10) pari a 31,649 mila Euro.

Nel caso in cui si intenda calcolare il Valore terminale dell'edificio per un orizzonte temporale ridotto (m), $m: m = OT, OT = 20$, espresso in anni, questo è calcolato sulla base della (13) all'anno 20, risultando pari 873,343 mila di Euro, in valore non attualizzato. Detto valore è poi attualizzato, con Tasso di attualizzazione (k) pari a 0,98% in considerazione della manifestazione monetaria relativa, rilevata in stima all'orizzonte temporale dell'investimento (m), $m: m = OT, OT = 20$, espresso in anni, con valore pari a 536,311 mila Euro.

Applicando la *LCC* sulla base della (15) il Costo dell'edificio ($CTEd_{OT}^m$), per un orizzonte temporale ridotto (m), $m: m = OT, OT = 20$, espresso in anni, attualizzato sulla base delle ipotesi di base precedentemente esposte, in tema di Tasso di attualizzazione (k), si ha un valore pari a 459,966 mila Euro, con un Costo medio annuo dell'edificio ($\overline{CTEd_{OT}^m}$) calcolato sulla base della (16) pari a 22,998 mila Euro.

6. L'analisi Life cycle cost (*LCC*) applicata all'investimento produttivo nel caso aziendale

Ai fini dell'analisi di convenienza complessiva dell'investimento industriale analizzato si deve prevedere anche l'analisi di costo relativa all'acquisizione e gestione dell'impianto di raccolta, trattamento, pastorizzazione, imbottigliamento e confezionamento del latte alimentare fresco applicando, parimenti, la metodologia *LCC* anche alla componente impiantistica dell'investimento.

Tab. 2 – *LCC* dell'impianto (Euro)

	Periodo di riferimento		
	Anno 0 €	Anni 1 - 20 €	Anno 20 €
Costo di progettazione impianto (CPI _{m-0})	30.500	-	-
Costo di costruzione impianto (CCI _{m-0})	435.200	-	-
Costo variabile gestione impianto annuo (CVGI _{m-t}) non attualizzato - prod ne 4.000 litri / giorno	-	8.468	-
Costo fisso gestione impianto annuo (CFGI _{m-t}) non attualizzato - prod ne 4.000 litri / giorno	-	6.000	-
Costo di gestione impianto annuo (CGI _{m-t}) non attualizzato - prod ne 4.000 litri / giorno	-	14.468	-
Utile di smaltimento impianto (UsI _{m-m}) non attualizzato (OT = 20)	-	-	46.570
Costo totale impianto (CTI _{m-m}) attualizzato - prod ne 4.000 litri / giorno	688.992	-	-

Fonte: nostre elaborazioni su dati aziendali

L'impianto, oggetto di analisi mediante la *LCC* ha vita utile pari a 20 anni. Il Costo di avvio di investimento dell'impianto ($CPI_{m_0} + CCI_{m_0}$), è pari a 465,7 mila Euro sostenuto integralmente in sede di avvio dell'investimento (anno 0). Tale costo risulta suddiviso in 30,5 mila Euro per Costi di progettazione (CPI_{m_0}) e 435,2 mila Euro per Costi di costruzione (acquisizione) dell'impianto (CCI_{m_0}). I Costi di gestione dell'impianto, (CGI_{m_t}) calcolati annualmente sulla base della (17), prevedono una ripartizione in Costi variabili, totali ($CVGI_{m_t}$) e unitari ($CvGI_{m_t}$), e

Costi fissi ($CFGIm_t$). Sono classificati tra i Costi variabili i Costi energetici di funzionamento dell'impianto ed i Costi di manutenzione dell'impianto. Questi costi sono stati stimati pari rispettivamente a 0,0033 Euro e a 0,0025 Euro, per litro di latte trattato. Al fine di calcolare il Costo variabile totale ($CVGIm_t$), il Costo variabile unitario ($CvGIm_t$) è stato moltiplicato per la quantità di produzione giornaliera stimata (4 mila litri per giorno), con ciclo di lavorazione a 365 giorni per anno. Data la costanza del livello di produzione per ogni anno dell'orizzonte temporale, il Costo variabile di gestione dell'impianto ($CVIm_t$) è pari a 8,468 mila Euro \forall anno t , $t: t \in [1, m]$, $m = 20$ (espresso in anni), come esposto in Tab. 2. I Costi fissi di gestione dell'impianto ($CFGIm_t$) quali assicurazioni, revisioni e simili sono pari a 6 mila Euro per anno, \forall anno t , $t: t \in [1, m]$, $m = 20$ (espresso in anni). È poi da considerare l'Utile derivante dalla smaltimento dell'impianto all'orizzonte temporale dell'investimento (m), $m: m = OT$, $OT = 20$, espresso in anni, ($Us Im_{OT}^m$) stimato pari al 10% del Costo di acquisizione dell'impianto che risulta, non attualizzato, pari ad Euro 46,57 mila Euro. Il Costo totale dell'impianto di trasformazione del latte ($CT Im_{OT}^m$), per l'orizzonte temporale (OT), fissato sulla base della vita utile dell'impianto, pari ad m anni, con $m: m = OT$, $OT = 20$, espresso in anni, calcolato sulla base della (18), quindi attualizzato nei flussi monetari, al Tasso di attualizzazione (k), pari a 0,98%, è pari a 688,992 mila Euro, come esposto in Tab. 2.

Il Costo di trasformazione, calcolato sulla base della (20) esprime il costo di acquisizione, raccolta, trattamento, pastorizzazione, imbottigliamento e confezionamento del latte alimentare fresco in bottiglie da 1 litro e confezioni da 6 bottiglie, commercializzate in scatole di cartone. L'impianto non effettua produzioni in altri formati, quali il mezzo litro, e non effettua, altresì, produzione di latticini, quali yogurt, caciotte, mozzarelle e simili. Si hanno, relativamente al Costo di trasformazione del latte, Costi variabili, unitari ($CvTr_t$) e totali ($CVTr_t$), per anno, e Costi fissi ($CFTr_t$), sempre per anno, calcolati sulla base della (20). I Costi variabili sono relativi al valore del latte prodotto dalla mandria aziendale, e trattato nell'impianto ai costi di acquisto del latte sul mercato¹ (0,3 Euro per litro di latte), ai costi per servizi tecnici (0,025 Euro per litro di latte), ai costi per materie prime di imbottigliamento (0,115 Euro per litro di latte). Si tratta di voci di costo espresse in Euro per unità di prodotto trasformato (litro di latte). Questi costi unitari moltiplicati per la quantità trasformata (q), stimata pari a 4 mila litri per giorno, per 365 giorni per anno, permettono di ottenere i Costi variabili di trasformazione annui ($CVTr_t$), che sono pari a 642,4 mila Euro per anno, per tutto l'orizzonte temporale ventennale di analisi, negli anni da 1 a m , $m: m = OT$, $OT = 20$, espresso in anni.

¹ Il Costo di trasformazione del latte include tutti i costi di produzione, compresa la materia prima trasformata (latte) prodotta in impresa, che è stata valutata al valore già in essere di un contratto per acquisti e vendite di latte con un operatore locale a vantaggio del caseificio aziendale (pari ad Euro 0,3 per litro di latte).

