

ELEMENTI DI VALUTAZIONE DEL RISCHIO DA RESIDUI DI ANTIBIOTICI NEL LATTE

Andrea Lombardo (a), Giovanni Pezzotti (b), Andrea Valiani (b), Tiziana Galli (a),
Simonetta Amatiste (a), Claudia Guadagnoli (c), Luca Busani (d), Giovanni Brajon (a)

(a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana; Roma

(b) Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia

(c) Azienda Sanitaria Locale n.3 Pistoia, Pistoia

(d) Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Gli antibiotici sono largamente impiegati nell'allevamento da latte sin dagli anni '50, sia a scopo terapeutico e preventivo, sia come promotori della crescita (utilizzo vietato dal 2006). Secondo Busani *et al.* (2004) in Italia l'uso di antibiotici nella filiera latte è ancora largamente praticato: i principi attivi più usati nel trattamento delle mastiti sono cefalosporine, fluorochinoloni, aminopenicilline e penicilline del gruppo G (Busani *et al.*, 2004).

Tuttavia, sono poche le indagini sull'utilizzo degli antibiotici negli allevamenti da latte italiani e non si hanno stime precise della quantità impiegata. In linea generale, sull'impiego degli antibiotici in zootecnia si registrano attenzioni particolari sull'impatto che le classi farmacologiche usate in medicina umana hanno sulla salute pubblica, per due principali motivi: 1) la presenza di residui di sostanze antimicrobiche nel latte destinato all'alimentazione umana; 2) l'insorgenza di fenomeni di antibiotico-resistenza (AR) e la conseguente diffusione di patogeni poli-resistenti. Inoltre, l'uso di antibiotici nella produzione di latte può compromettere l'attitudine alla caseificazione, peggiorando la resa in formaggio. A titolo di esempio, l'uso del Ceftiofur per via parenterale nel trattamento delle mastiti crea difficoltà alla fermentazione del latte con conseguente compromissione della caseificazione, anche a concentrazioni inferiori ai limiti massimi di residui (*Maximum Residue Limits*, MRL) previsto dalla normativa (Bozzetti, 2010). Per questi motivi, gli strumenti adottati nella produzione di latte devono essere finalizzati alla prevenzione delle patologie animali e al corretto uso dei farmaci, nonché ad un efficiente sistema di monitoraggio dei residui.

In Italia, l'uso del farmaco veterinario è disciplinato dalla normativa europea e nazionale e il monitoraggio dei residui nei prodotti alimentari viene effettuato attraverso un apposito piano di controllo annuale: il Piano Nazionale Residui (PNR). Inoltre, le modalità di programmazione del piano dei controlli tiene conto di un sistema basato sull'analisi del rischio, ovvero la categorizzazione delle aziende che indirizza le modalità e la frequenza delle procedure di ispezione (Regione Toscana 2009; Regione Toscana 2010). Per quanto riguarda la valutazione degli esiti delle analisi di laboratorio condotte, si tiene conto degli MRL per ogni principio attivo nel latte alimentare. Non esiste solo in piano di controllo programmato a livello europeo ma, come previsto dai regolamenti comunitari (il cosiddetto "pacchetto igiene"), le aziende sono chiamate ad effettuare l'autocontrollo sul processo produttivo, seguendo il principio dell'analisi del rischio. Per quanto riguarda i test di laboratorio, vi sono pure ulteriori elementi da considerare, legati al tipo, che si differenzia in test di screening e test di conferma sui campioni positivi al test di screening. Secondo il PNR, i metodi ammessi come test di screening comprendono HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*), RIA (*RadioImmune Assay*), ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), e la prova microbiologica (quest'ultima la più comunemente utilizzata); per la conferma si utilizzano le metodiche HPLC/MS (*Mass Spectrometry*).

L'attività di controllo relativa alla presenza di residui di antibiotici nel latte è quindi riconducibile alle verifiche che l'OSA implementa nell'ambito del proprio sistema di autocontrollo alle quali si aggiungono quelle che il sistema di controllo ufficiale effettua nel rispetto dei piani nazionali o regionali e nel corso dell'attività di sorveglianza.

Per quanto attiene il PNR, i dati disponibili, relativi ai controlli effettuati secondo la programmazione del Piano Mirato nel triennio 2008-2010, indicano la totale assenza di non conformità su un numero di campioni che si mantiene pressoché costante per l'intero periodo di osservazione (Tabella 1).

Anche sui campioni effettuati al di fuori del Piano Mirato non sono stati registrati risultati non conformi (92 campioni nel 2009 e 394 campioni nel 2010, dati non disponibili per il 2008).

