

Articolo

Uno studio retrospettivo (2015-2020) sui fattori di rischio associati alla persistenza e alla diffusione della brucellosi negli allevamenti bufalini della provincia di Caserta, Italia

Maria Ottaiano¹, Roberta Brunetti¹*, Antonio Limone¹, Maria Rosaria Capone⁴, Alessandra Di Giuseppe⁴, Annamaria Conte⁴, Fabrizio De Massis⁴, Paolo Chiodini², Simona Signoriello², Loredana Baldi¹ e E. De Carlo³

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, 80055 Portici, Italia; maria.ottaiano@izsmportici.it (M.O.); antolim@izsmportici.it (A.L.); loredana.baldi@izsmportici.it (L.B.)

² Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli" - Dipartimento di Salute Mentale e Fisica e Medicina Preventiva Largo Madonna Delle Grazie, 1, 80138 Napoli NA ; paolo.chiodini@unicampania.it (P.C.); simona.signoriello@unicampania.it (S.S.)

³ Centro di Referenza Nazionale per l'Igiene e le Tecnologie di Allevamento e Produzione della Bufala d'Acqua.

Produzioni - Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno, 80055 Portici, Italia; esterina.decarlo@izsmportici.it

⁴ Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale"; Laboratorio di riferimento per la Brucellosi (*Brucella abortus*, *Brucella melitensis*, *Brucella suis*); Laboratorio di riferimento per l'Epididimite Ovina (*Brucella ovis*), m.capone@izs.it (M.R.C.) - Via Campo Boario, 1, 64100 Teramo TE; a.digiuseppe@izs.it (A.D.G.); a.conte@izs.it (A.C.)

*Corrispondenza : roberta.brunetti@izsmportici.it

Citazione: Ottaiano Maria.; Brunetti Roberta.; Limone Antonio.; Capone Maria Rosaria.; Di Giuseppe Alessandra; Conte Annamaria; De Massis Fabrizio; Chiodini Paolo; Signoriello Simona; Baldi Loredana; et al. De Carlo Esterina.

Studio retrospettivo (2015-2020) sui fattori di rischio associati alla persistenza e alla diffusione della brucellosi negli allevamenti bufalini della provincia di Caserta.

Provincia di Caserta, Italia". *Vet. Sci.* **2024**, *11*, x.

<https://doi.org/10.3390/xxxxx>

Editore/i accademico/i: Nome

Ricevuto: 17 gennaio 2024

Revisione: 21 febbraio 2024

Accettato: 29 febbraio 2024

Pubblicato: data



Copyright: © 2024 dagli autori. Presentato per un'eventuale pubblicazione ad accesso libero secondo i termini e le condizioni della licenza Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

Sintesi semplice: il presente lavoro ha affrontato l'annoso problema della brucellosi bufalina in provincia di Caserta; tale infezione ha ripercussioni sia sulla salute pubblica (malattia trasmissibile all'uomo) sia sull'economia della filiera lattiero-casearia della mozzarella di bufala DOP (Denominazione di Origine Protetta). Questa malattia persiste da anni nell'area casertana, e numerose risorse sono state investite senza alcun risultato. L'obiettivo del lavoro è stato quello di individuare le principali cause della persistenza del contagio per intervenire su di esse e migliorare l'utilizzo dei fondi pubblici. Lo studio ha dimostrato che il contagio persiste nelle stesse aziende e che molto probabilmente non si è mai allontanato da esse ed è sempre presente nelle stesse aree in cui le aziende sono vicine tra loro, e la malattia si è diffusa da un'azienda all'altra a causa dell'assenza di misure di sorveglianza e quarantena. Infatti, le aziende che hanno avuto una precedente storia di infezione e/o sono vicine ad altre aziende infette hanno una maggiore probabilità di contrarre l'infezione.

Abstract: La brucellosi bovina e bubalina è ancora presente in alcune regioni italiane. Nonostante le misure di controllo ed eradicazione siano state attuate da diversi anni, la situazione della brucellosi rimane problematica in Campania. L'infezione è presente nelle province di Salerno e Caserta, con quest'ultima che negli ultimi anni ha registrato un drastico aumento della prevalenza e dell'incidenza dell'infezione nella specie bufalina (*Bubalus bubalis*). Il piano di eradicazione della brucellosi in Italia è soggetto al sistema di cofinanziamento europeo e il mancato raggiungimento degli obiettivi del piano ha comportato per anni tagli economici per la Regione Campania. Questo studio si proponeva di valutare i possibili fattori di rischio associati alla diffusione e alla persistenza dell'infezione da brucellosi negli allevamenti bufalini della provincia di Caserta. Sono stati analizzati i risultati dei controlli ufficiali effettuati dal 2015 al 2020 negli allevamenti bufalini della Provincia. L'analisi statistica è stata eseguita mediante il software R (versione 4.1.0) su un dataset finale composto da 4583 osservazioni. È stata valutata l'eventuale associazione tra covariate ed esito (presenza/assenza di infezione) (T-Fisher e Wilcoxon). È stato realizzato un modello di

regressione logistica a effetti misti. Lo studio mostra che il rischio di infezione è statisticamente associato alla densità di allevamenti per km² e a precedenti notifiche di aborti negli stessi allevamenti. Inoltre, gli spostamenti degli animali costituiscono un fattore di rischio per la permanenza dell'infezione nel tempo (OR > 1), e gli allevamenti già infetti prima del 2015 sono risultati avere un rischio quasi triplo di sviluppare la malattia (OR = 3,35).

Parole chiave: brucellosi; fattori di rischio; modello di regressione; associazione statistica; bufalo; Caserta

1. Introduzione

La brucellosi è una zoonosi causata da un batterio Gram-negativo del genere *Brucella* che colpisce l'uomo e gli animali; è considerata una delle infezioni zoonotiche più diffuse a livello mondiale e può senza dubbio essere considerata, soprattutto nelle aree in cui diventa endemica, una malattia "professionale", in quanto colpisce principalmente allevatori, veterinari, dipendenti dei macelli e macellai (WOAH, 2016 [16]); (Refai et al, 2022 [12]); (Di Giannatale et al., 2008 [3]); (De Massis et al., 2019 [2]); (John McGiven et al., 2014 [22]); (Laine et al., 2022 [7]); (Moreno et al., 2022 [9]).

In media, ogni anno vengono segnalati circa 500.000 casi (Noah C et al., 2018) di brucellosi umana, ma le stime dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) suggeriscono che, a causa della sotto-segnalazione nelle attività di sorveglianza della malattia, l'incidenza reale potrebbe essere da 10 a 25 volte maggiore (Shirima GM-Tanz J Hlth Res (2010) [34]).

Storicamente, i Paesi europei più colpiti dalla brucellosi sono quelli dell'area mediterranea. I dati raccolti nel 2008 rivelano che circa l'85% dei casi di brucellosi umana segnalati si è verificato in Grecia, Italia, Portogallo e Spagna. Inoltre, è stato accertato che la quasi totalità dei casi segnalati nei Paesi del Nord Europa è costituita da "casi importati", cioè da viaggiatori di ritorno da Paesi in cui la brucellosi è endemica (EFSA, 2010-EFSA 2022, [4]).

Va sottolineato che, sebbene sia considerata un'infezione professionale, soprattutto nelle aree endemiche, la malattia non colpisce solo i professionisti; è un rischio reale anche per la popolazione generale, che può essere infettata attraverso il consumo di prodotti lattiero-caseari freschi ottenuti da latte crudo (EFSA, 2010-EFSA 2022, [4]).

Sebbene questa zoonosi sia stata eradicata in alcuni Paesi, è ancora presente in molte aree dell'Europa e provoca danni considerevoli in diversi settori tecno-commerciali, con perdite economiche dovute agli aborti tardivi e/o ai nati morti, all'abbattimento degli animali infetti e alla distruzione o al trattamento termico di latte e prodotti a base di carne.

L'infezione di una mandria causa perdite economiche dovute agli aborti (che si verificano tra il 3° e il 4° mese di gravidanza, con possibile ritenzione delle membrane fetali) e alla diminuzione della produzione di latte (Calistri et al., 2013 [20]). La maggior parte delle vacche infette abortisce una sola volta nella vita, anche se la placenta può essere ancora infetta durante le gestazioni successive. La *Brucella* si localizza nei linfonodi sopramammari e nelle ghiandole mammarie nell'80% degli animali infetti, che diffondono il patogeno nel latte per tutta la vita (Hamdy e Amin, 2002 [35]).