Tab. 3 – Costo di trasformazione e Costo industriale (Euro)

	Periodo di riferimento		
	Anno 0 €	Anni 1 - 20 €	Anno 20 €
Costo variabile trasformazione annuo (CVTr-t) non attualizzato - prod.ne 4.000 litri / giorno	-	642.400	-
Costo variabile trasformazione annuo (CVTr-t) non attualizzato - prod.ne 4.000 litri / giorno	-	246.500	-
Costo totale di trasformazione annuo (CTTr-t) non attualizzato - prod.ne 4.000 litri / giorno	-	888.900	-
Costo industriale annuo (CInd-t) non attualizzato - prod.ne 4.000 litri / giorno	-	903.368	-
Costo industriale all'orizzonte temporale m (CInd-OT-m) - attualizzato - prod.ne 4.000 litri / giorno	16.762.032	-	-

Fonte: nostre elaborazioni su dati aziendali

Sono poi da considerare i Costi fissi di trasformazione per anno ($CFTr_t$), relativi al personale dipendente, di 5 addetti in produzione per un costo di 35 mila Euro ciascuno, oltre ad una addetto con mansioni direttive con un costo di 50 mila Euro. Sempre tra i Costi fissi di trasformazione sono considerati 21,5 mila Euro di Costi industriali fissi per anno, quali costi per assicurazioni, licenze, certificazioni qualità, analisi, visite ispettive e simili. Si tratta di voci di costo indipendenti dal volume di produzione trasformato. Il Costo totale di trasformazione, per un anno generico (t), $t: t \in [1, m]$, calcolato sulla base della (20), è pari a 888,9 mila Euro, mentre il Costo industriale, sempre per un anno generico (t), $t: t \in [1, m]$, calcolato considerando i Costi dell'impianto di produzione ed i Costi di trasformazione, è pari a 903,368 mila Euro per anno, da attualizzare, poi, all'anno di avvio dell'investimento, sempre sulla base di un Tasso (k) stimato pari al 0,98%.

Il Costo industriale per l'orizzonte temporale ($CInd_{OT}^m$) calcolato sulla base della (22), quindi con orizzonte temporale OT pari ad m anni, è pari a 16,762 milioni di Euro. L'orizzonte temporale (m) utilizzato per il calcolo del Costo industriale è pari a 20 anni, sulla base della vita utile dell'impianto. Il complesso dell'investimento esprime un Costo totale ($CTInv_{OT}^m$) per l'orizzonte temporale (m), attualizzato al Tasso (k), pari alla somma dei Costi relativi all'edificio ($CTEd_{OT}^m$) e dei Costi industriali ($CInd_{OT}^m$) per il medesimo orizzonte temporale (m) e con attualizzazione al medesimo Tasso (k).

Tab. 4 – Costi ed entrate dell'investimento (Euro)

	Periodo di riferimento		
	Anno 0 €	Anni 1 - 20 €	Anni diversi €
Costo totale investimento all'orizzonte temporale m ($CTInv_{OT-m}$) attualizzato - prod.ne 4.000 litri / giorno	-	-	17.414.644
Costo totale investimento all'orizzonte temporale m medio annuo ($CTInv_{OT-m}$) attualizzato - prod.ne 4.000 litri / giorno	-	-	870.732
Entrate derivanti dalla gestione dell'investimento annue (E_t) non attualizzate - prod.ne 4.000 litri / giorno	-	-	1.095.000
Entrate derivanti dalla gestione dell'investimento all'orizzonte temporale m (ΣE_t) attualizzate - prod.ne 4.000 litri / giorno	19.799.729	-	-

Fonte: nostre elaborazioni su dati aziendali

Ad esprimere il Costo totale, attualizzato, dell'investimento concorrono tanto gli aspetti di analisi dei costi relativi all'edificio, analizzati attraverso l'analisi *LCC*, quanto gli aspetti di analisi dei costi relativi all'impianto industriale di lavorazione del latte alimentare, mediante estensione dell'analisi *LCC* all'impianto, includendo, infine, anche gli aspetti del Costo di trasformazione. In questo modo è possibile analizzare gli altri costi industriali tra cui costi per materie prime e costi del personale addetto alla produzione. Si rileva come, considerate le caratteristiche organizzative dell'impresa analizzata non sono stati inseriti, in quanto non rilevati, costi relativi a oneri finanziari e costi relativi a imposte sul reddito. Il Costo totale dell'investimento ($CTInv_{OT}^m$), calcolato sulla base della (24) è pari a 17,415 milioni di Euro. Detto dato esprime il Costo sostenuto per l'acquisizione degli investimenti iniziali (anno 0), i Costi di gestione dell'investimento (anni da 1 ad m), le entrate monetarie connesse al Valore terminale dell'edificio e allo smaltimento dell'impianto, valori questi stimati per l'anno m , cioè all'orizzonte temporale OT . Il Costo iniziale, sostenuto all'anno 0, per la realizzazione dell'edificio e dell'impianto incide per il 9,17% sul complesso dei flussi in uscita, attualizzati, sostenuti nel totale dell'orizzonte temporale. Il Costo medio annuo dell'investimento ($CTInv_{OT}^m$), calcolato sulla base della (25) è pari a 870,732 mila Euro.

7. Gli indici di valutazione finanziaria applicati al caso aziendale

Al fine di valutare la convenienza dell'investimento, in termini di creazione di flussi monetari positivi, sono stati calcolati gli indici di analisi finanziaria *Van*, *Reu*, *Pbpa (Trc)*, *Tir (Sri)*. Detti indici mettono a confronto i flussi di cassa in entrata derivanti dalla gestione dell'investimento con i flussi di cassa in uscita, connessi alla realizzazione dell'investimento ed alla sua gestione.

È quindi preliminarmente necessario, al fine del calcolo degli indici di valutazione finanziaria, analizzare le entrate connesse alla gestione dell'investimento. Le entrate, stimate sulla base dei dati di contabilità e dei

documenti contrattuali, sono generate dalla vendita del latte in bottiglia trasformato nell'impianto di produzione aziendale. La produzione giornaliera, pari a 4 mila litri per giorno, è organizzata su un turno di produzione attivo senza interruzione ogni giorno dell'anno. Il latte, confezionato in bottiglie da 1 litro, in confezioni da 6 bottiglie per confezione, è ritirato dall'impresa acquirente ogni giorno, presso l'impianto di produzione senza alcun aggravio di costi di trasporto o assicurativi. La vendita del prodotto viene effettuata sulla base di un contratto annuale, con revisione dei prezzi su base trimestrale, dall'impresa distributrice del prodotto confezionato che cura ogni aspetto della logistica e della commercializzazione del prodotto. La fatturazione della vendita avviene mensilmente, a fine mese, con dilazione di incasso pari a 30 giorni dalla data di emissione della fattura. Il prezzo di vendita del latte è pari a 0,75 Euro per bottiglia da 1 litro di latte e genera un'entrata giornaliera di 3 mila Euro, pari a 1,095 milioni di Euro per anno. In considerazione della costanza, in stima, del quantitativo di produzione giornaliera, in termini di latte lavorato ed imbottigliato, e del prezzo di vendita del latte, il flusso di cassa connesso alla gestione dell'investimento è stimato costante per tutto l'orizzonte temporale fissato in un periodo m , pari a 20 anni.

Le entrate annue non attualizzate derivanti dalla gestione dell'investimento, su una stima di produzione per 4 mila litri per giorno sono pari a 1,095 milioni di Euro per anno, non attualizzati, pari a 21,9 milioni di Euro per

l'orizzonte temporale, cioè 19,800 milioni di Euro attualizzati $(\sum_{t=0}^m \frac{FE_t}{(1+k)^t})$, al

Tasso (k) già precedentemente quantificato.

