



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für Wirtschaft,
Bildung und Forschung WBF

Agroscope



Nuove conoscenze su *S. aureus* per la pratica

H.U. Graber, Dr.med.vet.
C. Sartori, MSc ETH Zürich

13 marzo 2015

www.agroscope.ch | gutes Essen, gesunde Umwelt





Conoscenze su *S. aureus*

- Contagioso → problema per la mandria
- Causa mastite, soprattutto cronica e subclinica
 - latte: aspetto normale
 - settimane - mesi per riconoscere la malattia, nonostante controlli regolari (test di Schalm, cellule)
- Antibiotici: probabilità di cura 30%
- Eliminazione delle bovine infette dalla mandria



Costi della mastite in CH

- Costi della mastite (Heiniger et al., 2014)
 - totale: 130 Mio. Fr. all'anno
 - mastiti contagiose: 79 Mio. Fr. all'anno (60%)
 - costi per la salute della mammella per bovina in lattazione: 396 Fr. (soprattutto diminuzione della prod. di latte!)

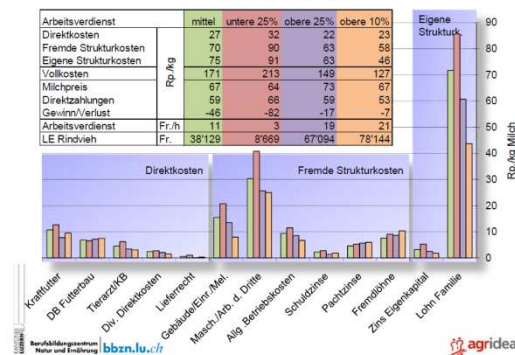
→ corrisponde a 7'524 Fr.

(AGRIDEA 2014: azienda media con 19 bovine nella zona di montagna II)

→ corrisponde a 20% del guadagno ricavato dai bovini

(AGRIDEA 2014: guadagno medio di un'azienda con 19 bovine, prezzo del latte 67 centesimi)

Vergleich Kostenstellen nach Arbeitsverdienst gegliedert
54 Bergbetriebe (2014)





Mastite e qualità del latte

- Ordinanza federale sull'igiene nella produzione lattiera (VHyMP): esigenze di qualità per il latte che verrà venduto e trasformato:
 - latte consegnato: cellule < 350'000/ml
 - vacche con valori > 150'000/ml: fare Schalmtest
 - il latte di bovine che reagiscono positivamente al test di Schalm (++/+++) non può essere trasformato
- Latte di bovine positive allo *S. aureus*
 - valore medio della conta cellulare: 990'000/ml
 - presenza di pus
 - test di Schalm positivo (++/+++) → diminuzione della qualità del latte, non può più essere lavorato