Un importante fattore di rischio per la diffusione dell'infezione è la promiscuità, cioè il contatto di animali provenienti da allevamenti diversi; la condivisione degli stessi pascoli aperti per lunghi periodi facilita la trasmissione dell'infezione da allevamenti infetti ad allevamenti sani attraverso la contaminazione ambientale dovuta a feti abortiti, placenti, lochia, essudati e secrezioni uterovaginali di animali infetti (Olsen e Tatum, 2010 [40]). I fattori che favoriscono la persistenza del batterio sono la mancanza di un adeguato sistema di sorveglianza, l'alta densità di animali, lo stretto contatto tra diverse specie sensibili, la cattiva gestione e il basso livello di biosicurezza degli allevamenti (Kabagambe et al., 2001 [6]; M. Dadar et al., 2019 [31]). I principali fattori di rischio includono l'introduzione di un animale infetto in una popolazione sana; aborti gestiti in modo scorretto; l'uso di latte, acqua potabile o alimenti contaminati; e pratiche veterinarie scorrette (uso di strumenti contaminati) (Huan Zhang et al., 2020 [36], Brunetti et al. 2023 [37]).

Gli animali infetti rilasciano *B. abortus* attraverso il colostro e il latte dopo il parto; questa escrezione può continuare a intermittenza per molti mesi e, in alcuni casi, anche per più di due anni. La mammella di un animale infetto è l'organo più frequentemente colonizzato da *Brucella*. Inoltre, l'urina e le feci contribuiscono alla contaminazione dell'ambiente, con conseguente trasmissione indiretta dell'infezione agli animali sensibili [Centers for Disease Control and Prevention CDC]. [Brsishttp://www.cdc.gov/brucellosis](http://www.cdc.gov/brucellosis) - 01/03/2022].

In Italia, una strategia di eradicazione è stata introdotta nel 1994 (Ministero della Salute, 1994), quando è stata adottata una politica di vaccinazione, test rigorosi e abbattimento. Il piano mirava a eradicare la brucellosi dagli allevamenti bovini in cinque anni (Calistri et al., 2013 [20]). Tuttavia, nonostante l'applicazione di misure di controllo ed eradicazione per diversi anni, la brucellosi rimane un problema in alcune regioni meridionali dell'Italia (Nannini et al., 1992 [23]; Calistri et al., 2013 [20]). Attualmente l'Italia è divisa in modo abbastanza netto, con le regioni del Nord Italia libere da anni dall'infezione, mentre in alcune regioni del Centro e soprattutto del Sud Italia la brucellosi persiste con una prevalenza particolarmente elevata in alcune province (<https://www.salute.gov.it/portale/sanitaAnimale/dettaglioContenutiSanitaAnimale.jsp?lingua=italiano&id=263&tab=3> [41] - 01/03/2022).

Il piano nazionale di eradicazione si basa su test sierologici periodici delle mandrie di bovini (*Bos Taurus*) e bufali (*Bubalus bubalis*). L'intervallo tra i test e il numero di mandrie e animali da testare variano a seconda dello stato sanitario della provincia interessata. Dal 2015 sono state intensificate le misure di eradicazione e sono state emanate disposizioni più severe per l'individuazione e l'abbattimento degli animali infetti (Ordinanza ministeriale maggio 2015: Misure straordinarie di polizia veterinaria in materia di tubercolosi, brucellosi bovina e bufalina, brucellosi ovicaprina, leucosi bovina enzootica [19]; Brunetti et al., 2023 [37]).

Nella Regione Campania, le province di Napoli, Avellino e Benevento sono state dichiarate indenni da brucellosi bovina nel 2021 e l'obbligo di vaccinazione è stato revocato (Decisione 385 dell'UE del marzo 2021, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32021D0385> - 01/03/2022). Nella provincia di Salerno, sebbene la malattia sia ancora presente, l'andamento dell'incidenza delle infezioni è progressivamente diminuito negli ultimi tre anni. In provincia di Caserta, invece, la brucellosi bufalina rappresenta ancora un grave problema, sia per le possibili ripercussioni sulla salute umana, sia per le ingenti perdite economiche e commerciali che provoca nel settore zootecnico.

La Campania è la regione con la più alta concentrazione di allevamenti bufalini in Italia e circa l'80% della popolazione bufalina campana è localizzata nel territorio della Provincia di Caserta (<https://www.vetinfo.it/> - 01/03/2022). Questa attività zootecnica, che coinvolge oltre 1400 allevamenti e circa 300.000 capi, occupa una posizione di rilievo nel sistema agricolo complessivo e rappresenta una componente importante dell'economia della regione. Si producono in media 50.000 tonnellate di "mozzarella di bufala campana DOP" (denominazione di origine protetta) all'anno, per un valore di circa 430 milioni di euro (il 34% viene esportato), con un valore complessivo della filiera che raggiunge 1,5 miliardi di euro (circa l'1,5% del PIL regionale). Tuttavia, il piano di eradicazione della brucellosi in Italia è soggetto al sistema di cofinanziamento europeo e il mancato raggiungimento degli obiettivi del piano ha penalizzato economicamente la Regione Campania per anni.

Negli ultimi sei anni è stato osservato un drastico aumento delle infezioni nell'area di Caserta (sistema informativo nazionale di segnalazione SIR-Vetinfo, https://www.vetinfo.it/j6_rendicontazioniNew/report/ZOB/; 20/06/2022). Ogni anno sono stati rilevati numerosi nuovi focolai, che testimoniano il fallimento del sistema di prevenzione e controllo e suggeriscono la necessità di una valutazione approfondita dell'attuale situazione epidemiologica; ciò significa individuare i principali fattori di

rischio per la persistenza e la diffusione della brucellosi bovina negli allevamenti bufalini della Provincia di Caserta.

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare i possibili fattori di rischio che hanno influenzato la diffusione e la persistenza dell'infezione da brucellosi negli allevamenti bufalini casertani nel periodo 2015-2021, al fine di pianificare adeguate contromisure. Queste presuppongono un uso efficiente ed efficace delle risorse disponibili e la fornitura di un supporto pratico ai servizi veterinari locali nella valutazione e pianificazione degli interventi diagnostici, preventivi e di controllo.

2. Materiali e metodi

È stato condotto uno studio retrospettivo longitudinale di coorte su dati provenienti da allevamenti bufalini della provincia di Caserta per un periodo di 6 anni (dal 2015 al 2020). I dati sono stati estratti dal Sistema Informativo Veterinario Nazionale (<https://www.vetinfo.it/> - 20/06/2022) e dal Sistema di Gestione dei Laboratori (SIGLA) dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno.

I dati sono stati recuperati dai seguenti database nazionali:

- SANAN: Sistema Informativo della Sanità Animale; questa applicazione web per la Sanità Animale è accessibile dal Portale del Sistema Informativo Veterinario, sul quale il Servizio Veterinario Territoriale carica i risultati degli esami sanitari effettuati in ogni azienda. Attraverso il SANAN, le Unità sanitarie locali e il Ministero della Salute possono monitorare lo stato di avanzamento delle attività di eradicazione ed effettuare specifiche analisi del rischio;
- SIMAN: il sistema di notifica centralizzato per i focolai di malattie infettive negli animali; raccoglie tutte le informazioni sui focolai di malattie soggette a notifica;

NDb: la banca dati nazionale degli allevamenti e degli animali, in cui sono registrati tutti gli allevamenti e i bovini, compresi tutti gli spostamenti di ciascun animale nel corso della sua vita.

I dati forniti dal SIGLA sono stati utilizzati per raccogliere gli esiti (positivi/negativi) dei test sierologici e la presenza di aborti in ogni allevamento. I dati forniti da NDb sono stati utilizzati per identificare la geolocalizzazione dell'allevamento, la presenza di altri animali nell'allevamento (bovini e/o ovini e caprini), il numero di movimenti da o verso l'allevamento, il numero di animali e lo stato di salute dell'allevamento. SIMAN ha fornito informazioni sui focolai confermati di brucellosi bovina prima del 2015.