Le entrate, come sopra calcolate, sono state poste a confronto, al fine di valutare la convenienza dell'investimento nel complesso industriale analizzato, con le uscite relative quantificate attraverso la *LCC* con cui si è determinato, in primo luogo, il Costo di gestione dell'edificio per l'orizzonte temporale di analisi e, successivamente, il Costo di gestione dell'impianto di produzione ed il Costo di trasformazione industriale. Le uscite sono calcolate sulla base della (24) come segue:

$$\begin{aligned}
 CTInv_{OT}^m &= CPEd_0 + CCEd_0 + \sum_{t=1}^m \frac{CGEd_t}{(1+k)^t} + \frac{Vt_{OT}^m}{(1+k)^m} + \\
 &+ CPIm_0 + CCIm_0 + \sum_{t=1}^m \frac{CvGIm_t q_t}{(1+k)^t} + \sum_{t=1}^m \frac{CFGIm_t q_t}{(1+k)^t} + \frac{UsIm_{OT}^m}{(1+k)^m} + \\
 &+ \sum_{t=1}^m \frac{CvTr_t q_t}{(1+k)^t} + \sum_{t=1}^m \frac{CFTr_t}{(1+k)^t}
 \end{aligned}$$

Le uscite derivanti dalla gestione dell'investimento per l'orizzonte temporale sono pari a 17,415 milioni di Euro attualizzati. La formulazione della (24), che esprime l'analisi condotta attraverso la metodologia LCC, è analoga alla formulazione utilizzata nel calcolo del *Van* nella (26) per le uscite attualizzate

($\sum_{t=0}^m \frac{FU_t}{(1+k)^t}$), con attualizzazione al Tasso (k) anche in questo caso. In questo

modo si perviene al complesso dei costi di gestione e delle uscite finanziarie connesse alla realizzazione e gestione dell'investimento. Dette voci sono sottratte alle entrate derivanti dalle vendite del prodotto permettendo, quindi, il calcolo degli indici di valutazione finanziaria.

Tab. 5 – Indici di valutazione finanziaria

	Indici
Valore attuale netto (<i>Van</i>) €	2.385.084
Rapporto entrate uscite (<i>Reu</i>)	1,1370
Pay back period attualizzato (<i>Pbpa</i>) n	9,183
Tasso di rendimento interno (<i>Tir</i>) k	10,59%

Fonte: nostre elaborazioni su dati aziendali

L'analisi attraverso indici finanziari utilizza in primo luogo il Valore attuale netto (*Van*), calcolato sulla base della (26). Detto indice mette a confronto il complesso delle entrate e delle uscite derivanti dalla realizzazione e gestione del progetto, utilizzando quindi una metodologia di analisi fondata sui flussi di cassa attualizzati. Il *Van* considera i flussi finanziari in entrata ed in uscita rilevati nel corso dell'orizzonte temporale (m), incluso il Valore terminale dell'investimento. Tutti i flussi considerati sono stati scontati ad un tasso (k) già precedentemente quantificato e commentato nella metodologia di calcolo.

Sulla base dei calcoli effettuati, il *Van* è pari a 2,385 milioni di Euro, pari al 12,05% delle entrate attualizzate ($\sum_{t=0}^m \frac{FE_t}{(1+k)^t}$) e pari al 13,7% delle uscite

attualizzate ($\sum_{t=0}^m \frac{FU_t}{(1+k)^t}$). L'indice esprime come l'investimento sia in grado di

generare, con analisi condotta sull'orizzonte temporale considerato ($OT = m$, $m = 20$, espresso in anni), flussi di cassa netti positivi a favore dei promotori dell'investimento.

Il Rapporto entrate uscite (*Reu*), calcolato sulla base della (29) assume valore pari ad 1,137 ed esprime come le entrate attualizzate ($\sum_{t=0}^m \frac{FE_t}{(1+k)^t}$) siano

pari ad 1,137 volte le uscite attualizzate $(\sum_{t=0}^m \frac{FU_t}{(1+k)^t})$.

Il *Reu*, come il *Van*, esprime la convenienza dell'investimento evidenziando la prevalenza, per il 13,7% dei flussi positivi, in entrata, rispetto ai flussi negativi, in uscita.

Il Pay back period attualizzato (*Pbpa*) permette di determinare il tempo necessario, espresso in anni, affinché le entrate attualizzate siano pari alle uscite attualizzate. Il *Pbpa*, calcolato sulla base della (30), assume valore pari a 9,183 ed indica come sia necessario tale orizzonte temporale espresso in anni per il recupero dell'investimento effettuato dai portatori di capitale di rischio.

Il *Tir*, calcolato sulla base della (31), è pari al 10,59%, superiore al tasso di sconto (*k*), ad esprimere quindi come l'investimento sia sostenibile ed in grado di generare flussi finanziari netti positivi.

Gli indici finanziari evidenziano, nel caso in esame, la capacità dei flussi di cassa derivanti dalla gestione dell'investimento di remunerare i promotori, quali portatori di capitale di rischio, evidenziando la convenienza a realizzare investimenti in differenziazione della produzione e miglioramento dell'efficienza aziendale. Gli investimenti nel caso in esame, fatti in strutture immobili e tecnologia, hanno generato esiti positivi, pur in una situazione del comparto caratterizzata dalla modesta redditività del capitale e da numerose situazioni di cessazione dell'attività di produzione, spesso dovute a crisi d'impresa (Bonazzi G., Iotti M., De Paolini E., op. cit).

8. Conclusioni

Le analisi condotte permettono di evidenziare l'importanza di valutazioni che analizzino le diverse componenti dell'investimento di un'impresa, scindendo l'investimento nella componente immobiliare, nella componente di gestione dell'impianto e nella componente di trasformazione della produzione. In questo modo le metodologie di valutazione di tipo finanziario, tra cui *Van*, *Reu*, *Pbpa* (*Trc*), *Tir* (*Sri*) sono integrate con approfondimenti condotti attraverso la metodologia *LCC*. Le metodologie di valutazione di tipo finanziario mettono a confronto flussi di denaro in entrata ed in uscita derivanti dall'investimento, mentre la metodologia *LCC* permette di approfondire l'analisi relativa al costo connesso all'investimento in ogni fase della vita utile, dall'avvio alla dismissione.

Le metodologie di analisi sono state applicate al caso di un'impresa agraria ad indirizzo produttivo zootecnico bovino da latte, che ha attuato una strategia di differenziazione della produzione mediante avvio di un investimento in uno stabilimento industriale per raccolta, trattamento, pastorizzazione, imbottigliamento e confezionamento di latte alimentare fresco. L'analisi esprime come l'investimento effettuato, pur in presenza di un Costo iniziale di rilievo, presenta un Costo di gestione annuo contenuto, tanto nella gestione della componente immobiliare, quanto nella gestione della componente impiantistica. Inoltre, i flussi in entrata derivanti dalla gestione dell'investimento, generati dalla vendita del latte alimentare fresco in bottiglia ad un'impresa che cura la distribuzione al dettaglio della

produzione, sono superiori ai flussi in uscita, generati dalle diverse componenti dell'investimento in modo tale che gli indici di valutazione di tipo finanziario esprimono la convenienza e sostenibilità dell'investimento. Emerge quindi come un'impresa che ha effettuato investimenti in differenziazione della produzione e miglioramento dell'efficienza fa registrare risultati gestionali positivi, pur in una situazione del comparto caratterizzata da numerose situazioni di dissesto aziendale. L'impresa analizzata trae vantaggio, come emerge dagli indici calcolati, dalla trasformazione del latte nel sito produttivo oggetto di investimento, rispetto alla vendita del latte all'industria di trasformazione. Si rileva tuttavia come i suddetti risultati sono influenzati dalle ipotesi assunte in tema di scelta del tasso di sconto (k), determinazione del Valore terminale dell'edificio (V_{OT}^m) e dell'Utile di smaltimento dell'impianto ($Us Im_{OT}^m$). Dette assunzioni influenzano, anche in modo rilevante, gli esiti tanto delle analisi condotte con la *LCC*, quanto gli esiti delle analisi condotte con indici finanziari.