Genotipizzazione

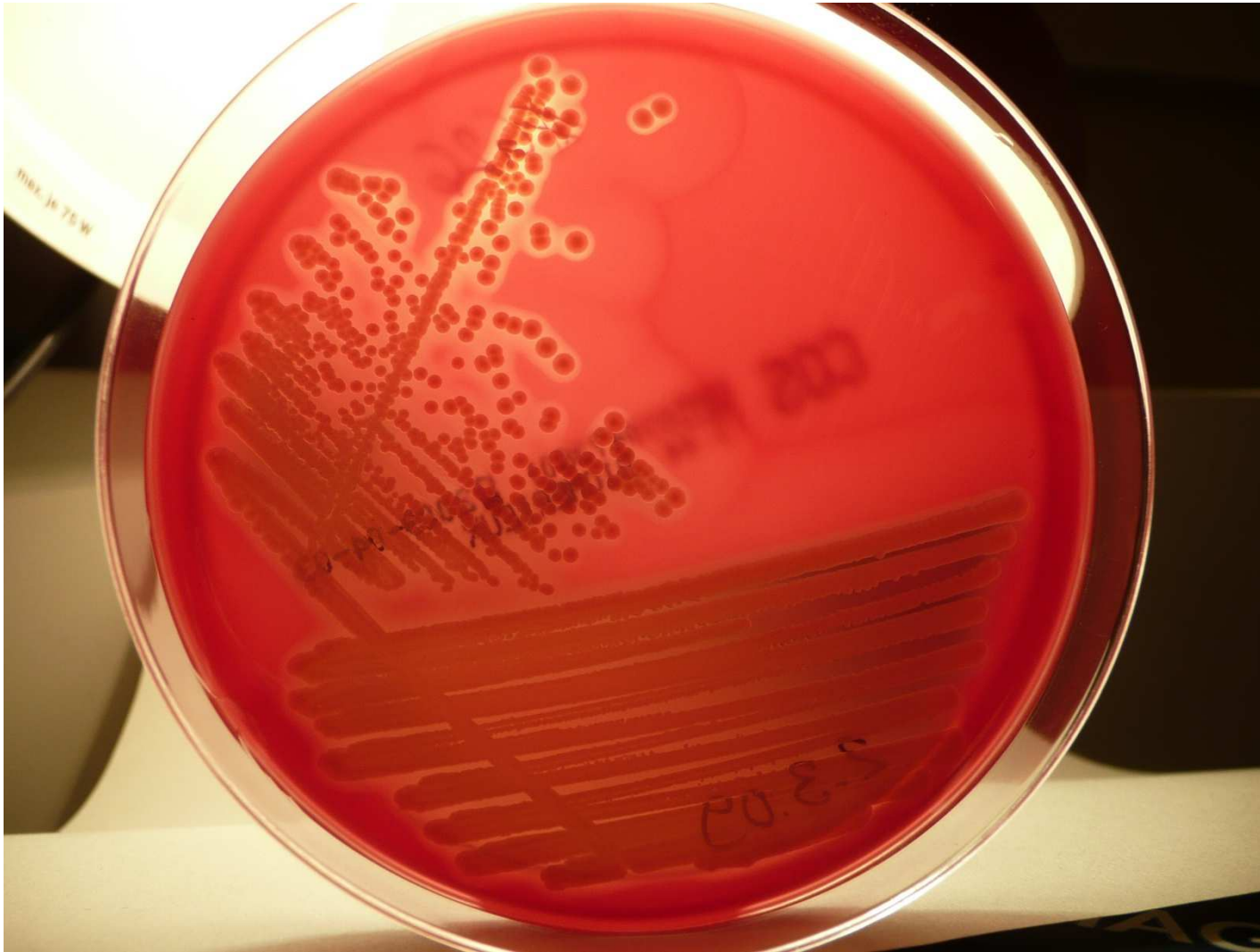
- ***S. aureus* ≠ *S. aureus***

Fournier et al., Res. Vet. Sci. 2008

Graber et al., J. Dairy Sci. 2009

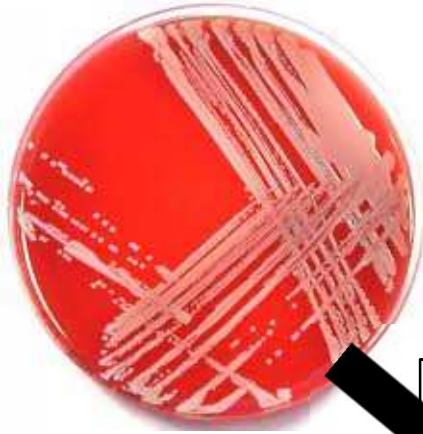


S. aureus





Genotipizzazione



- Diversi sottotipi di *S. aureus* vengono differenziati
- Fournier et al., 2008





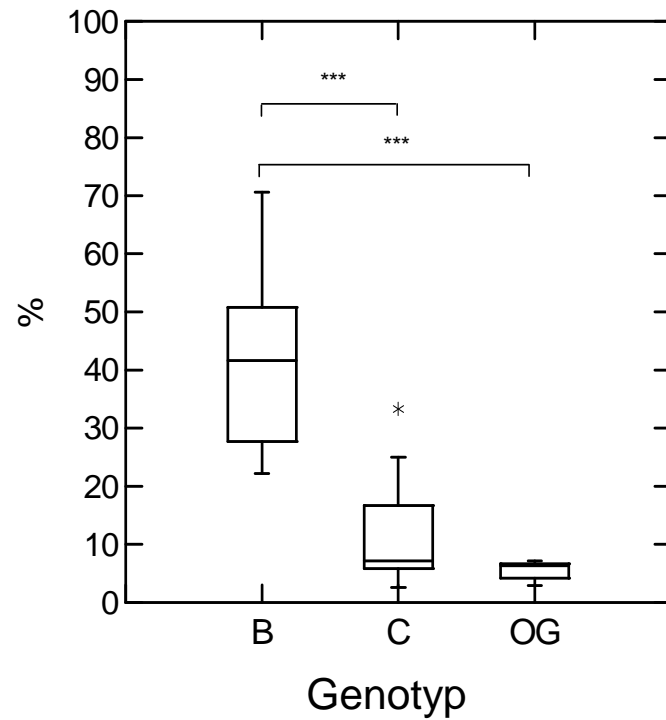
Genotipi in campioni clinici di latte

- Tot. 17 genotipi di *S. aureus* sono stati trovati (Fournier et al., 2008), nel frattempo >120
 - genotipi B e C sono predominanti (80%)
 - altri genotipi (OG) sono rari
- Geni di virulenza
 - genotipo B: *sea*, *sed*, *lukEB* positivi
 - genotipo C: *sec*, *seg*, *sei*, *tst* positivi, *lukEB* negativo
- **Prevalenza a livello di *bovine e quarti infetti*:
dipende dal genotipo presente nella mammella**

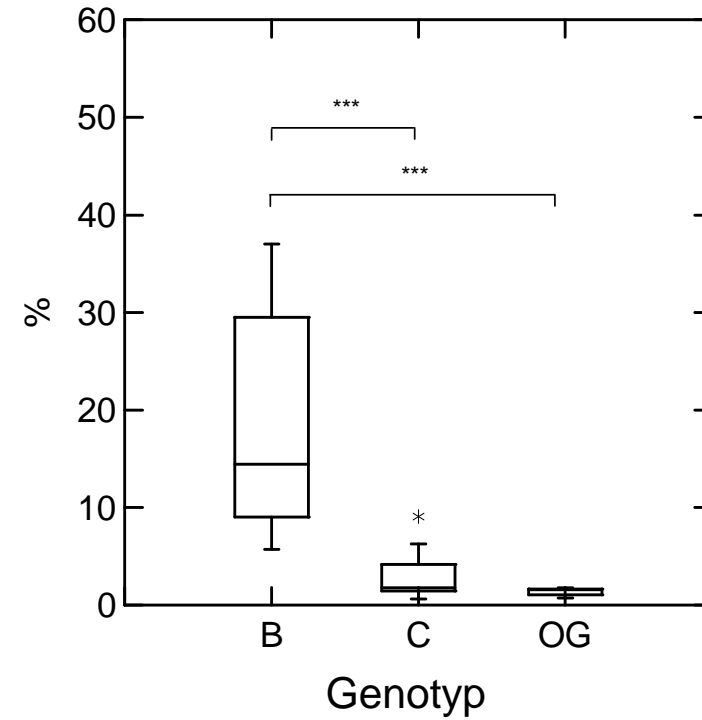


Genotipi Prevalenze

Prevalenza (bovine)

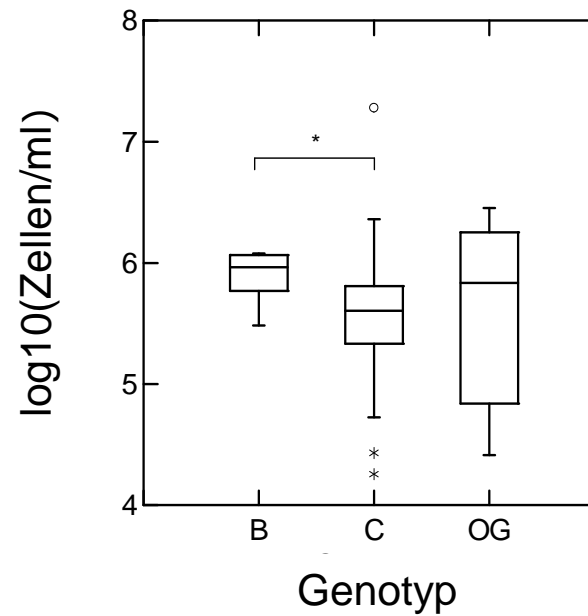


Prevalenza (quarti)