Sono stati analizzati i risultati dei controlli ufficiali effettuati dal 2015 al 2020 negli allevamenti bufalini della provincia di Caserta. Gli allevamenti sono stati classificati come infetti (positivi) anche quando un solo animale è risultato positivo ai test sierologici. Secondo le disposizioni europee, tutti i bovini devono essere sottoposti a test sierologici due volte l'anno. Il test del rosa bengala (RBT) viene utilizzato come test di screening. Tutti gli animali positivi al test RBT vengono anche testati con il test di fissazione del complemento (CFT). Gli animali positivi sono considerati infetti e vengono abbattuti.

Per selezionare le mandrie da studiare sono stati utilizzati i seguenti criteri di inclusione.

Criteri di inclusione:

- presenza di bufale nella mandria nel periodo 2015-2020;
- allevamenti situati nella provincia di Caserta;
- allevamenti controllati per la brucellosi almeno una volta negli anni 2015-2020.

Criteri di esclusione:

- allevamenti mai controllati per la Brucellosi nel periodo considerato;
- allevamenti situati al di fuori della provincia di Caserta;
- allevamenti con animali di età inferiore ai 12 mesi;
- allevamenti non soggetti al programma Brucellosi.

L'analisi statistica è stata effettuata con il software R versione 4.1.0. (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Le variabili continue sono state riportate

come media, deviazione standard, mediana, valori minimi e massimi, mentre le variabili categoriche sono state riportate come percentuali.

È stata condotta un'analisi preliminare sugli allevamenti positivi calcolando la percentuale di positività ricorrenti nell'intero periodo considerato: 231 allevamenti sono stati infettati, il 39% dei quali era risultato positivo in precedenza. Poiché questa percentuale era inferiore al 50%, è stato possibile effettuare l'analisi statistica. Se la percentuale di allevamenti con recidive di focolai confermati avesse superato il 50%, molte delle osservazioni sarebbero state effettuate negli stessi allevamenti positivi e non sarebbe stato quindi possibile identificare i fattori di rischio.

Le analisi sono state effettuate per ogni anno e si è valutata la possibile dipendenza dell'esito da ogni singola covariata. Per le variabili qualitative è stato utilizzato il test esatto di Fisher, mentre per le variabili quantitative è stato utilizzato il test non parametrico di Wilcoxon. I risultati sono stati considerati significativi se il *valore di p* è stato < 0,05.

Le variabili analizzate sono elencate di seguito:

- Presenza di un focolaio tre anni prima: variabile dicotomica Sì/No, che indica se nell'allevamento era stato registrato un focolaio di brucellosi bovina tre anni prima della positività riscontrata nell'anno in questione.
- Presenza di un focolaio nell'anno precedente: variabile dicotomica Sì/No, che indica se nell'allevamento è stato registrato un focolaio nell'anno precedente alla positività riscontrata nell'anno in questione.
- Revoca della qualifica di indenne: variabile dicotomica Sì/No, che indica se l'allevamento ha perso la qualifica di indenne da brucellosi negli anni precedenti.
- Presenza di pecore e capre: variabile dicotomica Sì/No, che indica se nello stesso allevamento sono presenti anche pecore e capre.
- Densità delle aziende agricole per chilometro quadrato, calcolata secondo la funzione kernel, che tiene conto della distanza tra le aziende agricole (il valore della densità è più alto nelle aree vicine a un'azienda agricola e diminuisce all'aumentare della distanza da essa).
- Densità di animali per chilometro quadrato, calcolata secondo la funzione kernel, che tiene conto della distanza tra le aziende. Il numero di animali nell'allevamento determina il numero di volte in cui l'allevamento viene considerato nell'analisi (ad esempio, un allevamento con 3 animali viene considerato come se ci fossero 3 allevamenti nella stessa area).
- Movimenti: variabile dicotomica Sì/No, che indica se l'allevamento ha introdotto animali durante l'anno di riferimento. In particolare, per gli allevamenti positivi sono state considerate solo le introduzioni avvenute nei 6 mesi precedenti il primo risultato positivo, mentre per gli allevamenti negativi sono state considerate solo le introduzioni avvenute nei 6 mesi precedenti l'ultimo controllo sierologico effettuato nell'anno di riferimento.
- Numero di movimenti: variabile numerica che indica il numero di movimenti effettuati secondo i criteri sopra descritti.
- Numero di animali movimentati: variabile numerica che indica il numero di animali movimentati secondo i criteri sopra descritti.
- Presenza di positività nell'allevamento prima del periodo in esame: variabile dicotomica Sì/No, che indica se l'allevamento aveva subito un focolaio confermato nel periodo precedente agli anni in esame.
- Aborti: variabile dicotomica Sì/No, che indica se si sono verificati aborti nell'allevamento durante il periodo in esame.

La regressione logistica a effetti misti viene utilizzata per modellare variabili di esito binarie, in quanto le probabilità logistiche degli esiti vengono modellate come una combinazione lineare delle variabili predittive quando i dati sono raggruppati o quando

ci sono effetti fissi e casuali. Un modello misto è un modello statistico contenente sia effetti fissi che effetti casuali. La variabile di risposta viene quindi modellata combinando gli effetti fissi, che sono comuni a tutta la popolazione, con gli effetti casuali, che variano tra gli individui.

È stata eseguita una regressione logistica a effetti misti, poiché la variabile dipendente è dicotomica e i predittori sono molteplici.

Poiché il numero di spostamenti, il numero di animali spostati e i movimenti erano correlati, abbiamo deciso di includere nel modello solo la variabile "movimenti" come variabile esplicativa, poiché questa era statisticamente associata al risultato durante l'analisi preliminare.

Prima di essere incluse nel modello, le variabili dicotomiche Sì/No sono state trasformate in "fattori" associandole alla presenza ("1") o all'assenza ("0") della covariata.

È stato quindi costruito un modello di regressione logistica a effetti misti per valutare l'effetto di eventuali fattori nel tempo e quantificare l'eventuale rischio di sviluppo della malattia; il modello includeva solo le variabili esplicative che mostravano un'associazione significativa con la variabile di risposta e quelle covariate che risultavano significative nell'analisi univariata con l'iterazione con la variabile temporale. Nel modello, la variabile risposta era costituita dalla presenza o dall'assenza di malattia (variabile dicotomica), gli effetti fissi erano rappresentati dalla variabile temporale (anno) e gli effetti casuali erano rappresentati dalle singole aziende.

La significatività delle variabili all'interno del modello finale è stata confermata mediante il test ANOVA (significatività per p -value < 0,05).

Dopo la costruzione e i risultati del modello, è stato calcolato l'odds ratio (OR) come esponenziale dei coefficienti di regressione ottenuti.

Abbiamo effettuato un'analisi di autocorrelazione spaziale utilizzando i valori di prevalenza a livello comunale; questa analisi è stata eseguita per supportare la significatività della covariata "densità di aziende agricole per km²" (Kernel) nel modello. L'analisi è stata condotta in due fasi: la prima per valutare l'autocorrelazione globale attraverso il calcolo dell'indice di Moran, e la seconda per identificare eventuali outlier a livello locale attraverso l'I di Moran locale di Anselin.

3. I risultati

Il dataset era composto da 4583 osservazioni e nove variabili relative a 861 allevamenti. Durante l'intero periodo considerato, sono stati infettati 231 allevamenti, il 39% dei quali ha subito ripetuti focolai di brucellosi bovina.

L'analisi per ogni anno ha rivelato un'associazione statisticamente significativa tra la presenza della malattia nell'azienda e le seguenti variabili qualitative: aborti dichiarati, revoca della qualifica sanitaria di indenne da brucellosi e numero di movimenti (dalla Tabella 1 alla Tabella 6).

Inoltre, per le variabili "densità di allevamenti per km²" e "densità di animali per km²", è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa tra gli allevamenti infetti e quelli che sono sempre risultati negativi nel periodo.

Tabella 1. Test di Fisher 2015 e test di Wilcoxon.