Bibliografia

- 1) ANDREI P., FELLEGARA A. (2006), Contabilità generale e bilancio d'impresa, Giappichelli, Torino.
- 2) ARTTO, K.A. (1994), Life Cycle Cost Concept and Methodologies, Journal of Cost Management, n. 8, agosto 1994.
- 3) ATKINSON A.A., BANKER R.D., KAPLAN R.S., YOUNG S.H. (1998), Management Accounting. Una prospettiva fondata sulle attività, ISEDI, Torino.
- 4) BONAZZI G., IOTTI M., DE PAOLINI E. (2006), La ristrutturazione gestionale in un'impresa agraria: l'analisi di un'impresa con zootecnia bovina da latte, Collana Quaderni di Studio, Dipartimento di Salute Animale, Sezione Risorse del Territorio, Laboratorio di gestione e contabilità agraria, Università degli Studi di Parma, Parma.
- 5) BONAZZI G., IOTTI M. (2007), La valutazione dei progetti di investimento: un'applicazione al comparto della lavorazione delle carni, in Annali Facoltà Medicina Veterinaria di Parma, Anno XXVI, 2006, Università degli Studi di Parma, Parma.
- 6) BREALEY R. A., MYERS S. C., SANDRI S. (2003), Principi di Finanza aziendale, McGraw-Hill, Milano.
- 7) DAMODARAN A. (2002), Manuale di valutazione finanziaria, McGraw-Hill, Roma.
- 8) GALLERANI V., ZANNI G., VIAGGI D. (2004), Manuale di Estimo, McGraw-Hill, Milano.
- 9) GUATRI A., BINI M. (2005), Nuovo trattato sulla valutazione delle aziende, Egea, Milano.
- 10) FABRYCKY W.J., BLANCHARD B.S. (1991), Life cycle costing and economic analysis, Prentice Hall, Englewoods Cliff, UK.
- 11) MICHIELI I., MICHIELI M. (2004), Trattato di estimo, Edagricole, Bologna.

- 12) NORRIS G.A. (2001), Integrating Life Cycle Costing Analysis and Life Cycle Assessment, The International Journal of Life Cycle Assessment, n. 6, giugno 2001.
- 13) OREFICE M., (1996), Estimo, Vol. III: Estimo industriale, UTET Libreria, Torino.
- 14) PAVARANI E. (2006), L'equilibrio finanziario, Vol. I, McGraw-Hill, Milano.
- 15) PAVARANI E. (2006), Pianificazione finanziaria, Vol. II, McGraw-Hill, Milano.
- 16) REBITZER G., HUNKELER D. (2004), Towards a code of practice for LCC: update on the progress of the SETAC LCC Working Group. SETAG Globe, Usa.
- 17) REBITZER G., SEURING B. (2003), Methodology and Application of Life Cycle Costing, The International Journal of Life Cycle Assessment, n. 8, giugno 2003.
- 18) SCIARELLI S. (2004), Fondamenti di economia e gestione delle imprese, Cedam, Padova.
- 19) SELLERI L. (2006), Contabilità dei costi e contabilità analitica, Etas Libri, Milano.
- 20) TORQUATI B. (2003), Economia e gestione dell'impresa agraria, Edagricole, Bologna.
- 21) UEC, UNIONE EUROPEA DEGLI ESPERTI ECONOMICI, CONTABILI E FINANZIARI (1973), La valutazione delle aziende o delle parti di azienda, Etas-Kompass, Milano.

PROSCIUTTO DI MODENA DOP E CERTIFICAZIONI E CONTROLLI NELLA FILIERA DELLE CARNI SUINE PER LE DOP

Bonazzi Giuseppe ¹

PAROLE CHIAVE:

Prosciutto di Modena DOP, controlli DOP, Istituto Parma Qualità

KEY WORDS:

Modena PDO Ham, PDO controls, Istituto Parma Qualità

Riassunto

L'economia della provincia di Modena è caratterizzata dalla presenza di una importante industria alimentare della lavorazione delle carni con produzione di prodotti tipici DOP e IGP.

Il Prosciutto di Modena è un prodotto a Denominazione di Origine Protetta, l'attività di controllo viene svolta dall'Istituto Parma Qualità che ha il compito di svolgere controlli e verifiche in tutte le fasi della filiera produttiva fino all'apposizione del marchio. Nel 2006 sono stati giudicati conformi e quindi marchiati come Prosciutto di Modena DOP 134.672 prosciutti.

L'attività di controllo evidenzia come il comparto suinicolo italiano abbia raggiunto un elevato livello di controllo e certificazione di filiera e sia in grado di offrire garanzie di standardizzazione e di omogeneizzazione tutte finalizzate ad una attenta politica di qualità attraverso il sistema di controllo integrato attuato da INEQ – IPQ.

La filiera produttiva suinicola controllata nel 2006 era costituita da 5.119 allevamenti, sono stati certificati 8.889.031 suini adulti, sono stati macellati in 126 macelli 8.842.856 suini per le produzioni DOP oltre alle successive fasi di produzione ed elaborazione certificate.

Tutto questo è attuato a vantaggio dei consumatori e del sistema distributivo, dei produttori e più in generale di tutti gli operatori della filiera.

Abstract

The economy of the province of Modena is characterized by the presence of an important food industry of processing beef to produce typical PDO and PGI products.

The Prosciutto di Modena is a product with Protected Designation of Origin, control activities are carried out by Istituto Parma Qualità that has the task of conducting checks and inspections at all stages of production chain until the

¹ Sezione Risorse del Territorio, Dipartimento di Salute Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma.

application of the mark. In 2006 have been found in conformity and then branded as Prosciutto di Modena PDO 134,672 hams.

The audit shows how the Italian pig sector has reached a high level of control and certification of chain. It is able to offer guarantees of standardisation and homogeneity aimed at a careful policy of quality because of integrated control system implemented by INEQ - IPQ.

The pig production chain controlled in 2006 consisted of 5,119 farms. In the chain, 8,889,031 adult pigs were certified, 8,842,856 adult pigs for PDO production were slaughtered in 126 pig slaughterhouses, in addition to subsequent stages of production and certified transformation.

All this is implemented for the benefit of consumers, distribution system, producers and more generally of all operators in the chain.

1. Premessa

In Italia è presente una rilevante attività collegata all'allevamento e alle lavorazioni delle carni suine, nel 2006 il patrimonio suinicolo nazionale era di 9,281 milioni di capi. Il valore della produzione suinicola nazionale sempre nel 2006 è stato stimato in 2.255,518 milioni di euro ed i capi macellati sono stati 13.380.007. Il quantitativo di carne suina macellata in Italia è stato di 1.559.243 t, quello importato 891.163 t mentre quello esportato 129.649 t, pertanto la disponibilità interna di carne suina è stata di 2.230.757 t.

Il comparto dei salumi ha avuto un fatturato all'ingrosso di 7.379 milioni di euro pari ed una produzione di 1,162 milioni di tonnellate. Tra i salumi prosciutto crudo e prosciutto cotto rappresentano quasi la metà della produzione nazionale con rispettivamente una quota del 23,94% e del 24,21% per quantità prodotta a seguire vi sono mortadella con il 14,76 % e salame con il 9,37%, in termini di valore il prosciutto crudo rappresenta invece il 26,33%, il prosciutto cotto il 24,34%, la mortadella l'8,88% e il salame il 12,24%.