Genotipi Cellule





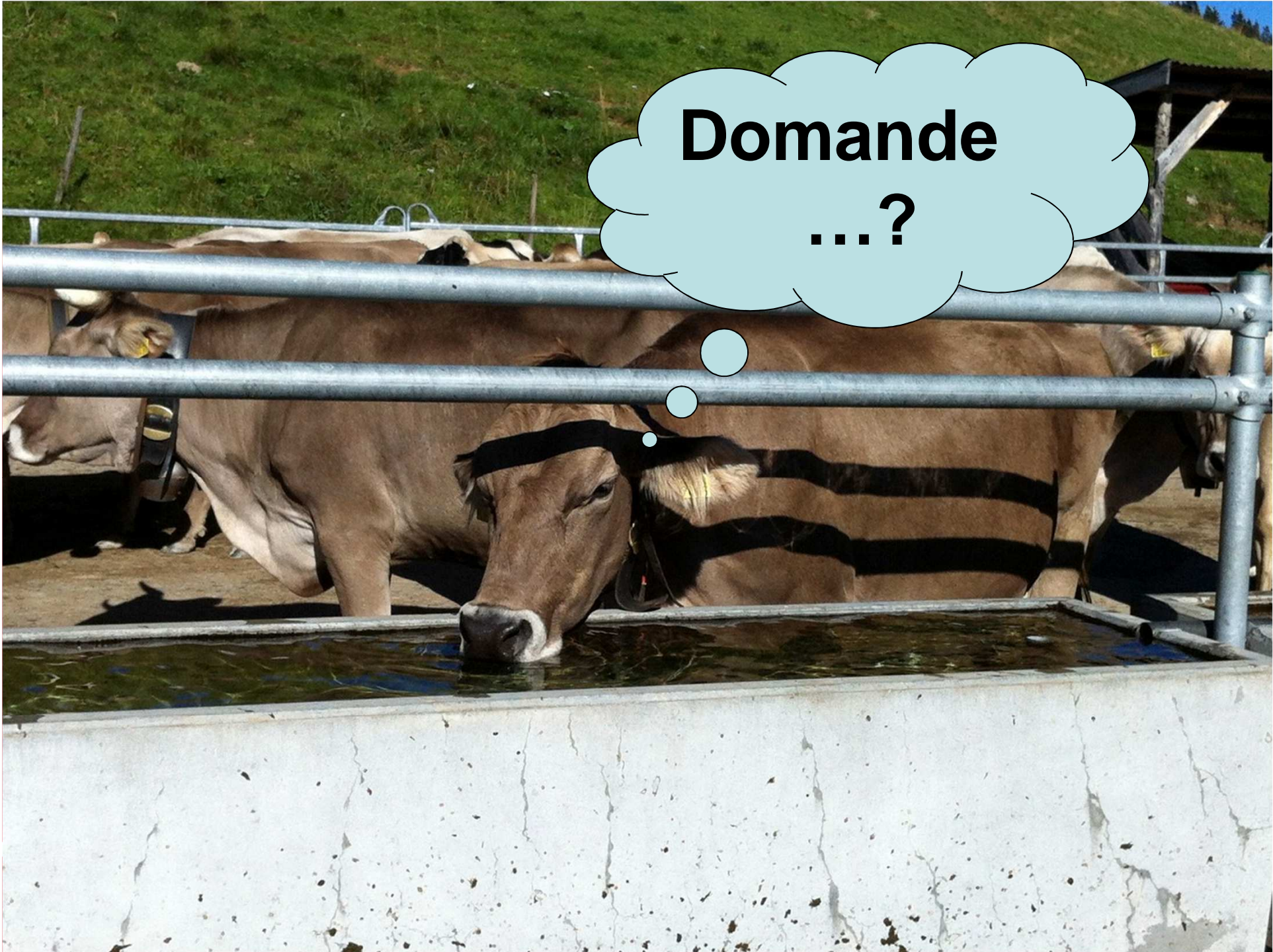
Genotipi all'interno di una mandria

▪ GTB

- sempre varie bovine infette: **contagioso**
→ **problema per la mandria**
- normalmente ≥ 2 quarti per bovina infetti
- GTB è sempre il genotipo predominante

▪ GTC / altri

- solo 1 bovina infetta
→ **malattia della singola bovina**
- solo 1 quarto per bovina infetto



**Domande
...?**



S. aureus GTB: epidemiologia

Boss et al., Agroscope 2013

Berchtold et al., J. Dairy Sci. 2014

Völk et al., J. Dairy Sci. 2014





Prevalenza delle mandrie svizzere positive allo *S. aureus* GTB

- Studio rappresentativo (2013)
 - mescolanza di 223 mandrie (campioni del controllo qualità)
 - collaborazione con Suisselab e TSM
- Prevalenza delle mandrie positive allo *S. aureus* GTB nel campione analizzato: 10.3% (ca. 3'300 mandrie infette)
- Hot Spots: cantoni di montagna, cantoni della svizzera centrale e orientale
- Cold Spots: BE, FR