	Negativo (N = 791)	Positivo (N = 26)	Valore p
Presenza di bestiame in azienda			
No	464 (58.7%)	16 (61.5%)	0.928
Sì	327 (41.3%)	10 (38.5%)	
Presenza di pecore e capre nell'azienda agricola			
No	763 (96.5%)	26 (100%)	0.668
Sì	28 (3.5%)	0 (0%)	

Movimenti			
No	617 (78.0%)	23 (88.5%)	0.302
Sì	174 (22.0%)	3 (11.5%)	
Aborti			
No	775 (98.0%)	24 (92.3%)	0.208
Sì	16 (2.0%)	2 (7.7%)	
Positivo tre anni prima			
No	771 (97.5%)	19 (73.1%)	< 0.05
Sì	20 (2.5%)	7 (26.9%)	
Positivo un anno prima			
No	739 (93.4%)	16 (61.5%)	< 0.05
Sì	52 (6.6%)	10 (38.5%)	
Sospensione dello stato di salute			
No	747 (94.4%)	25 (96.2%)	1
Sì	44 (5.6%)	1 (3.8%)	
Numero di capi di bestiame nell'azienda			
Media (SD)	5.89 (29.6)	1.50 (3.20)	0.502
Mediana [Min, Max]	0 [0, 641]	0 [0, 11.0]	
Numero di movimenti			
Media (SD)	0.422 (1.11)	0.308 (1.19)	0.21
Mediana [Min, Max]	0 [0, 13.0]	0 [0, 6.0]	
Numero di animali spostati			
Media (SD)	12.5 (90.4)	10 (36.5)	0.263
Mediana [Min, Max]	0 [0, 2000]	0 [0, 170]	
Numero di capi in azienda			
Media (SD)	236 (234)	260 (219)	0.461
Mediana [Min, Max]	179 [1, 3010]	176 [10, 905]	
Densità di animali per km ²			
Media (SD)	552 (490)	634 (474)	0.278
Mediana [Min, Max]	444 [0, 2260]	513 [88.5, 1740]	
Densità di aziende agricole per km ²			
Media (SD)	1.47 (1.01)	2.17 (0.795)	< 0.05
Mediana [Min, Max]	1.17 [0.0767, 3.48]	2.48 [0.476, 3.07]	

Tabella 2. 2016 Test di Fisher e test di Wilcoxon.

	Negativo (N = 753)	Positivo (N = 35)	Valor e p
Presenza di bestiame in azienda			
No	436(57.9%)	19 (54.3%)	0.804
Sì	317 (42.1%)	16 (45.7%)	
Presenza di pecore e capre nella fattoria			
No	734 (97.5%)	34 (87.1%)	1
Sì	19 (2.5%)	1 (2.9%)	
Movimenti			
No	561 (74.5%)	26 (74.3%)	1
Sì	192 (25.5%)	9 (25.7%)	
Aborti			
No	732 (97.2%)	32 (91.4%)	0.149
Sì	21 (2.8%)	3 (8.6%)	
Positivo tre anni prima			

No	727 (96.5%)	31 (88.6%)	0.0502
Sì	21 (2.8%)	3 (8.6%)	
Positivo un anno prima			
No	738 (98.0%)	27 (77.1%)	< 0.05
Sì	15 (2.0%)	8 (22.9%)	
Sospensione dello stato di salute			
No	711 (94.4%)	26 (74.3%)	< 0.05
Sì	42 (5.6%)	9 (25.7%)	
Numero di capi di bestiame nell'azienda			
Media (SD)	5.78 (22.8)	3.71 (10.2)	0.944
Mediana [Min, Max]	0 [0, 399]	0 [0, 57.0]	
Numero di movimenti			
Media (SD)	0.541 (1.50)	0.514 (1.01)	0.888
Mediana [Min, Max]	0 [0, 23.0]	0 [0, 4.0]	
Numero di animali spostati			
Media (SD)	11.9 (47.5)	10.5 (29.4)	0.914
Mediana [Min, Max]	0 [0, 496]	0 [0, 134]	
Numero di capi in azienda			
Media (SD)	249 (249)	273 (201)	0.172
Mediana [Min, Max]	191 [1, 3250]	202 [8.00, 1050]	
Densità di animali per km ²			
Media (SD)	583 (521)	463 (274)	0.592
Mediana [Min, Max]	474 [0, 2800]	439 [7.54, 1370]	
Densità di aziende agricole per km ²			
Media (SD)	1.43 (0.970)	2.01 (0.782)	< 0.05
Mediana [Min, Max]	1.16 [0.0762, 3.35]	2.18 [0.342, 3.19]	

Tabella 3. 2017 Test di Fisher e test di Wilcoxon.

	Negativo (N = 726)	Positivo (N = 40)	Valore p
Presenza di bestiame in azienda			
No	426 (58.3%)	23 (57.5%)	1
Sì	300 (41.3%)	17 (42.5%)	
Presenza di pecore e capre nell'azienda agricola			
No	704 (97.0%)	40 (100%)	0.528
Sì	22 (3.0%)	0 (0%)	
Movimenti			
No	563 (77.5%)	26 (65%)	0.101
Sì	163 (22.5%)	14 (35%)	
Aborti			
No	699 (96.3%)	36 (90.0%)	0.121
Sì	27 (3.7%)	4 (10%)	
Positivo tre anni prima			
No	700 (96.3%)	37 (92.5%)	0.402
Sì	26 (3.6%)	3 (7.5%)	
Positivo un anno prima			
No	708 (97.5%)	30 (75.0%)	< 0.05
Sì	26 (3.6%)	3 (7.5%)	
Sospensione dello stato di salute			

No	698 (96.1%)	36 (90.0%)	< 0.05
Sì	28 (3.9%)	4 (10%)	
Numero di capi di bestiame nell'azienda			
Media (SD)	6.12 (22.2)	1.85 (4.33)	0.752
Mediana [Min, Max]	0 [0, 311]	0 [0, 23.0]	
Numero di movimenti			
Media (SD)	0.521 (1.68)	0.850 (1.75)	0.0597
Mediana [Min, Max]	0 [0, 26.0]	0 [0, 9.0]	
Numero di animali spostati			
Media (SD)	8.60 (41.2)	13.1 (42.7)	0.0599
Mediana [Min, Max]	0 [0, 567]	0 [0, 242]	
Numero di capi in azienda			
Media (SD)	261 (256)	239 (167)	0.89
Mediana [Min, Max]	203 [1, 3080]	186 [29.0, 626]	
Densità di animali per km ²			
Media (SD)	548 (435)	805 (545)	< 0.05
Mediana [Min, Max]	453 [0, 1950]	729 [85.7, 1950]	
Densità di aziende agricole per km ²			
Media (SD)	1.38 (0.943)	2.18 (0.793)	< 0.05
Mediana [Min, Max]	1.17 [0.0757, 3.27]	2.31 [0.120, 3.27]	

Tabella 4. 2018 Test di Fisher e test di Wilcoxon.

	Negativo (N = 696)	Positivo (N = 60)	Valore p
Presenza di bestiame in azienda			
No	417 (59.9%)	37 (61.7%)	0.898
Sì	279 (40.1%)	23 (38.3%)	
Presenza di pecore e capre nell'azienda agricola			
No	672 (96.6%)	59 (98.3%)	0.716
Sì	24 (3.4%)	1 (1.7%)	
Movimenti			
No	522 (75%)	53 (88.3%)	< 0.05
Sì	174 (25%)	7 (11.7%)	
Aborti			
No	670 (96.3%)	58 (96.7%)	1
Sì	26 (3.7%)	4 (10%)	
Positivo tre anni prima			
No	678 (97.4%)	57 (95%)	0.495
Sì	18 (2.6%)	3 (5%)	
Positivo un anno prima			
No	679 (97.6%)	41 (68.3%)	< 0.05
Sì	17 (2.4%)	19 (31.7%)	
Sospensione dello stato di salute			
No	670 (97.6%)	57 (95.0%)	0.889
Sì	26 (3.7%)	3 (5%)	
Numero di capi di bestiame nell'azienda			
Media (SD)	5.20 (20.5)	16 (89.1)	0.575

Mediana [Min, Max]	0 [0, 292]	0 [0, 661]	
Numero di movimenti			
Media (SD)	0.506 (1.51)	0.267 (1.01)	< 0.05
Mediana [Min, Max]	0 [0, 25.0]	0 [0, 7.0]	
Numero di animali spostati			
Media (SD)	11.2 (44.6)	3.83 (13.6)	< 0.05
Mediana [Min, Max]	0 [0, 433]	0 [0, 70]	
Numero di capi in azienda			
Media (SD)	262 (262)	264 (202)	0.384
Mediana [Min, Max]	204 [1, 3060]	253 [13, 626]	
Densità di animali per km ²			
Media (SD)	537 (454)	738 (433)	< 0.05
Mediana [Min, Max]	429 [0, 2540]	650 [75.9, 1750]	
Densità di aziende agricole per km ²			
Media (SD)	1.32 (0.919)	2.25 (0.679)	< 0.05
Mediana [Min, Max]	1.09 [0.07771, 3.15]	2.45 [0.0911, 3.12]	

Tabella 5. Test di Fisher 2019 e test di Wilcoxon.