Tabella 1. Numero di campioni di latte di massa analizzati per la ricerca di residui in Italia dal 2008 al 2010 nell'ambito dell'attività prevista dal Piano Mirato del Piano Nazionale Residui

Anno	Specie	Numero di campioni per ricerca diantibiotici	Numero di campioni per ricerca disulfamidici
2008	Bovino	190	160
	Bufalino	40	40
	Ovi-caprino	40	40
	N. di non conformità	0	0
2009	Bovino	195	165
	Bufalino	40	40
	Ovi-caprino	40	40
	N. di non conformità	0	0
2010	Bovino	200	170
	Bufalino	40	40
	Ovi-caprino	40	40
	N. di non conformità	0	0

Differenti invece sono i risultati ottenuti dall'analisi dei campioni in caso di "Sospetto", ovvero effettuati nei casi in cui si abbia il motivo di sospettare la presenza di residui. In questo caso, su 431 campioni nel 2008, 205 nel 2009 e nel 2010, le positività sono state rispettivamente 3, 1 e 3 (penicillina, ampicillina, oxitetraciclina).

È opportuno specificare che per il PNR le ricerche si limitano solo ad alcune classi di antibiotici (Chinolonici, Penicilline e Tetracicline) e ai sulfamidici e sono effettuate ricorrendo a tecniche analitiche strumentali in grado di determinare con precisione sia il tipo che la quantità di residuo eventualmente presente.

Per quanto riguarda invece la sorveglianza effettuata dagli Organi di vigilanza nell'ambito dell'attività per la valutazione dell'evoluzione nel tempo di fenomeni connessi alla sicurezza degli alimenti, si riportano i dati forniti dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche e dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana.

Su questi campioni di latte bovino e ovino si effettuano test di screening microbiologici commerciali, per la rilevazione generica di "sostanze inibenti". Questi metodi consentono la rilevazione contestuale della presenza di sostanze in grado di inibire la crescita batterica (tra cui antibiotici), però, non è sempre possibile la conferma e l'identificazione definitiva della/delle sostanze strumentale attraverso i metodi analitici-strumentali. Per alcune di queste molecole, inoltre, vi sono problemi legati alla sensibilità del metodo. Pertanto, un risultato positivo con un

metodo di screening microbiologico non sempre trova conferma ai successivi test di conferma e identificazione.

In Tabella 2 si riportano i risultati relativi al periodo 2005-2010 nelle regioni di Umbria e Marche e al triennio 2009-2011 nelle regioni di Lazio e Toscana, sia per quanto riguarda la sorveglianza sanitaria, che per i campioni effettuati in autocontrollo. Le percentuali di campioni positivi in sorveglianza sanitaria sono stati, rispettivamente, pari all'1,7% e all'1,0%, mentre per i campioni in autocontrollo sono state rispettivamente pari a 0,52% e 0,24%.

Tabella 2. Risultati delle analisi effettuate in quattro Regioni dell'Italia centrale (Toscana, Lazio, Umbria e Marche)

Regione	Periodo di riferimento	N. di campioni (% di positivi) analizzati per la sorveglianza sanitaria	N. di campioni (% di positivi) analizzati in autocontrollo
Umbria e Marche	2005-2010	966 (1,7%)	53170 (0,52%)
Lazio e Toscana	2009-2011	904 (1,0%)	15831 (0,24%)

La valutazione di questi risultati evidenzia la sostanziale efficienza del sistema di controllo e prevenzione; tuttavia, rimane aperto un interrogativo riguardo alla sensibilità dei test di screening di comune utilizzo nei confronti di alcune classi antibiotiche, soprattutto se presenti in basse concentrazioni (es. oxitetraciclina, diidrostreptomina, trimetoprim e cefquinone) (Le Breton *et al.*, 2007).

Com'è noto, il principale problema sanitario legato alla presenza di residui di antibiotici nel latte è il rischio di indurre o trasferire resistenza agli antibiotici in batteri potenzialmente patogeni per l'uomo, soprattutto laddove il trattamento delle mastiti rappresenta uno dei principali interventi farmacologici nelle aziende da latte. Dalla letteratura risulta, tuttavia, che il fenomeno dell'AR nelle specie batteriche responsabili di mastite è abbastanza contenuto. A tale proposito, molti Autori sostengono che i benefici ottenuti con l'uso degli antibiotici nella filiera latte superano di gran lunga i rischi per la salute umana (Oliver & Murinda, 2012). Sebbene l'AR sia considerata un fenomeno ad eziologia multifattoriale sia ancora oggetto di discussione la relazione causa-effetto tra l'AR e uso di antibiotici per il trattamento delle mastiti, l'uso indiscriminato di questi farmaci può comunque contribuire all'insorgenza e alla diffusione di ceppi multiresistenti (Call *et al.*, 2008; Oliver & Murinda, 2012).