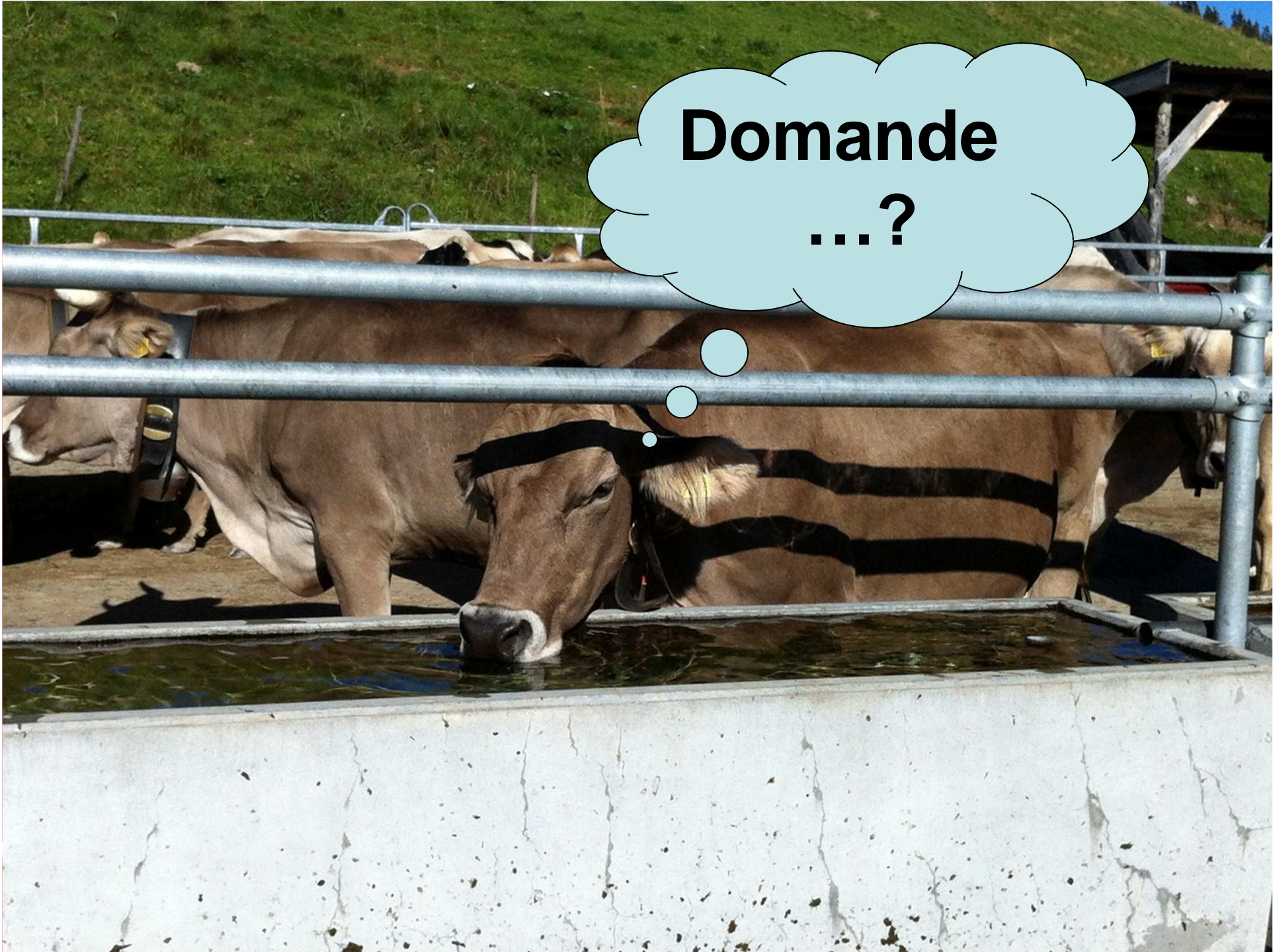
***S. aureus* GTB e alpeggio**

- Alpeggi = alto fattore di rischio per infezioni da *S. aureus*
GTB: rischio 10 volte superiore rispetto alla pianura
 - mungitura disordinata di bovine positive e negative al GTB
 - propagazione rapida sull'alpeggio:
raddoppio delle bovine infette in 3 settimane
 - alla fine della stagione:
 - fino a 72% di bovine infette; solitamente Schalm ++/+++
 - fino a 100% dei proprietari hanno bovine positive al GTB
 - numero complessivo di bovine infette varia a dip.
dell'alpeggio



***S. aureus* GTB in Italia**

- M. Luini, IZLER, Lodi (stretta collaborazione)
- *S. aureus* GTB
 - è contagioso, problematica uguale a quella in CH
 - è presente in mandrie piccole come grosse
 - la maggioranza delle aziende positive si trova sul confine svizzero (alpeggio comune in passato), ma ne esistono anche altrove in Italia



**Domande
...?**



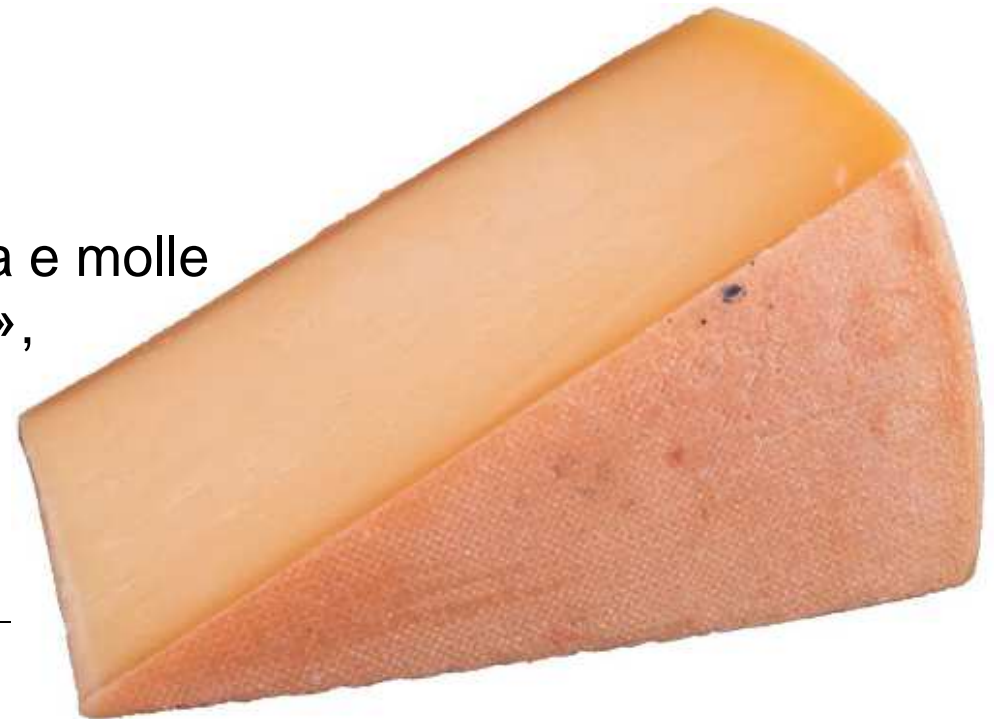
***S. aureus* nel formaggio**

Hummerjohann et al., J. Dairy Sci. 2014



Informazioni generali

- Formaggio svizzero spesso prodotto da latte crudo (varietà classiche, formaggi d'alpe) → sviluppo dell'aroma
- Latte crudo: può contenere batteri indesiderati
 - intossicazioni alimentari dovute a germi presenti nel latte (INVS, 2014)
 - *S. aureus*
 - (Listerie)
 - formaggi a pasta semidura e molle particolarmente «sensibili», in quanto *S. aureus* sopravvive al loro interno