	Negativo (N = 653)	Positivo (N = 87)	Valore p
Presenza di bestiame in azienda			
No	411 (62.9%)	64 (73.6%)	0.0684
Sì	242 (37.1%)	23 (26.4%)	
Presenza di pecore e capre nell'azienda agricola			
No	626 (95.9%)	87 (100%)	0.104
Sì	27 (4.1%)	0 (0%)	
Movimenti			
No	536 (82.1%)	71 (81.6%)	1
Sì	117 (17.9%)	16 (18.4%)	
Aborti			
No	627 (96.0%)	79 (90.8%)	0.0562
Sì	26 (4%)	8 (9.2%)	
Positivo tre anni prima			
No	628 (96.2%)	82 (94.3%)	0.573
Sì	25 (3.8%)	5 (5.7%)	
Positivo un anno prima			
No	626 (95.9%)	60 (69.0%)	< 0.05
Sì	27 (4.1%)	27 (31.0%)	
Sospensione dello stato di salute			
No	638 (97.7%)	79 (90.8%)	< 0.05
Sì	15 (2.3%)	8 (9.2%)	
Numero di capi di bestiame nell'azienda			
Media (SD)	4.99(18.1)	2.66 (16.1)	< 0.05
Mediana [Min, Max]	0 [0, 254]	0 [0, 146]	
Numero di movimenti			
Media (SD)	0.415 (1.41)	0.402 (1.08)	0.883
Mediana [Min, Max]	0 [0, 20.0]	0 [0, 6.0]	
Numero di animali spostati			
Media (SD)	9.32 (46.3)	15.8 (68.6)	0.807
Mediana [Min, Max]	0 [0, 584]	0 [0, 544]	
Numero di capi in azienda			
Media (SD)	269 (272)	268 (195)	0.277
Mediana [Min, Max]	205 [1, 3030]	245 [10, 1020]	
Densità di animali per km ²			
Media (SD)	507 (418)	684 (366)	< 0.05
Mediana [Min, Max]	420 [0, 2420]	738 [0, 1860]	
Densità di aziende agricole per km ²			
Media (SD)	1.24 (0.879)	2.13 (0.708)	< 0.05
Mediana [Min, Max]	1.01 [0.0796, 3.09]	2.34 [0.233, 3.04]	

Tabella 6. 2020 Test di Fisher e test di Wilcoxon.

Poiché molti allevamenti sono risultati ripetutamente positivi nel corso degli anni, è stata condotta un'analisi in cui è stato considerato il periodo complessivo. Le seguenti variabili sono risultate significativamente associate alla positività dell'allevamento nel periodo: presenza di aborti, presenza di pecore e capre, positività dell'allevamento prima del 2015, numero di animali nell'allevamento e densità di allevamenti e animali per chilometro quadrato.

	Negativo (N = 611)	Positivo (N = 105)	Valore p
Presenza di bestiame in azienda			
No	384 (62.8%)	82 (78.1%)	< 0.05
Sì	227 (37.2%)	23 (21.9%)	
Presenza di pecore e capre nell'azienda agricola			
No	590 (96.6%)	104 (99.0%)	0.291
Sì	21 (3.4%)	1 (1.0%)	
Movimenti			
No	487 (79.7%)	93 (88.6%)	< 0.05
Sì	124 (20.3%)	12 (11.4%)	
Aborti			
No	591 (96.7%)	96 (91.4%)	< 0.05
Sì	124 (20.3%)	9 (8.6%)	
Positivo tre anni prima			
No	581 (95.1%)	99 (94.3%)	0.915
Sì	30 (4.9%)	6 (5.7%)	
Positivo un anno prima			
No	582 (95.3%)	64 (61.0%)	< 0.05
Sì	29 (4.7%)	41 (39.0%)	
Sospensione dello stato di salute			
No	601 (98.4%)	88 (83.8%)	< 0.05
Sì	10 (1.6%)	17 (16.2%)	
Numero di capi di bestiame nell'azienda			
Media (SD)	6.12 (30.4)	3.10 (13.5)	< 0.05
Mediana [Min, Max]	0 [0, 590]	0 [0, 108]	
Numero di movimenti			
Media (SD)	0.656 (2.13)	0.190 (0.773)	< 0.05
Mediana [Min, Max]	0 [0, 23.0]	0 [0, 7.0]	
Numero di animali spostati			
Media (SD)	13.2 (73.2)	5.55 (26.5)	< 0.05
Mediana [Min, Max]	0 [0, 1240]	0 [0, 233]	
Numero di capi in azienda			
Media (SD)	276 (281)	255 (246)	0.4
Mediana [Min, Max]	209 [1, 3010]	173 [11, 1380]	
Densità di animali per km ²			
Media (SD)	467 (386)	613 (402)	< 0.05
Mediana [Min, Max]	382 [0, 2060]	500 [25.9, 1820]	
Densità di aziende agricole per km ²			
Media (SD)	1.18 (0.853)	1.97 (0.740)	< 0.05

Mediana [Min, Max]	0.975 [0.0786, 3.08]	2.07 [0.304, 3.08]
--------------------	----------------------	--------------------

Più del 50% degli allevamenti positivi nel periodo considerato aveva subito un focolaio di brucellosi bovina nel periodo precedente a quello esaminato (2008-2014); è stata riscontrata un'associazione statisticamente significativa tra la presenza dell'infezione e la positività dell'allevamento negli anni precedenti, confermando la tendenza dell'infezione a persistere negli stessi allevamenti.

Inoltre, l'infezione era più frequentemente presente nelle aziende con un numero maggiore di animali. Ciò non sorprende, data l'epidemiologia della malattia: un numero maggiore di animali significa una maggiore probabilità di diffusione di *Brucella* attraverso l'aborto o il parto (Calistri et al., 2013 [20]).

Il numero di movimenti effettuati e il numero di animali introdotti da altri allevamenti non sembrano avere un ruolo importante nella persistenza della brucellosi. Inoltre, è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa per la variabile "numero medio di animali nell'allevamento" nei due gruppi di risultati.

Tabella 7. OR = Odds Ratio, CI = Intervallo di confidenza, * = iterazione tra una variabile e l'altra.

Caratteristica	O	95% CI	Valore p
anni * movimenti			
2015 * 1	1.012	1.003, 1.044	> 0.05
2016 * 1	1.043	1.019, 1.097	< 0.05
2017 * 1	1.085	1.041, 1.169	< 0.05
2018 * 1	1.038	1.015, 1.093	< 0.05
2019 * 1	1.152	1.075, 1.294	< 0.05
2020 * 1	1.102	1.046, 1.214	< 0.05
Sospensione dello stato di salute	3.510	2.165, 5.691	< 0.05
Densità di aziende agricole per km²	3.132	2.583, 3.798	< 0.05
Aborti	2.442	1.395, 4.276	< 0.05

Gli allevamenti a cui è stata revocata la qualifica di indenne da brucellosi avevano un rischio 3,5 volte superiore di risultare positivi rispetto agli allevamenti con una storia di mantenimento della qualifica di indenne. Allo stesso modo, quelli con notifiche di aborto avevano una probabilità circa 2,5 volte superiore di essere positivi (Tabella 7). Gli spostamenti hanno costituito un fattore di rischio per lo sviluppo della malattia nel tempo, anche se inferiore ad altre caratteristiche. Come si può vedere dalla tabella precedente, l'OR era superiore all'unità, anche se di poco. Nel 2019, gli allevamenti in cui erano stati introdotti animali nel periodo precedente presentavano una probabilità di sviluppare la malattia superiore del 15% rispetto a quelli che non avevano introdotto animali.