Per controllare il rischio dell'AR sono state elaborate e divulgate numerose linee guida per l'uso prudente degli antibiotici nella pratica zootecnica.

Inoltre, è stata istituita una banca dati presso il "Centro di Referenza Nazionale per l'Antibioticoresistenza" (CRAB) dell'Istituto Zooprofilattico del Lazio e della Toscana, finalizzata allo studio dei ceppi multiresistenti.

La Risoluzione del Parlamento europeo in materia di resistenza agli antibiotici del 12 maggio 2011 (Parlamento europeo, 2011), la Raccomandazione della Commissione Europea del 27 ottobre 2011 (Commissione Europea, 2011) e le recenti Conclusioni del Consiglio del 22 giugno 2012 (Unione Europea, 2012) sull'impatto della resistenza agli antibiotici nel settore della salute umana e nel settore veterinario – una prospettiva di tipo «One Health», hanno sancito la necessità di adottare su vasta scala l'uso prudente degli antibiotici sia in medicina umana che veterinaria, nonché l'osservanza delle buone pratiche di allevamento, al fine di ridurre la prescrizione di antimicrobici in stalla e di preservare l'efficacia di questi farmaci. Vengono inoltre promossi:

- la raccolta congiunta e l'analisi di dati epidemiologici attraverso la rete ESVAC (*European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption*: sorveglianza europea del consumo di antibiotici quali medicinali veterinari) da parte di tutti gli Stati Membri;
- l'attività di ricerca su nuove molecole antimicrobiche e su strategie alternative di prevenzione, cura e controllo (vaccinazioni, biosicurezza, miglioramento genetico, benessere animale ecc.) che consentano di ridurre l'uso di antibiotici.
- l'analisi del rischio di trasmissione all'uomo di ceppi resistenti attraverso gli alimenti di origine animale.
- l'attività di formazione dei professionisti sull'utilizzo appropriato degli antibiotici e dei metodi per ridurre la trasmissione degli agenti patogeni, compreso il controllo delle infezioni e le misure igieniche sia nel settore della salute umana sia in quello veterinario;
- l'incremento degli sforzi atti a sensibilizzare il pubblico circa i rischi della resistenza dei batteri dovuta all'utilizzo eccessivo degli agenti antimicrobici;
- l'attuazione della legislazione nazionale che proibisca ogni forma di vendita illegale di antibiotici, comprese le vendite illegali tramite Internet, sia nel settore della salute umana sia in quello veterinario;
- l'attività di monitoraggio e sorveglianza delle Autorità internazionali e nazionali competenti (*Food and Veterinary Office, Office International des Epizooties, World Health Organization*, Stati Membri dell'Unione Europea, ecc.) e la cooperazione internazionale.

Conclusioni

In conclusione, il rischio da residui di antibiotici nel latte può essere prevenuto:

- utilizzando in modo limitato e prudente gli antibiotici, grazie ad una efficiente assistenza zoiatrica e all'adozione di buone pratiche di allevamento, nonché attraverso il rispetto delle norme di biosicurezza e di profilassi indiretta;
- minimizzando gli errori d'identificazione degli animali trattati, anche attraverso pedometri, transponder o altri dispositivi elettronici che impediscano all'animale trattato di accedere alla mungitura;
- sviluppando la ricerca in materia di sistemi integrati in grado di monitorare la presenza di residui di antimicrobici nel latte lungo tutte le fasi della filiera, principalmente in fase di mungitura e stoccaggio nei tank di raccolta aziendali (ad esempio, sistemi basati sui biosensori), al fine di creare un sistema di rilevazione rapido per il latte non conforme.

Il costo totale di gestione delle mastiti oscilla, infatti, tra 50€ e 350€ per capo all'anno (Bozzetti, 2010; Huijps *et al.*, 2010): pertanto, la prevenzione e la corretta gestione dell'antibiotico potrà inoltre ridurre le perdite economiche per gli allevatori.

Bibliografia

- Bozzetti V. Residui di antibiotici nel latte. *Il latte* 2010;12:24-27.
- Busani L, Graziani C, Franco A, Di Egidio A, Binkin N, Battisti A. Survey of the knowledge, attitudes and practice of Italian beef and dairy cattle veterinarians concerning the use of antibiotics. *Vet Rec* 2004;4;155(23):733-8.
- Call DR, Davis MA, Sawant AA. Antimicrobial resistance in beef and dairy cattle production. *Anim Health Res Rev* 2008;9(2):159-67.