Intossicazioni alimentari

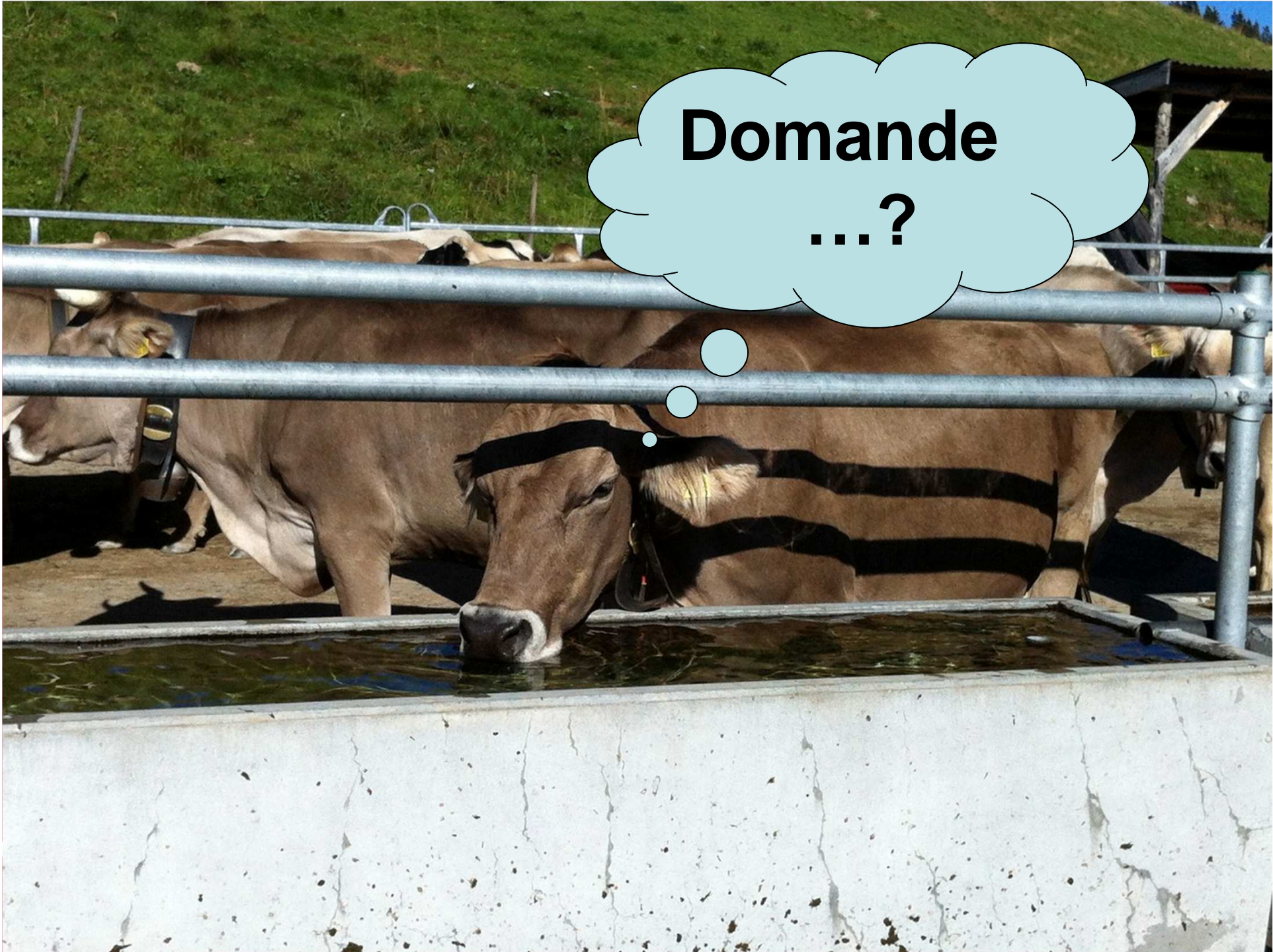
- Enterotossine (SET)
 - diarrea e vomito senza febbre
 - resistenti al calore
- Crescita batterica: contenuta a 10°C, ma notevole a partire dai 25°C (Graber und Kästli, 1954)
- Formazione di enterotossine: solo in presenza di alte cariche batteriche
 - >100'000 cfu/g; cagliata!
- Formaggio contenente enterotossine viene trovato anche in CH

Agroscope	2011 (n)	2012 (n)	2013 (n)
SET-Analysen	617	224	99
SET-positiver Käse	10	3	6



***S. aureus* GTB nel formaggio**

- È il genotipo più importante di *S. aureus* responsabile di contaminazioni nei formaggi prodotti da latte crudo
 - presente nel 72% dei 78 formaggi analizzati
 - nel 50% dei casi presente come cultura pura
- Produce le enterotossine A e D → intossicazioni alimentari



Domande

...?



Test specifico per *S. aureus* GTB

Graber et al., 2007, J. Dairy Sci.

Fournier et al., 2008, Res. Vet. Sci.

Studer et al., 2008, J. Dairy Sci.

Graber et al., 2009, J. Dairy Sci.

Boss et al., 2011, J. Dairy Sci.

Syring et al., 2012, J. Dairy Sci.



Test specifico per *S. aureus* GTB Perché?

- Vaccinazione per *S. aureus* ha poco successo
- Terapia antibiotica insoddisfacente (30%)
 - risanamento e **monitoring (sorveglianza)** → test
- Esigenze del test
 - identifica esclusivamente *S. aureus* GTB
 - utilizzo di diversi tipi di campioni di latte, incl. mescolanza



Realizzazione

- Applicazione ed ampliamento del sapere acquisito finora nel nostro laboratorio di Agroscope Liebefeld:
 - identificazione di GTB nel latte (arricchimento)
risultato: positivo/negativo
 - real-time qPCR per 3 geni specifici di GTB
 - unico test per GTB **validato** in CH