Inoltre, si può notare che il rischio di infezione era tre volte maggiore dove la densità di aziende agricole per km era più alta. In media, l'indice di Moran globale è risultato statisticamente significativo (indice di Moran = 0,14, valore Z = 2,03, $p < 0,05$), mostrando un raggruppamento dell'infezione, espresso come prevalenza di allevamenti positivi in ogni comune. L'analisi locale ha identificato alcuni comuni hot-spot: due High-Low (colore rosso) e cinque High-High (colore rosa) (Figura 1). L'intensità della prevalenza si è dimostrata simile nelle aree limitrofe, vale a dire che è più probabile che comuni vicini abbiano valori di prevalenza simili e che si influenzino a vicenda. I comuni in rosso rappresentano valori anomali o outlier, in quanto hanno mostrato valori di prevalenza più elevati rispetto a quelli riscontrati nelle aree vicine.

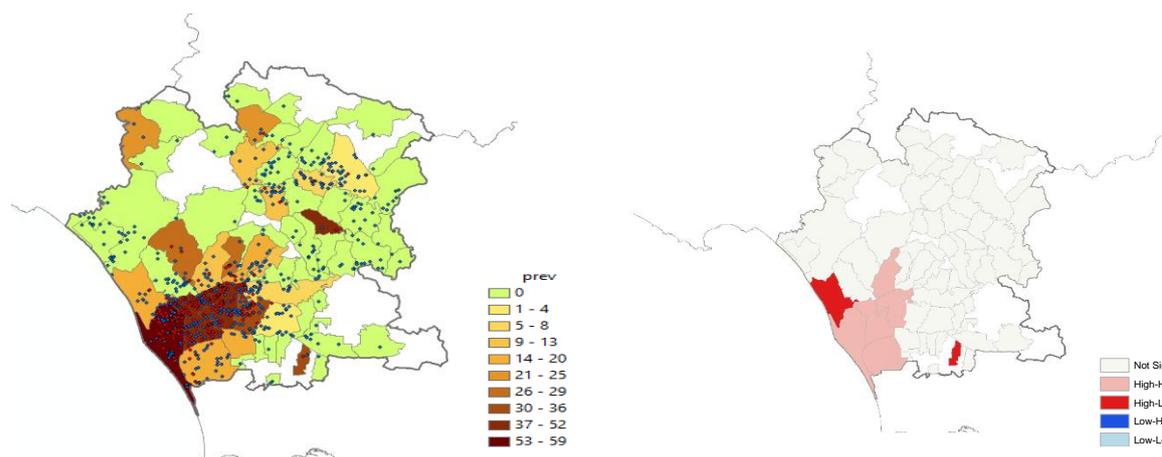


Figura 1. Autocorrelazione spaziale.

Successivamente, è stato costruito un modello univariato per la variabile "positività pre-2015"; gli allevamenti che avevano subito un'epidemia prima del 2015 sono risultati avere un rischio quasi triplo di sviluppare la malattia (Tabella 8).

Tabella 8. OR = Odds Ratio, CI = Intervallo di confidenza.

Caratteristica	O	95% CI	Valore p
Intercettazione	0.007	0.004, 0.013	< 0.05
2016	1.481	0.854, 2.570	< 0.05
2017	1.854	1.081, 3.179	< 0.05
2018	3.200	1.921, 5.333	< 0.05
2019	5.517	3.365, 9.045	< 0.05
2020	7.927	4.842, 12.978	< 0.05
positività pre-2015	3.510	2.165, 5.691	< 0.05

4. Discussione

I dati utilizzati in questo studio sono raccolti su base regolare, con lo scopo principale di monitorare le attività e i risultati del piano di eradicazione. L'utilizzo di dati raccolti ad hoc avrebbe consentito una visione più ampia e specifica, ma si sarebbe rivelato costoso. Inoltre, per ovvie ragioni economiche, uno studio ad hoc non può essere condotto come un censimento dell'intera popolazione animale di una regione; pertanto, la rappresentatività dei dati raccolti è maggiore di quella fornita da uno studio ad hoc (Calistri et al., 2013 [20]). Il sistema di registrazione di tutte le attività di controllo ha lo scopo di monitorare l'avanzamento del piano e il raggiungimento dei suoi obiettivi. Inoltre, la disponibilità di questa grande quantità di dati è essenziale per effettuare adeguate analisi epidemiologiche, fondamentali per una corretta riprogrammazione delle attività in base all'analisi del rischio. Infatti, nella fase finale di un programma di eradicazione, è necessario identificare i possibili fattori di rischio che influenzano la diffusione e il mantenimento dell'infezione nella popolazione animale e ricercare eventuali fonti residue di infezione (Nannini et al., 1992 [23]). Dalle analisi effettuate, si evince che il contagio persiste nelle stesse aree con una recrudescenza negli ultimi anni, ricorrendo ciclicamente negli stessi allevamenti. L'associazione significativa tra la presenza della malattia negli anni precedenti del periodo considerato e l'esito dello studio (presenza della malattia) può senza dubbio essere considerata un'ulteriore prova della persistenza dell'infezione negli stessi allevamenti e denota un'evidente difficoltà di eradicazione in alcune sottopopolazioni animali. Storicamente, gli allevamenti infetti hanno maggiori probabilità di infettarsi nuovamente nel tempo. L'identificazione degli

allevamenti cosiddetti "problematici", cioè quelli in cui l'infezione si ripete da diversi anni, diventa di fondamentale importanza per la loro corretta gestione (Calistri et al., 2013 [20]). Data la ricorrenza della malattia negli stessi allevamenti, è plausibile che non sia mai stata eliminata dall'azienda stessa o dal gruppo di aziende contigue facenti parte della stessa unità epidemiologica. Queste informazioni ci permettono di focalizzare l'attenzione sulle criticità che influenzano il raggiungimento dell'obiettivo prefissato, ovvero quello di ottenere lo stato sanitario di "indenne" dall'infezione, sia a livello territoriale che aziendale. In provincia di Caserta, gli allevamenti vicini spesso non hanno un'efficace separazione delle mandrie, sia fisica che gestionale; ciò è confermato dall'associazione statisticamente significativa tra la densità di allevamenti per chilometro quadrato e il loro stato infettivo; infatti, il rischio di contrarre l'infezione aumenta notevolmente all'aumentare della densità di allevamenti per chilometro quadrato. A questo proposito, il concetto di "biosicurezza" è di fondamentale importanza: introdotto dal nuovo Regolamento UE sulla salute degli animali 429/2016, questo concetto costituisce uno dei principali strumenti per evitare l'introduzione, lo sviluppo e la diffusione di malattie animali trasmissibili all'interno di una popolazione animale e nell'ambiente circostante. Inoltre, l'attuazione delle misure di biosicurezza deve tenere conto sia del contesto locale in cui si trovano gli allevamenti sia della situazione epidemiologica dell'area. Una gestione inadeguata dell'allevamento può favorire la circolazione della malattia nella mandria attraverso il contatto con batteri provenienti da animali giovani, nei quali l'infezione viene rilevata solo dopo mesi (periodo della pubertà). Si tenga presente che un animale infetto può rivelarsi positivo anche dopo 6 mesi. A ciò si aggiunge il fatto che enormi quantità di *Brucella* vengono rilasciate nell'ambiente con i prodotti del parto e degli aborti. L'impossibilità di interrompere sia il parto che la mungitura durante un'epidemia costituisce un grosso problema a cui non c'è soluzione se non una perfetta gestione e strutturazione degli allevamenti secondo corretti criteri di biosicurezza. Abbattere tutte le gravide, anche quelle negative, è impensabile. Con il nostro studio, abbiamo riscontrato che in provincia di Caserta la causa principale della persistenza dell'infezione in alcune aree è attribuibile esclusivamente alla vicinanza di allevamenti bufalini. È probabile che alcuni proprietari di allevamenti possiedano direttamente o indirettamente (mogli/figli) altri allevamenti e, in questi casi, è fondamentale estendere le misure restrittive per mitigare il rischio di diffusione della malattia in caso di focolaio sospetto e/o confermato. Sebbene i movimenti degli animali sembrano aver giocato un ruolo marginale nella diffusione dell'infezione, negli anni successivi al 2017 sembrano aver avuto un impatto maggiore. Ciò è probabilmente attribuibile al mancato rispetto delle scadenze per il ricontrollo degli allevamenti nel 2017. I nostri dati rivelano inoltre che la notifica tempestiva degli aborti all'Autorità competente è di fondamentale importanza per il contenimento del contagio; è necessario evidenziare che spesso il materiale "patologico" viene inviato dai singoli operatori del settore al laboratorio ufficiale per la ricerca di eventuali agenti patogeni, senza una preventiva comunicazione ai servizi veterinari dell'Autorità competente. Ciò compromette l'efficacia delle misure di mitigazione del rischio nella fase di sospetto di infezione in azienda. Il presente studio conferma inoltre che gli allevamenti a cui è stata sospesa la qualifica di indenne da brucellosi hanno maggiori probabilità di sviluppare la malattia. Questo dato dovrebbe indurre l'Autorità competente, non appena si sospetta la presenza dell'infezione nell'allevamento, a mettere in atto misure gestionali volte a mitigare il possibile rischio di diffusione dell'agente patogeno a tutto l'allevamento e a valutare tutti gli elementi in suo possesso per effettuare un corretto e fondato ragionamento epidemiologico volto a confermare o meno l'infezione. Alla luce delle conclusioni raggiunte, è necessario che le Autorità competenti modifichino i propri programmi di controllo, tenendo conto del metodo secondo il quale tutte le aziende, anche se dotate di codici diversi, sono contigue, sono considerate parte di un'unica unità epidemiologica, all'interno della quale tutte le singole aziende devono quindi essere gestite e controllate contemporaneamente ed essere sottoposte a eventuali misure pre-