Nel 2006 i consumi di carne suina fresca e trasformata sono stati di 1,834 milioni di t corrispondenti ad un consumo pro-capite di 31,7 kg, il consumo medio pro-capite di carne fresca è stato di 12,6 kg (730.000 t) mentre quello di salumi di 19,1 Kg (1,103 milioni di t).

Tab. 1 - Produzione italiana di salumi in quantità e in valore - Anno 2006

Prodotti	Quantità 000 t	Quantità %	Valore 000.000 €	Valore %
Prosciutto cotto	281,2	24,21	1.796	24,34
Prosciutto crudo	278,1	23,94	1.943	26,33
Mortadella	171,5	14,76	655	8,88
Salame	108,9	9,37	903	12,24
Wurstel	58,1	5,00	204	2,76
Pancetta	52,4	4,51	239	3,24
Coppa	43,5	3,74	306	4,15
Speck	27,8	2,39	269	3,65
Bresaola	16,9	1,45	227	3,08
Altri prodotti	123,3	10,61	837	11,34
Totale	1.161,7	100,0	7.379	100,0

Fonte: ASS.I.CA.

Nella provincia di Modena rilevanti sono le attività collegate alle lavorazioni delle carni in particolare quelle suine, infatti il comparto della lavorazione delle carni presenta un fatturato di oltre 880 milioni di euro.

L'industria alimentare della provincia di Modena si caratterizza per la presenza di piccole e medie imprese, anche se il numero delle imprese più strutturate sia in termini di numero di occupati, sia in termini di produzione realizzata risulta in aumento. Nel comparto della lavorazione dei salumi prevalgono ancora imprese di piccole e medie dimensione, mentre nel settore delle carni vi è la presenza di grandi imprese.

Le esportazioni di prodotti alimentari nella provincia di Modena hanno sfiorato nel 2006 i 650 milioni di euro, le esportazioni di carne e prodotti a base di carne rappresentano il 43,4% del totale di prodotti esportati, con un valore di oltre 337 milioni di euro. Le importazioni di prodotti alimentari hanno raggiunto un valore di 927 milioni di euro, e rappresentano il 21,4% del totale dell'import provinciale. Di notevole rilevanza risulta essere l'importazione di carne e prodotti a base di carne che da sola rappresenta l'81,2% delle importazioni alimentari provinciali complessive raggiungendo un valore di 789 milioni di euro. Oltre il 90% della carne importata proviene dall'Europa (in particolare Olanda, Germania e Danimarca).

Nella produzione salumiera modenese il prosciutto crudo è il salume più importante, rappresenta infatti il 39% del valore complessivo, è presente sia come prosciutto non marchiato con cosce di origine nazionale od estera, sia come Prosciutto di Modena DOP, tra i salumi crudi vi sono inoltre buone produzioni di salami, coppe e pancette, tra i salumi cotti spicca la produzione di Mortadella di Bologna IGP, Zampone di Modena IGP e Cotechino di Modena IGP, anche se il prodotto principale rimane il prosciutto cotto che rappresenta il 17% del valore complessivo.

2. Prosciutto di Modena DOP

Il Reg. (CEE) n. 2081/92 tutela le Denominazioni di Origine e le Indicazioni Geografiche dei prodotti agricoli e alimentari e con il Reg. (CE) n. 510/2006 è strumento per la salvaguardia dei consumatori e dei produttori.

La Denominazione di Origine Protetta (DOP) è un marchio che designa un prodotto originario di una regione e di un paese le cui qualità e caratteristiche siano essenzialmente o esclusivamente dovute all'ambiente geografico, comprendendo in questo anche i fattori naturali e umani. Tutta la produzione, trasformazione ed elaborazione del prodotto, inoltre, deve avvenire in un'area delimitata nel pieno rispetto del Disciplinare di Produzione. L'Unione Europea ha attribuito la Denominazione di Origine Protetta (DOP) al Prosciutto di Modena nel 1996.

Per difendere e tutelare la qualità del prosciutto di Modena nel 1969 nacque in forma volontaria il Consorzio del Prosciutto di Modena con lo scopo di tutelare e valorizzare questa produzione tradizionale del territorio. Il riconoscimento legislativo è avvenuto con la legge n. 11 del 12 gennaio 1990 "Tutela della denominazione d'origine del Prosciutto di Modena, delimitazione della zona di produzione e caratteristiche del prodotto" e con iscrizione nel "Registro delle denominazioni di origine protette e delle indicazioni geografiche protette" ai sensi del Reg. Cee 1107/96. L'attività del Consorzio è finalizzata alla promozione e valorizzazione del Prosciutto di Modena ed alla salvaguardia delle caratteristiche organolettiche e nutrizionali del prodotto. Il Disciplinare di produzione definisce tutta la regolamentazione relativa agli aspetti della produzione del Prosciutto di Modena: le razze suine utilizzate, le tecniche di allevamento, i requisiti dei suini destinati alla lavorazione del Prosciutto di Modena, la provenienza della materia prima, la delimitazione della zona geografica di produzione, i metodi e la durata della stagionatura e le caratteristiche qualitative del prodotto finito.

Nel 2006 il Consorzio del Prosciutto di Modena associava 12 imprese consorziate, con una potenzialità produttiva complessiva di circa 1.500.000 pezzi, mentre la produzione omologata a Denominazione d'Origine Protetta è stata solo di 150.674 pezzi.

Il Prosciutto di Modena DOP può essere prodotto nella zona collinare insistente sul bacino oro-idrografico del fiume Panaro e sulle valli confluenti e che, partendo dalla fascia pedemontana, non supera i 900 metri di altitudine, comprende i comuni di Castelnuovo Rangone, Castelvetro, Spilamberto, San Cesario sul Panaro, Savignano sul Panaro, Vignola, Marano, Guiglia, Zocca, Montese, Maranello, Serramazzone, Pavullo nel Frignano, Lama Mocogrio, Pievepelago, Riolunato, Montecreto, Fanano, Sestola, Gaggio Montano, Monteveglio, Savigno, Monte San Pietro, Sasso Marconi, Castello di Serravalle, Castel d'Aiano, Bazzano, Zola Predosa, Bibbiano, San Polo d'Enza, Quattro Castella, Canossa (già Ciano d'Enza), Viano, Castelnuovo Monti. In tale zona devono essere ubicati gli stabilimenti di produzione e devono quindi svolgersi tutte le fasi di trasformazione della materia prima, previste dal Disciplinare di produzione fino alla stagionatura completa.

I laboratori di confezionamento e affettamento del Prosciutto di Modena devono essere ubicati nel territorio delle province di Modena, Reggio Emilia e

Bologna, dove sono compresi i comuni sopraelencati.

La materia prima, le cosce, invece provengono da un'area geograficamente più ampia della zona di trasformazione, che comprende le regioni Emilia Romagna, Veneto, Lombardia, Piemonte, Molise, Umbria, Toscana, Marche, Abruzzo, Lazio, Friuli Venezia Giulia.

I suini sono di razza Large White Landrace e Duroc, così come migliorate dal libro genealogico italiano, sono inoltre ammessi gli animali di altre razze, meticci ed ibridi, purché provengano da schemi di selezione od incrocio con finalità compatibili con quelle del libro genealogico.