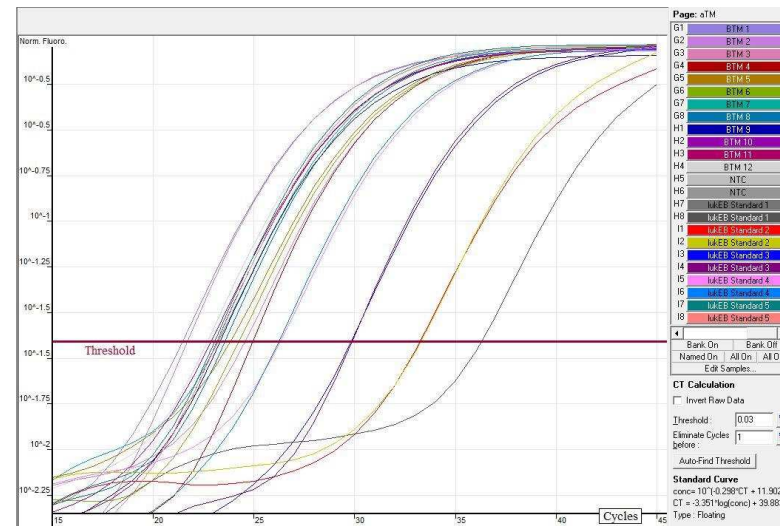


Test specifico per *S. aureus* GTB



Il test è il risultato di lavori precedenti

qPCR



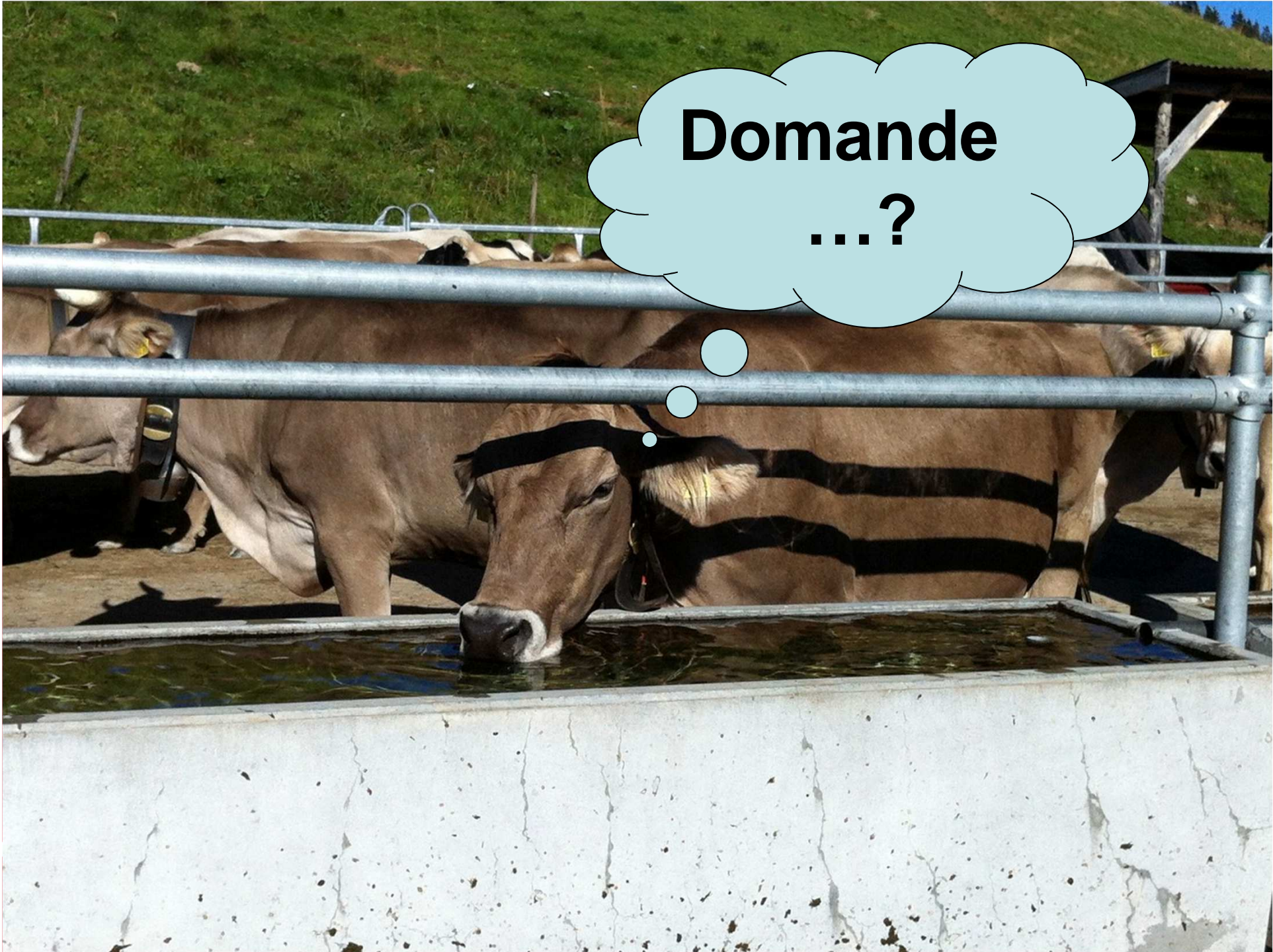


Risultati

- Il test soddisfa le esigenze
 - tutte le bovine GTB-positive (campioni di 4/4) e tutte le aziende (mescolanza) vengono riconosciute correttamente
 - metodo robusto e idoneo alla routine
 - soglia di detezione bassa
 - 1 bovina positiva tra 138 negative (mescolanza)

Controllo del latte di mescolanza: mezzo per la lotta e il successivo controllo della malattia

- Test offerto da Agroscope soprattutto nel contesto di progetti di ricerca (altrimenti 75.- Fr. per analisi)
- Test verrà offerto commercialmente da BAMOS (2015)



**Domande
...?**



Risanamento di mandrie di bovine da latte positive allo *S. aureus* GTB

Sartori et al.





Vantaggi di un risanamento con successivo monitoring

- frequenza delle mastiti ↓ ↓
→ qualità del latte crudo e dei suoi prodotti ↑ ↑
- perdite finanziarie ↓ ↓
- contenuto di *S. aureus* nel latte crudo ↓ ↓
→ sicurezza alimentare dei prodotti da latte crudo ↑
- misure immediate permettono di evitare il propagarsi di batteri nella mandria
- successo delle terapie ↑
- uso di antibiotici ↓

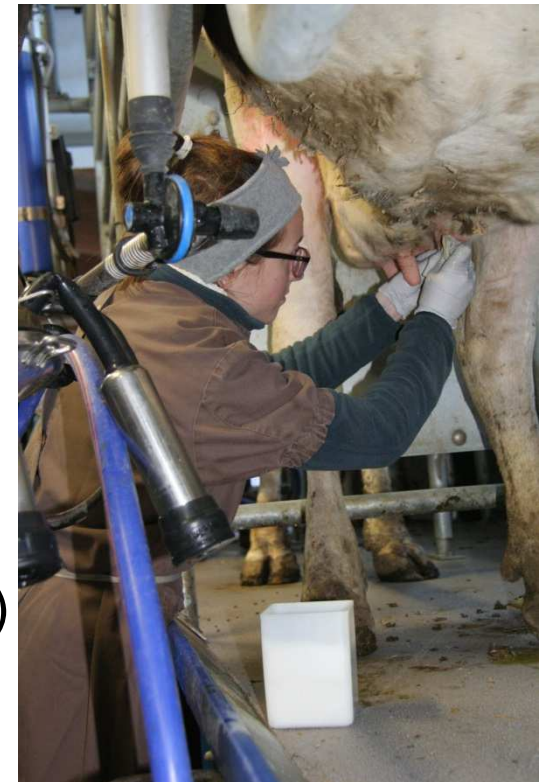


Procedimento

- Chiarimento iniziale dello stato GTB della mandria (mescolanza)
- Prima visita dell'azienda/mandria, poi campionature mensili delle bovine da parte del contadino
 - ogni bovina in lattazione viene campionata durante la mungitura (campioni puliti di 4/4)
- Laboratorio
 - analisi dei campioni: qPCR-test per *S. aureus* GTB
 - lista delle raccomandazioni (max. 7) con formazione dei gruppi di mungitura (**sequenza di mungitura secondo i gruppi, pulitura dell'impianto di mungitura 2 volte al giorno**)
 - tentativo di terapia, ev. eliminazione
- Assistenza individuale durante tutto il periodo di risanamento
- Dopo il periodo di risanamento: controllo mensile della mescolanza per *S. aureus* GTB