ventive e/o restrittive. Infine, il coinvolgimento di tutti i soggetti coinvolti, in particolare degli stakeholder, è fondamentale per aumentare la consapevolezza delle proprie responsabilità. Infatti, senza la volontà degli agricoltori di risolvere definitivamente il problema, qualsiasi misura adottata non sarà efficace. La collaborazione e la condivisione sono necessarie per raggiungere l'obiettivo di ridurre progressivamente il problema della brucellosi, salvaguardando così non solo il patrimonio zootecnico casertano ma un intero settore economico.

5. Conclusioni

La brucellosi bufalina nel casertano è ancora un grave problema che interessa l'intera Regione Campania. Nel corso degli anni sono stati stanziati numerosi fondi per l'eradicazione di questa infezione, anche se con scarsi risultati. Il nostro studio si è concentrato sulle criticità e sui fattori di rischio responsabili della persistenza e della recrudescenza della brucellosi bufalina in provincia di Caserta. A differenza di quanto è stato riscontrato negli ovini e nei caprini, dove la malattia sembra essersi diffusa principalmente per lo spostamento degli animali, per quanto riguarda i bufali, la malattia si è diffusa soprattutto per passaggio da un allevamento all'altro a causa della concentrazione degli allevamenti stessi in determinate aree. D'altra parte, questo risultato è perfettamente coerente con le diverse modalità di allevamento delle due specie; gli allevamenti di bufali sono per lo più allevamenti intensivi e concentrati, adiacenti l'uno all'altro, e questo ha portato al contatto diretto tra animali provenienti da allevamenti diversi, anche in assenza di movimenti tracciati nei sistemi informativi. Questa analisi fornisce strumenti che possono aiutare a concentrare le risorse dove necessario, senza sprechi. Il fatto che gli allevamenti che in precedenza avevano le proprie qualifiche sospese presentassero un rischio maggiore di infezione evidenzia la necessità di migliorare la gestione degli allevamenti, soprattutto nel caso delle grandi aziende. Ad oggi, questo aspetto è stato sottovalutato. Il nostro studio fornisce una prova concreta di quanto già accaduto e riportato in letteratura.

Contributi degli autori: tutti gli autori hanno letto e approvato la versione pubblicata del manoscritto.

Finanziamento: questa ricerca non ha ricevuto alcun finanziamento.

Dichiarazione del comitato di revisione istituzionale: non applicabile

Dichiarazione di consenso informato: non applicabile

Dichiarazione di disponibilità dei dati: i dati non sono disponibili a causa della privacy.

Conflitti di interesse: gli autori non dichiarano alcun conflitto di interesse.

Riferimenti

1. Corbel, M.J. Brucellosi: Una panoramica. *Emerg. Infect. Dis.* **1997**, *3*, 213-221.
2. De Massis, F.; Zilli, K.; Di Donato, G.; Nuvoloni, R.; Pelini, S.; Sacchini, L.; D'Alterio, N.; Di Giannatale, E. Distribuzione dei ceppi di *Brucella* di campo isolati dal bestiame, dalle popolazioni selvatiche e dall'uomo in Italia dal 2007 al 2015. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0213689.
3. Di Giannatale, E.; De Massis, F.; Ancora, M.; Zilli, K.; Alessiani, A. Tipizzazione dei ceppi di *Brucella* isolati in Italia tra il 2001 e il 2006. *Vet. Ital.* **2008**, *44*, 383-388.
4. EFSA. Parere scientifico sulla revisione della relazione sintetica dell'Unione europea sulle tendenze e le fonti delle zoonosi, degli agenti zoonotici e dei focolai di origine alimentare nel 2009 e nel 2010, in particolare per i dati relativi a tubercolosi bovina, echinococco, febbre Q, brucellosi e malattie di origine non alimentare. *EFSA J.* **2010**, *10*, 2765.
5. De Massis, F.; Di Girolamo, A.; Petrini, A.; Pizzigallo, E.; Giovannini, A. Correlazione tra brucellosi animale e umana in Italia nel periodo 1997-2002. *Clin. Microbiol. Infect.* **2005**, *11*, 632-636. <https://doi.org/10.1111/J.1469-0691.2005.01204.X>.