I suini destinati alla produzione del Prosciutto di Modena DOP vengono tatuati dall'allevatore entro i primi trenta giorni dalla nascita su entrambe le cosce, seguono poi apposizione di altri marchi che verranno apposti nel macello, con individuazione dello stabilimento di macellazione, l'inizio della stagionatura e al termine la certificazione.

La lavorazione del Prosciutto di Modena DOP inizia con la rifilatura della coscia che consiste nell'asportazione di parte del grasso e delle cotenna e che porta alla caratteristica forma tondeggiante. La coscia raffreddata e rifilata viene avviata dai macelli agli stabilimenti di salagione, dove si ha l'aspersione del cloruro di sodio in due fasi successive e per un periodo complessivo di 20 giorni circa. La coscia viene poi posta a riposo in una cella a temperatura ed umidità controllata per circa 60 giorni, in questa fase il sale assorbito penetra in profondità distribuendosi uniformemente all'interno della massa muscolare. Dopo il periodo di riposo, il prosciutto viene lavato con acqua tiepida per togliere eventuali cristalli di sale o impurità e viene poi avviato alla vera e propria stagionatura in ambienti a temperatura ed umidità naturale, grazie alla costante ventilazione ed aerazione; durante la stagionatura viene effettuata la sugnatura, in cui la parte muscolare scoperta viene ricoperta di sugna, un impasto di strutto, sale, pepe e derivati di cereali, che svolge la funzione di ammorbidire gli strati muscolari superficiali evitando un'asciugamento degli stessi troppo rapido rispetto a quelli interni, pur consentendo un'ulteriore perdita di umidità. La durata complessiva della stagionatura è di circa un anno e varia in base alla pezzatura dei prosciutti, non può essere comunque inferiore a nove mesi. Le caratteristiche del prodotto al termine della stagionatura sono la forma a pera, il peso minimo non inferiore ai 7 chilogrammi, il colore rosso vivo del taglio, il sapore sapido ma non salato, l'aroma di profumo gradevole, dolce ma intenso nelle prove all'ago e la consistenza caratteristica della carne dell'animale di provenienza. Al termine della fase di stagionatura e dopo appositi accertamenti effettuati dagli Ispettori dell'Istituto Parma Qualità (IPQ) viene apposto il marchio Prosciutto di Modena DOP.

L'Istituto Parma Qualità è un istituto per il controllo e la certificazione di conformità di prodotti alimentari a denominazione, indicazione e designazione protetta, insieme a IPQ opera anche INEQ (Istituto Nord Est Qualità), entrambi gli istituti sono nati nel 1997 per volontà dei Consorzi di tutela, delle industrie di macellazione e degli allevamenti suinicoli, operano secondo i principi dettati dalla norma UNI EN 45011, sotto la sorveglianza del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali (Mipaaf). IPQ e INEQ devono attestare la conformità di un processo produttivo e/o di un prodotto rispetto alle prescrizioni dettate dal Disciplinare di Produzione e dopo

le opportune verifiche devono apporre il contrassegno di certificazione DOP.

Il Reg. CEE n. 2081/92 all'art. 10 prescrive l'istituzione a livello nazionale di "strutture aventi il compito di garantire che i prodotti agricoli e alimentari recanti una Denominazione Protetta rispondano ai requisiti del Disciplinare", così come modificato dal Reg. CE n. 510/2006 art. 10; a tal fine con la legge n. 128/98 art. 53 modificato con la legge n. 526/99 art. 14 il Mipaaf è l'Autorità nazionale di controllo che garantisce l'applicazione del Regolamento (CE) n. 510/2006, verifica pertanto periodicamente ordinamenti, metodi, piani, organigrammi e programmi di tutti gli Istituti di certificazione e presta la garanzia dello Stato e dell'Unione Europea sui prodotti DOP-IGP.

3. Attività di controllo

Il sistema di controllo attuato da INEQ e IPQ prevede un controllo a monte della filiera con il controllo dei requisiti di origine e di conformità della materia prima e del processo produttivo fino alla macellazione ed un controllo a valle di filiera con il controllo dei requisiti di conformità e di qualità del prodotto fino all'apposizione dei marchi.

Il sistema di controllo parte quindi dall'allevamento: gli allevatori che producono suini devono fornire garanzie sull'origine, sulla nascita, sul tipo genetico e sulle metodiche di alimentazione e di allevamento ed entro trenta giorni devono apporre su entrambe le cosce del suino un tatuaggio indelebile che riporta un codice alfanumerico che identifica la sigla della provincia di provenienza, il numero attribuito all'allevamento e una lettera alfabetica corrispondente al mese di nascita dell'animale.

Per quanto riguarda l'alimentazione, gli allevamenti che curano l'accrescimento dei suini devono documentare integralmente la propria attività, vengono eseguiti pertanto controlli di impieghi e somministrazioni nelle varie fasi di allevamento. Tra i diversi requisiti qualitativi verificati vi è quello della conformità del grasso e della determinazione del numero di iodio.

Gli allevamenti riconosciuti nel 2006 ai fini delle DOP sono stati 5.119, localizzati in 11 regioni del centro nord Italia (Abruzzo, Emilia Romagna, Friuli Venezia Giulia, Lazio, Lombardia, Marche, Molise, Piemonte, Toscana, Umbria e Veneto). Il numero maggiore di allevamenti è presente in Lombardia con 1.995 allevamenti, mentre il Piemonte ha 1.031 e l'Emilia Romagna ha 1.024, corrispondenti ad una percentuale rispettivamente del 38,97%, 20,14% e 20,00% sul totale degli allevamenti.

Tab. 2 - Distribuzione regionale degli allevamenti riconosciuti ai fini delle DOP -Anno 2006

Regione	Allevamenti n	Allevamenti %
Lombardia	1.995	38,97
Piemonte	1.031	20,14
Emilia Romagna	1.024	20,00
Veneto	452	8,83
Umbria	196	3,83
Friuli-VG	151	2,95
Marche	108	2,11
Toscana	97	1,89
Abruzzo	27	0,53
Lazio	22	0,43
Molise	16	0,31
Totale	5.119	100,00

Fonte: Istituto Parma Qualità

Per quanto riguarda la distribuzione dei suini per tipo genetico, su dati 2006, il 59,5% dei suini certificati deriva da figlio di verro ibrido, il 24,9% da figlio meticcio di verri di altre razze, il 14,2% da Large White o figlio di verro Large White, mentre solo l'1,4% deriva da suini Landrace o figlio di verro Landrace.

Tab. 3 - Tipo genetico per suini conferiti per la macellazione - Anno 2006

Tipo genetico certificato	% sul totale delle certificazioni
Figlio di verro ibrido	59,50
Figlio meticcio di verri di altre razze	24,90
Large White o figlio di verro LW	14,20
Landrace o figlio di verro LA	1,40
Totale	100,00

Fonte: Istituto Parma Qualità

L'allevatore è obbligato a rilasciare per i suini avviati alla macellazione una dichiarazione chiamata C.U.C. (Certificazione Uniformata di Conformità) che attesti la conformità alle prescrizioni del disciplinare di produzione, tale dichiarazione viene rilasciata in triplice copia in quanto una copia va trasmessa al macello, una a IPQ e una terza viene conservata agli atti.