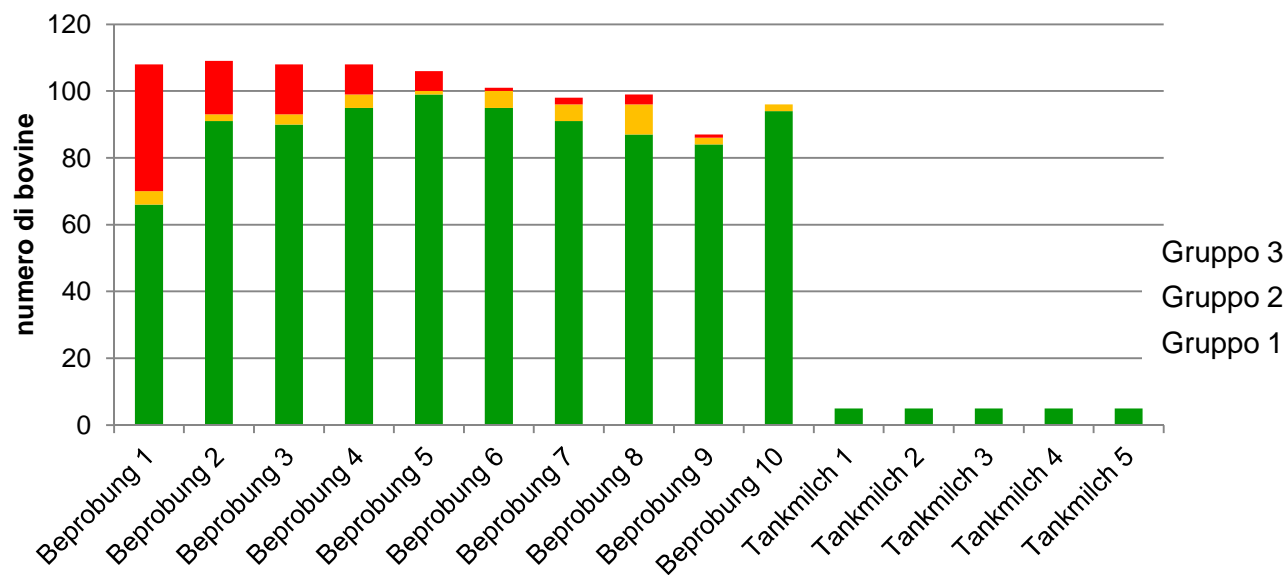
Risanamento delle mandrie (risultati)

- Il risanamento è chiaramente possibile, anche per grandi aziende (> 120 bovine)
 - **9** aziende risanate dallo *S. aureus* GTB durante il periodo dei nostri controlli
 - **4** aziende hanno rinunciato all'eliminazione
 - **6** aziende sono ancora nel periodo di studio
- In ogni caso è stato possibile evitare nuovi contagi (tasso di nuove infezioni = 0)
- Durata del risanamento: dipende da contadino/grandezza della mandria (1-10 mesi)
- **108 bovine, 38 GTB-positive, dopo 10 mesi tutte negative, come anche la mescolanza per 5 mesi consecutivi alla fine dei controlli**





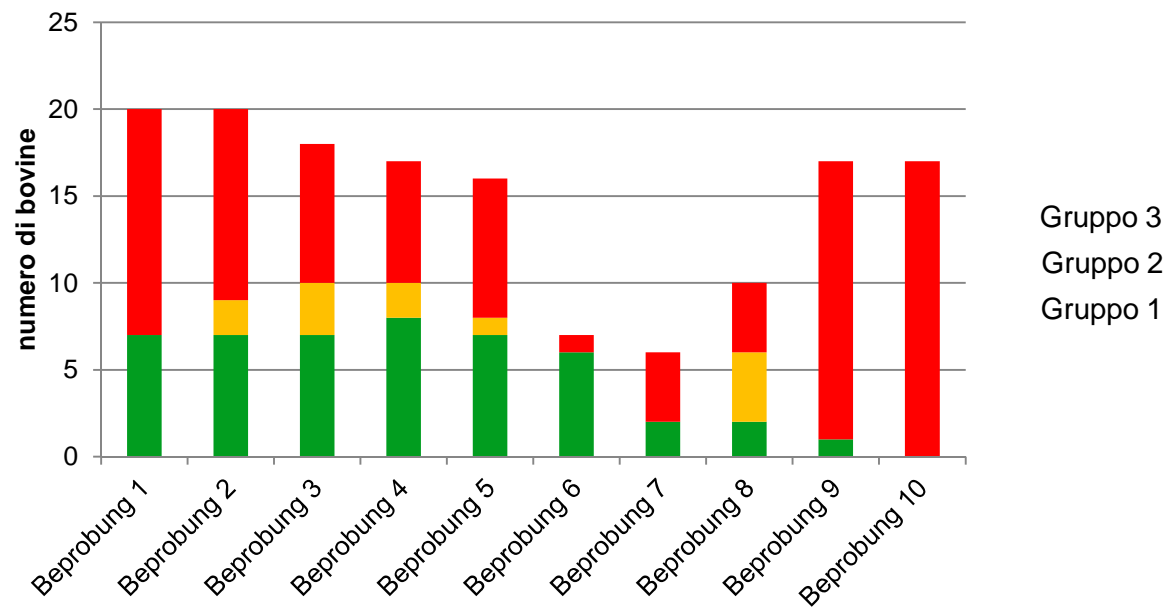
Risanamento con successo di una grande mandria da *S. aureus* GTB





Caso di fallimento del risanamento per *S. aureus* GTB

È mancata la collaborazione del contadino





Esigenze per un risanamento di successo di una mandria

- Risanamento possibile alle condizioni seguenti
 - l'**analitica** adeguata viene applicata (qPCR) → suddivisione della mandria in gruppi/sequenza di mungitura
 - **volontà**/convinzione del contadino
 - **supporto** di persone con esperienza nel campo
- L'utilizzo del test da solo non basta per risanare una mandria con successo
- Lo stesso vale per l'uso di antibiotici: da soli non bastano per risanare una mandria positiva allo *S. aureus* GTB



Lettura consigliata

Tiere
Agroscope Transfer | Nr. 25

Neuigkeiten zur Diagnostik von *Staphylococcus aureus*-Euterentzündungen

Mai 2014

Autoren
Renate Boss
Hans Graber



Euterentzündungen sind die häufigste Erkrankung der Milchkuh und verursachen der Schweizer Milchwirtschaft jährliche Verluste von 130 Mio. CHF. Unter den krankmachenden Keimen ist *Staphylococcus aureus* (Abk. *Staph. aureus*) einer der häufigsten. Derselbe Keim verursacht beim Menschen Lebensmittelvergiftungen. Agroscope entwickelte eine neue molekularbiologische Nachweismethode, die der Landwirtschaft und der milchverarbeitenden Industrie Vorteile verschaffen soll.

Woher kommt *Staphylococcus aureus* in der Milch?

Die Milch im Euter einer gesunden Kuh ist keimfrei. *Staphylokokken* kommen entweder während des Melkens aus der Umgebung in die Milch (Kontamination) oder werden von Kühen mit Euterentzündungen ausgeschieden (Infektion).

Ersteres lässt sich durch sorgfältige Einhaltung von Hygienemassnahmen auf dem Betrieb weitestgehend vermeiden, während die Kontrolle von Euterentzündungen bei Kühen eine weitaus grössere Herausforderung darstellt. Damit es zu einer Euterentzündung (Mastitis) kommt, sind stets mehrere Einflüsse nötig (Faktorenkrankheit). Begünstigend wirken vor allem ungenügende Melkhygiene und -technik, mangelhafte Melkanlage und falsches Melkmanagement. Diese Faktoren führen letztlich dazu, dass Bakterien sich ansiedeln und die Mastitis verursachen können, allen voran der bekannte Keim *Staph. aureus*.