6. Kabagambe, E.K.; Elzer, P.H.; Geaghan, J.P.; Opuda-Asibo, J.; Scholl, D.T.; Miller, J.E. Fattori di rischio per la sieropositività alla Brucella negli allevamenti di capre dell'Uganda orientale e occidentale. *Prev. Vet. Med.* **2001**, *52*, 91-108.
7. Laine, C.G.; Scott, H.M.; Arenas-Gamboa, A.M. Brucellosi umana: Una diffusa carenza di informazioni ostacola la comprensione della frequenza globale della malattia. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2022**, *16*, e0010404.
8. De Araújo Teixeira, L.S.; de Pinho, F.A.; Batista, J.F.; das Virgens Santana, M.; Soares, F.F.F.; Lima, A.M.C.; Furtado, L.L.; dos Santos Silva, F.K.; Santos, L.M.N.; Damasceno, T.C.M.; et al. Fattori di rischio e rilevamento di brucella ovis in arieti e pecore naturalmente infetti. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.* **2017**, *28*, 48-52.
9. Moreno, E.; Blasco, J.M.; Moriyón, I. Affrontare gli enigmi della brucellosi umana e animale: Le lezioni dimenticate. *Microorganismi* **2022**, *10*, 942.
10. Nielsen, K.; Duncan, J.R. *Animal Brucellosis*, 1a ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 1990.
11. Pappas, G.; Papadimitriou, P.; Akritidis, N.; Christou, L.; Tsianos, E.V. La nuova mappa globale della brucellosi umana. *Lancet Infect. Dis.* **2006**, *6*, 91-99. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(06\)70382-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(06)70382-6) PMID: 16439329.
12. Refai, M. Incidenza e controllo della brucellosi nella regione del Vicino Oriente. *Vet. Microbiol.* **2002**, *90*, 81-110.
13. Spink, W.W.; Hall, J.W.; Finstad, J.; Mallet, E. Immunizzazione con organismi vitali di Brucella. Risultati di un test di sicurezza nell'uomo. *Boll. World Health Organ.* **1962**, *26*, 409-419.
14. Whatmore, A.M. Attuale comprensione della diversità genetica di Brucella, un genere di patogeni zoonotici in espansione. *Infect. Genet. Evol.* **2009**, *9*, 1168-1184.
15. OMS, Organizzazione Mondiale della Sanità. *Brucellosi nell'uomo e negli animali*; OMS: Ginevra, Svizzera, 2006.
16. WOA, Organizzazione Mondiale della Sanità Animale. Brucellosi (*Brucella abortus*, *B. melitensis* e *B. suis*) (infezione da *B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis*). In *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*; Organizzazione Mondiale della Sanità Animale: Parigi, Francia, 2016.
17. Rossetti, C.A.; Arenas-Gamboa, A.M.; Maurizio, E. Brucellosi caprina: malattia storicamente trascurata con un impatto significativo sulla salute pubblica. *PLoS Negl. Trop. Dis.* **2017**, *11*, e0005692.
18. Regolamento di esecuzione (UE) 2023/1071 della Commissione, del 1° giugno 2023, che modifica alcuni allegati del regolamento di esecuzione (UE) 2021/620 per quanto riguarda l'approvazione o la revoca dello status di indenne da malattia di alcuni Stati membri o di loro zone o compartimenti in relazione a determinate malattie elencate e l'approvazione di programmi di eradicazione per alcune malattie elencate - https://eur-lex.europa.eu/eli/reg_impl/2023/1071/oj/01/09/2023.
19. Ordinanza Ministeriale Maggio 2015 Misure straordinarie per l'eradicazione della brucellosi bovina, bufalina e ovicaprina, della tubercolosi bovina e bufalina e della leucosi bovina enzootica - <https://www.informea.org/en/content/legislation/order-28-may-2015-extraordinary-measures-veterinary-police-matter-tuberculosis> 01/01/2023.
20. Calistri, P.; Iannetti, S.; Atzeni, M.; Di Bella, C.; Schembri, P.; Giovannini, A. Fattori di rischio per la persistenza della brucellosi bovina in Sicilia dal 2008 al 2010. *Prev. Vet. Med.* **2013**, *110*, 329-334.
21. Socorro Ruiz-Palma, M.D.; Avila-Calderón, E.D.; Aguilera-Arreola, M.G.; López-Merino, A.; Ruiz, E.A.; Morales-García, M.D.R.; López-Villegas, E.O.; Gomez-Lunar, Z.; Arellano-Reynoso, B.; Contreras-Rodríguez, A. Analisi proteomica comparativa delle vescicole della membrana esterna di *Brucella suis*, *Brucella ovis*, *Brucella canis* e *Brucella neotomae*. *Arch. Microbiol.* **2021**, *203*, 1611-1626. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02170-w>.
22. McGiven, J. *Immunoselezione e valutazione strutturale degli epitopi opolisaccaridici di Brucella e loro applicazione alla sierodiagnosi della brucellosi bovina*; Imperial College London, Department of Life Sciences: Londra, Regno Unito, 2014.
23. Nannini, D.; Giovannini, A.; Caporale, V. Riflessioni sul controllo e l'eradicazione della brucellosi bovina. *Vet. Ital.* **1992**, *28*, 26-37.
24. Benkirane, A.; Essamkaoui, S.; Idrissi, E.L.; Lucchese, L.; Natale, A. Un'indagine sierologica sulle principali cause infettive di aborto nei piccoli ruminanti in Marocco. *Vet. Ital.* **2015**, *51*, 25-30. <https://doi.org/10.12834/VetIt.389.1814.1>.
25. Radostits, O.M.; Gay, C.C.; Blood, C.D.; Hinchcliff, K.W. *Veterinary Medicine, Textbook of the Disease of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*, 9th ed.; W.B. Saunders Company Ltd: New York,

- NY, USA, 2007; pp. 867-882. Disponibile online: <https://www.amazon.com/Veterinary-Medicine-textbook-diseases-Radostits/dp/0702027774> (consultato il 13 gennaio 2022).
26. Parlamento europeo. *Regolamento UE 429/2016 sulla salute degli animali*; EUR-LEX: Lussemburgo - 2016.
27. Euzeby, J.P. Elenco dei nomi procariotici con valore nella nomenclatura - Genere *Brucella*. 2010. Disponibile online: <http://www.bacterio.net/brucella.html> (consultato l'8 febbraio 2016).
28. Vetinfo. Disponibile online: [https://www.vetinfo.it/j6_rendicontazioniNew/report/ZOB/\(01/03/2022\)](https://www.vetinfo.it/j6_rendicontazioniNew/report/ZOB/(01/03/2022))
29. Ricci, V. *Principali Tecniche di Regressione con R. Lecture Notes*. 2006 - <https://cran.r-project.org/doc/contrib/Ricci-regression-it.pdf> (05/05/2022).
30. Wareth, G.; Melzer, F.; El-Diasty, M.; Schmoock, G.; Elbauomy, E.; Abdel-Hamid, N.; Sayour, A.; Neubauer, H. L'isolamento di *Brucella abortus* da un cane e da un gatto conferma il loro ruolo biologico nella ricomparsa e nella diffusione della brucellosi bovina negli allevamenti da latte. *Transbound. Emerg. Dis.* **2017**, *64*, e27-e30.
31. Dadar, M.; Shahali, Y.; Wareth, G. Correzione a: Diagnosi molecolare della brucellosi acuta e cronica nell'uomo. In *Microbial Technology for the Welfare of Society*; Springer Nature Singapore Pte Ltd.: Singapore, 2019.
32. Elrashedy, A.; Gaafar, M.; Mousa, W.; Nayel, M.; Salama, A.; Zaghawa, A.; Elsify, A.; Dawood, A.S. Risposta immunitaria e recenti progressi nella diagnosi e nel controllo della brucellosi. *Ger. J. Vet. Res.* **2022**, *2*, 10-24.
33. Hull, N.C.; Schumaker, B.A. Confronto della brucellosi tra medicina umana e veterinaria. *Infect. Ecol. Epidemiol.* **2018**, *8*, 1500846.
34. Shirima, G.M.; Fitzpatrick, J.; Kunda, J.S.; Mfinaga, G.S.; Kazwala, R.R.; Kambarage, D.M.; Cleaveland, S.C. Il ruolo dell'allevamento nelle tendenze della brucellosi umana nelle comunità di allevatori in Tanzania. Breve comunicazione. *Tanz. J. Health Res.* **2010**, *12*, 51261.
35. Hamdy, M.E.; Amin, A.S. Rilevamento di specie di *Brucella* nel latte di bovini, ovini, caprini e cammelli infetti mediante PCR. *Vet. J.* **2002**, *163*, 299-305.
36. Zhang, H.; Deng, X.; Cui, B.; Shao, Z.; Zhao, X.; Yang, Q.; Song, S.; Wang, Z.; Wang, Y.; Wang, Y.; et al. Aborto e vari fattori di rischio associati in vacche e pecore da latte di Ili, Cina. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0232568.
37. Brunetti, R.; Ottaiano, M.; Fordellone, M.; Chiodini, P.; Signoriello, S.; Gargano, F.; De Massis, F.; Baldi, L.; De Carlo, E. Fattori di rischio per la diffusione della brucellosi negli ovini e nei caprini nella Regione Campania negli anni 2015-2020. *Microrganismi* **2023**, *11*, 2623.
38. Olsen, S.; Tatum, F. Bovine Brucellosis. Cliniche veterinarie del Nord America. *Food Anim. Pratiche* **2010**, *26*, 15-27.
39. Brucellosi. Disponibile online: <https://www.salute.gov.it/portale/sanitaAnimale/dettaglioContenutiSanitaAnimale.jsp?lingua=italiano&id=263&tab=3> (consultato il 01/03/2022).

Disclaimer/Nota dell'editore: Le dichiarazioni, le opinioni e i dati contenuti in tutte le pubblicazioni sono esclusivamente quelli dei singoli autori e collaboratori e non di MDPI e/o degli editori. MDPI e/o i redattori declinano ogni responsabilità per eventuali danni a persone o cose derivanti da idee, metodi, istruzioni o prodotti a cui si fa riferimento nel contenuto.