- Commissione Europea. Raccomandazione della Commissione del 27 ottobre 2011 sull'iniziativa di programmazione congiunta della ricerca «La sfida microbica — una minaccia emergente per la salute umana». *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* C 315/1 del 28/10/2011. Disponibile all'indirizzo: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:C:2011:315:0001:0003:IT:PDF>; ultima consultazione 21/12/12.
- Commissione Europea. Regolamento n. 37/2010 della Commissione del 22 dicembre 2009 concernente le sostanze farmacologicamente attive e la loro classificazione per quanto riguarda i limiti massimi di residui negli alimenti di origine animale. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* L 15/1 del 20/1/2010. Disponibile all'indirizzo: http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-5/reg_2010_37/reg_2010_37_it.pdf; ultima consultazione 21/12/12.
- Huijps K, Hogeveen H. Economics of mastitis. In: *Book of Abstracts of the 61st Annual Meeting of the European Association of Animal Production*; Heraklion, 23-27 August 2010. Book of Abstracts 16 (2010). p. 143. Disponibile all'indirizzo: http://www.eaap.org/Previous_Annual_Meetings/2010Crete/Heraklion_2010_Abstracts.pdf; ultima consultazione 21/12/12.
- Italia. Decreto Legislativo 6 aprile 2006, n. 193. Attuazione della direttiva 2004/28/CE recante codice comunitario dei medicinali veterinari. *Gazzetta Ufficiale* n.121 - *Supplemento Ordinario* n. 127, del 26 maggio 2006.
- Le Breton MH, Savoy-Perroud MC, Diserens JM. Validation and comparison of the Copan Milk Test and Delvotest SP-NT for the detection of antimicrobials in milk. *Anal Chim Acta* 2007;14;586(1-2):280-3.
- Oliver SP, Murinda SE. Antimicrobial resistance of mastitis pathogens. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2012;28(2):165-85.
- Parlamento europeo. Risoluzione del Parlamento europeo del 12 maggio 2011 sulla resistenza agli antibiotici. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* C 377 E/17, 7/12/12. Disponibile all'indirizzo: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:C:2012:377E:FULL:IT:PDF>; ultima consultazione 21/12/12.
- Regione Toscana. Decreto Giunta Regione Toscana 1149/2009 approvazione “Linee di indirizzo per la categorizzazione del rischio negli allevamenti bovini, ovicaprini e suini” Disponibile all'indirizzo: http://cerere.vet.unipi.it/system/files/DGRT_1149_141209_LINEE_INDIRIZZO_CATEGORIZZAZIONE_RISCHIO.pdf; ultima consultazione 21/12/12.
- Regione Toscana. Decreto Giunta Regione Toscana 540/2010 Approvazione della modulistica necessaria per l'attuazione delle Linee di indirizzo per la categorizzazione del rischio negli allevamenti bovini, ovicaprini e suini, di cui alla deliberazione di Giunta regionale n. 1149/2009.
- Unione Europea. Conclusioni del Consiglio del 22 giugno 2012 sull'impatto della resistenza antimicrobica nel settore della salute umana e nel settore veterinario — una prospettiva di tipo «One Health». *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* C 211/2, 18.7.2012. Disponibile all'indirizzo: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:C:2012:211:0002:0005:IT:PDF>; ultima consultazione 21/12/12
- Unione Europea. Regolamento (CE) n. 852/2004 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004 sull'igiene dei prodotti alimentari. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* L 139/1 del 30/4/2004. Disponibile all'indirizzo: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:139:0001:0054:it:PDF>; ultima consultazione 21/12/12.
- Unione Europea. Regolamento (CE) n. 853/2004 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004 che stabilisce norme specifiche in materia di igiene per gli alimenti di origine animale. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* L 139/55 del 29/4/2004. Disponibile all'indirizzo: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:139:0055:0205:IT:PDF>; ultima consultazione 21/12/12.
- Unione Europea. Regolamento (CE) n. 882/2004 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 29 aprile 2004 relativo ai controlli ufficiali intesi a verificare la conformità alla normativa in materia di

mangimi e di alimenti e alle norme sulla salute e sul benessere degli animali. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* L 191 del 28/5/2004. Disponibile all'indirizzo: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2004R0882:20080410:it:PDF>; ultima consultazione 21/12/12.