I suini arrivano al macello quindi tatuati e con la C.U.C.. I macelli, che

intendono fornire cosce per la produzione del Prosciutto di Modena DOP, devono essere abilitati da IPQ che rilascia loro un apposito codice di identificazione. Il macello dovrà quindi apporre sulle cosce un timbro a fuoco con il proprio codice di riconoscimento attestante la conformità. Per ogni singola partita di cosce suine con timbro a fuoco, destinate ad un prosciuttificio, il macello rilascerà inoltre una Dichiarazione Cumulativa del Macello (D.C.M.) che è una dichiarazione attestante la destinazione finale delle cosce, il numero di cosce, l'elencazione degli allevamenti di provenienza con gli estremi della C.U.C. e la data di macellazione delle partite certificate; tale documento viene raccolto da IPQ INEQ per il controllo e la registrazione elettronica.

I suini certificati alla macellazione nel 2006 sono stati 8.889.031 dal dato, in base al riparto regionale, si evidenzia il ruolo della Lombardia che da sola rappresenta oltre la metà dei capi sia per nascita (55,04%) che per ingrasso finale (54,21%), seguita da Emilia Romagna, Piemonte e Veneto.

Tab. 4 - Origine e provenienza dei suini certificati adulti alla macellazione (regioni di nascita e ingrasso finale) - Anno 2006

Regione	Suini per origine		Suini per provenienza alla macellazione	
	n	%	n	%
Lombardia	4.892.742	55,04	4.819.025	54,21
Emilia Romagna	1.324.955	14,91	1.389.376	15,63
Piemonte	1.063.701	11,97	1.354.053	15,23
Veneto	934.184	10,51	683.329	7,69
Friuli-VG	336.788	3,79	214.904	2,42
Umbria	144.297	1,62	172.796	1,94
Toscana	86.193	0,97	92.309	1,04
Abruzzo	62.424	0,70	28.416	0,32
Marche	36.440	0,41	63.871	0,72
Lazio	6.499	0,07	64.815	0,73
Molise	0	0,00	6.137	0,07
Non definibile	808	0,01	0	0,00
Totale	8.889.031	100,00	8.889.031	100,00

Fonte: Istituto Parma Qualità

I macelli operativi nel 2006 erano 126 ed hanno macellato 8.842.856 capi suini, i macelli sono localizzati principalmente in Lombardia, 37 macelli che macellano oltre 3,8 milioni di suini, il 43,42% dei capi e in Emilia Romagna, 28 macelli che macellano oltre 3,2 milioni di suini, il 36,43%, complessivamente in Lombardia ed Emilia Romagna si macella il 79,8% dei capi.

Le province di Mantova con 2.093.160 capi macellati, Cremona con 1.537.565, Modena con 1.341.908 e Parma con 1.032.814 macellano complessivamente il 67,9% dei suini.

Tab. 5 - Distribuzione regionale dei macelli e dei suini macellati ai fini delle DOP - Anno 2006

Regione	Macelli		Suini	
	n	%	n	%
Lombardia	37	29,37	3.839.429	43,42
Emilia Romagna	28	22,22	3.221.676	36,43
Piemonte	20	15,87	645.429	7,30
Veneto	13	10,32	165.572	1,87
Toscana	10	7,94	141.582	1,60
Lazio	5	3,97	272.811	3,09
Friuli VG	4	3,17	80.766	0,91
Marche	4	3,17	93.744	1,06
Abruzzo	3	2,38	154.649	1,75
Umbria	2	1,59	227.198	2,57
Totali	126	100,00	8.842.856	100,00

Fonte: Istituto Parma Qualità

Il laboratorio di sezionamento ha gli stessi obblighi del macello, disposti dal Disciplinare, ed integra la documentazione prevista con fotocopia dei documenti che, ai sensi della vigente normativa amministrativa e sanitaria, ha accompagnato il trasferimento delle mezzene o degli altri tagli da uno dei macelli comunque riconosciuti.

Le cosce sezionate e rifilate vengono inviate al prosciuttificio alla temperatura di 0-4°C (raggiunta nelle 12-24 ore successive alla macellazione). Gli stabilimenti che intendono produrre il Prosciutto di Modena DOP devono essere preventivamente riconosciuti dal Ministero della Salute, da IPQ e dal Ministero dell'Industria. In particolar modo gli stabilimenti devono essere situati nella zona tipica di produzione prevista dal Disciplinare di Produzione.

Il prosciuttificio al momento del ricevimento delle cosce verifica che le cosce rechino il timbro di identificazione del macello, il tatuaggio di identificazione dell'allevamento di origine e i requisiti di taglio e preparazione disposti dal Disciplinare. A questo punto il prosciuttificio compila un Documento di Omologazione (DO) che descrive la partite di cosce fresche ricevute dal macello e considerate dalla selezione aziendale e dall'organismo di controllo conformi, su queste cosce viene apposto un timbro con sigillo metallico recante la data d'inizio lavorazione. Le cosce fresche vengono quindi avviate alla produzione di Prosciutto di Modena DOP.

Nel 2006 il numero di cosce fresche omologate e quindi pronte per la lavorazione del Prosciutto di Modena DOP è stato di 150.674.

Nel 2006 sono stati presentati all'omologa 172.859 cosce fresche, di queste sono state giudicate non conformi da IPQ lo 0,5% delle cosce, pari in valore assoluto a 880 cosce. Accanto a queste cosce devono essere considerate anche le cosce non omologate per effetto dell'autocontrollo aziendale che si sono attestate a 21.305

cosce. La percentuale di cosce omologate sul totale di cosce presentate nel 2006 è stata dell'87,17%.

Tab. 6 - Approvvigionamento delle cosce suine fresche ai fini della DOP Prosciutto di Modena – Anni 2002-2006

Periodo	Tot. presentato n	Tot. non conforme n	Tot. non omologato n	Tot. omologato DOP n	Omologato DOP %
2002	211.374	1.044	14.692	195.638	92,56
2003	202.446	1.025	16.495	184.926	91,35
2004	211.338	1.065	22.755	187.324	88,64
2005	179.974	1.104	24.723	154.147	85,65
2006	172.859	880	21.305	150.674	87,17

Fonte: Istituto Parma Qualità

Per quanto riguarda il trend del numero di cosce fresche omologate e quindi avviate alla produzione DOP Prosciutto di Modena, i dati dell'Istituto Parma Qualità indicano un decremento nel periodo 2002-2006, con un valore che è passato da 195.638 nel 2002 a 150.674 nel 2006.

Le cosce sono soggette a verifiche a campione in tutte le fasi di lavorazione, dalla salagione iniziale fino alla fase di stagionatura. Al termine della salagione, vi è la verifica analitica a campione di alcuni importanti parametri analitici quali il contenuto di umidità, il sale, l'indice di proteolisi ecc.. Al termine della stagionatura tutte le singole partite di prosciutti stagionati vengono preposte al controllo di IPQ per accertare il compimento della stagionatura minima e accertare lo standard qualitativo con test che verifichino l'assenza di pregiudizi morfologici, tecnici e organolettici. Sotto la sorveglianza degli ispettori IPQ e solo per i prodotti giudicati idonei e conformi al disciplinare di produzione viene apposto il marchio con il timbro a fuoco del prodotto. L'Organismo di controllo custodisce tutti gli strumenti per l'apposizione del contrassegno contro ogni sospetto di contraffazione punita legalmente. Le fasi di lavorazione del prodotto, gli esiti delle verifiche ispettive compiute dall'Organismo di controllo, i dati del DO e il numero di cosce marchiate a fine lavorazione sono registrati da IPQ.

Nel 2006 sono stati controllati 136.743 prosciutti stagionati con osso per l'apposizione del contrassegno Prosciutto di Modena DOP, 2.071 prosciutti sono stati distolti dalla produzione a DOP per effetto dell'attività di controllo di IPQ, 583 prosciutti sono stati giudicati non conformi per effetto dell'autocontrollo dei produttori, mentre 134.672 prosciutti sono risultati conformi e in possesso dei requisiti previsti dal disciplinare e quindi sono stati marchiati con timbro a fuoco Prosciutto di Modena DOP.