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für
Wirtschaft, Bildung und Forschung WBF
Agroscope



Collaboratori degli anni passati

- Boss Renate
- Burgener Pascale
- Cosandey Aurélie
- Fournier Christine
- Ivanovic Ivana
- Hummerjohann Jörg
- Michel Astrid
- Naskova Javorka
- Raemy Andreas
- Sartori Carlotta
- Spycher Anita
- Studer Evy
- Syring Claudia
- Wyder Anja

A petri dish containing a red agar medium. The word "Danke!" is written across the surface of the agar in a cursive script, formed by white bacterial growth.

Danke!



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Eidgenössisches Departement für Wirtschaft,
Bildung und Forschung WBF

Agroscope

***S. aureus* GTB in Ticino**

**H.U. Graber, Dr.med.vet.
C. Sartori, MSc ETH Zürich**

Agroscope

13 marzo 2015

www.agroscope.ch | gutes Essen, gesunde Umwelt



Visione d'insieme

- *S. aureus* GTB è presente in Ticino (V. Taminelli, C. Sartori)
- *S. aureus* GTB infetta varie bovine per azienda/alpeggio
 - queste producono latte di scarsa qualità (mastite)
 - diminuzione della qualità dei formaggi prodotti
- **Fattori di rischio per la propagazione di *S. aureus* GTB**
 - **alpeggio**
 - acquisto di bovine



Visione d'insieme 2

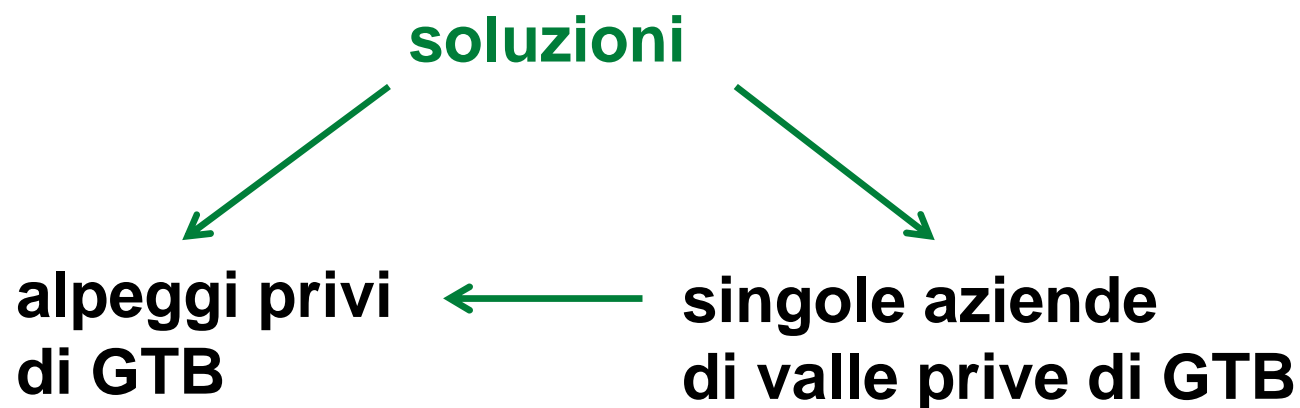
- **Fattori di rischio per il formaggio d'alpe**
 - *S. aureus* GTB: ripetutamente trovato in campioni di formaggio analizzati ($\geq 10^4$ cfu/g)
 - produzione di enterotossine (raramente)
 - possibilità igieniche e di raffreddamento del latte ev. limitate
 - latte rimane a temp. ambiente in attesa della caseificazione
 - formaggi a pasta semidura e molle: microbiologicamente sensibili, deterioramento



Obiettivo: formaggi d'alpe di alta qualità

alto valore aggiunto / immagine / consumatore

problema principale: *S. aureus* GTB





Alpeggi privi di GTB

▪ Misure

- tutte le bovine previste per l'alpeggio vengono controllate prima del carico per *S. aureus* GTB
 - solo bovine negative possono salire all'alpe

▪ Vantaggi

- realizzazione (messa in pratica) semplice

▪ Svantaggi

- ripetizione annuale delle analisi e il loro costo
- bovine GTB-positive devono restare a casa
- la problematica delle mastiti per le rispettive aziende di valle non viene risolta (circolo vizioso!) in quanto le bovine positive rimangono nel sistema



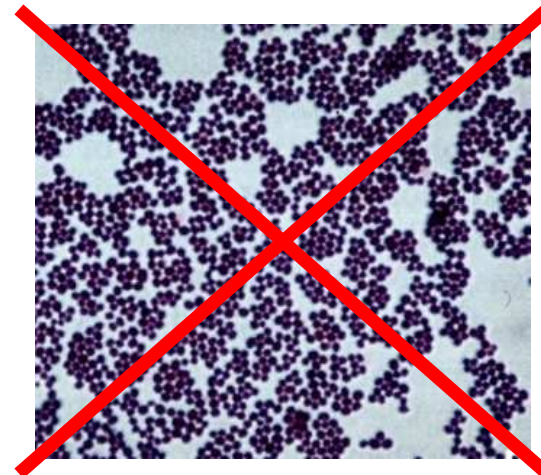
Aziende di valle prive di GTB

▪ Misure

- risanamento di tutte le aziende per *S. aureus* GTB
- ciò è oggi giorno realizzabile e può avere un ottimo successo
 - **unica via d'uscita sicura dal circolo vizioso, evitando continue re-infezioni**

▪ Condizioni

- metodo analitico: qPCR
- collaborazione dei contadini
- sostegno durante tutto il periodo di risanamento da parte di esperti





Aziende di valle prive di GTB 2

- **Vantaggi apportati dal risanamento**
 - frequenza delle mastiti ↓ ↓
→ qualità del latte crudo e dei suoi prodotti ↑ ↑
 - perdite finanziarie ↓ ↓
 - contenuto di *S. aureus* nel latte crudo ↓ ↓
→ sicurezza alimentare dei prodotti da latte crudo ↑
 - successo delle terapie ↑
 - uso di antibiotici ↓
 - la frustrazione diminuisce
- fase di monitoring successiva: possibilità di intervento immediato, non appena una bovina positiva viene detettata
→ evita la propagazione dei patogeni nella mandria



Aziende di valle prive di GTB 3

▪ Svantaggi

- **tutte** le aziende con bovine che occuperanno lo stesso alpeggio devono essere negative allo *S. aureus* GTB (interessi diversi)
- costi logistici, analitici, per terapie ed eliminazioni
 - limitati però al periodo di risanamento
 - più contenuti nell'ambito di un progetto di ricerca/dottorato (Agroscope pronto a collaborare)
- temporaneamente: aumento della mole di lavoro per contadini, responsabili del settore, autorità



Grazie per la vostra attenzione!