Tab. 7 - Controllo finale di conformità per l'apposizione del contrassegno del Prosciutto di Modena DOP sui prosciutti stagionati – Anni 2002-2006

Anno	Prosciutti stagionati controllati	Prosciutti stagionati non conformi*	Prosciutti stagionati distolti**	Prosciutti stagionati conformi
	n	n	n	n
2002	138.291	2.294	-	135.997
2003	173.771	3.718	1.972	170.053
2004	179.977	3.319	351	176.658
2005	151.981	2.271	61	149.710
2006	136.743	2.071	583	134.672

* Prosciutti giudicati non conformi per effetto dell'autocontrollo dei produttori.

** Prosciutti distolti dalla produzione a DOP per effetto dell'attività di controllo di IPQ.

Fonte: Istituto Parma Qualità

Fig. 1 - Marchio Prosciutto di Modena



Fonte: Consorzio del Prosciutto di Modena

Anche per le fasi successive di disosso e confezionamento, su ogni confezione deve essere riprodotto il marchio del Consorzio e la citazione della legge nazionale n. 11/90, la ragione sociale dello stabilimento di lavorazione, la data di produzione, il termine minimo di conservazione, l'identificazione del lotto e le modalità di conservazione.

Nel 2006 sono stati affettati sotto il controllo di IPQ 1.494 prosciutti con una produzione di 63.070 confezioni.

La produzione di Prosciutto di Modena DOP è limitata sia complessivamente che per prosciuttificio rispetto alla capacità produttiva che è di 1.500.000 pezzi. Se analizziamo il dato per prosciuttificio infatti nel 2006 nella classe oltre 20.000 prosciutti solo un prosciuttificio ha avviato alla produzione oltre 50.000 prosciutti, e

due prosciuttifici tra 20.001 e 50.000 prosciutti, tre tra 10.001 e 20.000 prosciutti e 6 meno di 10.000 di cui tre hanno avviato alla produzione meno di 1.000 prosciutti.

Tab. 8 - Imprese per classe dimensionale e prosciutti avviati alla produzione - Anno 2006

Classe dimensionale n prosciutti	Imprese n	Prosciutti n	Prosciutti medi n
Fino a 1.000	3	816	292,0
Da 1.001 a 10.000	3	16.542	5.514,0
Da 10.001 a 20.000	3	40.185	13.395,0
Oltre 20.000	3	93.071	31.395,6
Totale	12	150.674	12.556,1

Fonte: Istituto Parma Qualità

4. Conclusioni

Il comparto della lavorazione delle carni assume un peso notevole nell'economia della provincia di Modena. Rilevante è la produzione salumiera ed in particolare quella di prosciutto crudo e di prosciutto cotto. Il territorio di Modena è sede di produzioni certificate a Denominazione d'Origine Protetta quale il Prosciutto di Modena DOP e ad Indicazione Geografica Protetta quali Mortadella di Bologna IGP, Zampone di Modena IGP, Cotichino di Modena IGP.

Il Prosciutto di Modena ha ottenuto nel 1996 il marchio DOP sulla base della normativa europea contenuta nel Reg. CEE 2081/92, e Reg. CE n. 510/2006, nell'anno 2006 è stato prodotto da 12 imprese aderenti al Consorzio del Prosciutto di Modena che operano nella zona corrisponde alla fascia collinare ed alle valli che si sviluppano attorno al bacino oro-idrografico del fiume Panaro e che partendo dalla fascia pedemontana non supera i 900 metri di altitudine, comprendendo anche territori delle province di Bologna e Reggio Emilia.

Il Prosciutto di Modena si caratterizza per un peso non inferiore a 7 Kg, un colore rosso vivo, un sapore sapido ma non salato, un aroma gradevole, dolce ma intenso. L'attività di controllo si articola in una serie di controlli e verifiche di conformità che iniziano dall'allevamento e continuano in tutte le fasi di lavorazione per concludersi con all'apposizione del marchio, viene svolta dall'Istituto Parma Qualità che è un organismo di controllo e certificazione esterno al Consorzio del Prosciutto di Modena e conforme alle norme Cee EN45011, appositamente autorizzato dal Ministero per le Politiche Agricole.

L'attività di IPQ prevede un insieme di controlli e di verifiche di conformità dell'allevamento, della macellazione e della produzione salumiera per garantire la tracciabilità in ogni fase del processo produttivo e l'osservanza al Disciplinare di Produzione, su cui si basa l'attribuzione del marchio DOP. Nel 2006 134.672 prosciutti sono risultati conformi e in possesso dei requisiti previsti dal disciplinare e quindi sono stati marchiati con timbro a fuoco Prosciutto di Modena DOP.

L'attività di controllo evidenzia come il comparto suinicolo italiano abbia raggiunto un elevato livello di controllo e certificazione di filiera e sia in grado di offrire garanzie di standardizzazione e di omogeneizzazione tutte finalizzate ad una attenta politica di qualità attraverso il sistema di controllo integrato attuato da INEQ - IPQ

La filiera produttiva suinicola controllata, ai fini della DOP, nel 2006 era costituita da 5.119 allevamenti, sono stati certificati 8.889.031 suini adulti, sono stati macellati in 126 macelli 8.842.856 suini per le produzioni DOP oltre alle successive fasi di produzione ed elaborazione certificate.

In particolare in Lombardia è stato certificato alla macellazione circa il 55% dei capi sia per nascita che per ingrasso, sempre in Lombardia si è macellato circa il 44% dei capi. Complessivamente in Lombardia ed Emilia-Romagna si è macellato circa l'80% dei capi suini e le sole province di Mantova, Cremona, Modena, Parma macellano da sole circa il 68% dei capi ai fini delle DOP.

Tutto questo è attuato a vantaggio dei consumatori e del sistema distributivo, dei produttori e più in generale di tutti operatori della filiera.

Bibliografia

- 1) Antonioni G. (1992) Attività del Consorzio del Prosciutto di Modena, in Atti del Convegno Prosciutto e Laboratorio, Consorzio del Prosciutto di Modena, Modena.
- 2) Anas (2007), La suinicoltura nel 2006, Eurocarni n. 4, Pubblicità Italia Sas, Modena.
- 3) ASS.I.CA. (2007) 2006: i numeri del settore dei salumi, L'industria delle carni, n. 6 Anno LVII, ASS.I.CA. Service Srl, Milano.
- 4) Bonazzi G. (2005) "Prosciutto di Parma DOP" e sistema dei controlli, Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Parma Vol. XXIV, Parma.
- 5) Bonazzi G. (2007) "Culatello di Zibello" DOP, produzione e attività di controllo, Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Parma Vol. XXVI, Parma.
- 6) De Sanctis A. (2006) La consistenza degli allevamenti bovini e suini al 1° giugno 2006, Tavole di dati del 9 novembre 2006, Istat, Roma.
- 7) IPQ, INEQ (2002) Certificare l'origine della qualità, IPQ, INEQ, Parma.
- 8) R&I srl (2007) L'industria alimentare nella provincia di Modena, 2° indagine, Modena.
- 9) R&I srl (2005) Lavoro, competenze e riproducibilità nel settore agroalimentare in provincia di Modena, Provincia di Modena, Modena.

Finito di stampare
nel mese di luglio 2008
da Toriazzi S.r.l. - Parma