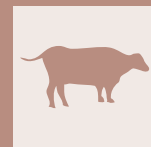


# Prevalenza di *Coxiella burnetii* nel latte di massa in allevamenti di bovine da latte italiani e possibile correlazione con problemi riproduttivi



G. VALLA, D. BIZZARRI, G. FERRARI, M. BUSSACCHINI

Ceva Salute Animale Italia, Via Colleoni 15, 20864 Agrate Brianza

## RIASSUNTO

Uno studio epidemiologico è stato condotto con l'obiettivo di valutare la diffusione di *Coxiella burnetii* in allevamenti di bovine da latte italiani mediante l'identificazione del segmento 687 bp della regione genomica *transposon-like* in campioni di latte di massa e la possibile correlazione tra positività nel latte e un'incidenza di aborti e di metriti/endometriti cliniche rispettivamente superiori al 5% e al 15-17%. Sono stati raccolti campioni di latte di massa da 344 allevamenti italiani in un periodo compreso tra ottobre 2011 e luglio 2013. Sono risultati positivi 138 allevamenti, pari al 40,1%. Per 246 dei 344 allevamenti erano disponibili notizie anamnestiche relative alla presenza di un'incidenza rilevante di aborti e metriti/endometriti cliniche. La differenza tra allevamenti positivi e negativi, per quanto attiene l'incidenza di aborti > al 5%, non è risultata statisticamente significativa ( $p:0.6601$  - Odds ratio: 0,89). Al contrario, la differenza tra allevamenti positivi e negativi, per quanto attiene l'incidenza metriti/endometriti cliniche > al 15-17%, è risultata essere statisticamente significativa ( $p:0.0005$  - Odds ratio: 2,49), con una probabilità 2,5 volte maggiore per gli allevamenti positivi di mostrare un'incidenza elevata di metriti e/o endometriti cliniche. I dati raccolti nel corso dello studio confermano l'ampia diffusione dell'infezione da *Coxiella burnetii* negli allevamenti da latte italiani e indicano che la positività nel latte di massa, rilevata mediante PCR, può essere considerata come un potenziale fattore di rischio per una maggiore incidenza di metriti e/o endometriti cliniche.

## PAROLE CHIAVE

*Coxiella burnetii*, test PCR sul latte di massa, aborto, metriti, endometriti.

## INTRODUZIONE

*Coxiella burnetii*, agente della Febbre Q, è causa di una patologia zoonosica a diffusione mondiale<sup>1</sup>, rappresenta un patogeno estremamente efficiente essendo nell'uomo sufficienti da 1 a 10 microrganismi per indurre infezione. È stato classificato come "agente biologico critico di categoria B" dal "Centre for Disease Control and Prevention" di Atlanta, U.S.A., ed è stato inserito nella lista degli agenti batterici utilizzabili come potenziale arma di bioterrorismo<sup>1</sup>. *C. burnetii* è molto diffusa in natura ed è in grado di contagiare diverse specie animali, inclusi i mammiferi, gli uccelli, i rettili e gli artropodi. Nell'uomo l'infezione è spesso asintomatica, ma può essere causa di malattia acuta o cronica, con sintomi simil-influenzali, polmonite, epatite ed endocardite e può essere associata ad aborto e nati-mortalità<sup>1</sup>. *C. burnetii* è un piccolo coccobacillo intracellulare, Gram negativo. Storicamente appartenente all'ordine *Rickettsiales*, è stato riclassificato nell'ordine delle *Legionellales*, famiglia *Coxiellaceae*, genere *Coxiella*. La famiglia comprende inoltre i generi *Diplorickettsiella* e *Aquicella*. Le cellule target dell'infezione da *C. burnetii* sono i macrofagi tissutali (localizzati nei linfonodi, milza, fegato, polmoni e apparato riproduttore) e i monociti circolanti. La più importante via d'infezione è l'inalazione di polvere da materiale contaminato, mentre la via orale sembra essere meno importante ai fini

epidemiologici. *C. burnetii*, nelle cellule ospiti, si moltiplica per fissione binaria longitudinale e presenta un ciclo di sviluppo (Figura 1) che ha alcune similarità con quello di *Chlamydia*. Quando il batterio è coltivato in terreno di coltura o in embrione di pollo, la membrana più esterna può andare incontro, dopo un certo numero di passaggi, a modificazioni, definite variazioni di fase, in modo simile a quanto accade nella transizione da fase liscia a rugosa dei lipopolisaccaridi (LPS) delle *Enterobacteriaceae*. I batteri del gen. *Coxiella* che esprimono un LPS completo, definiti come batteri in fase I, sono le forme virulente e sono normalmente isolati da animali infetti. Al contrario, la fase II, che

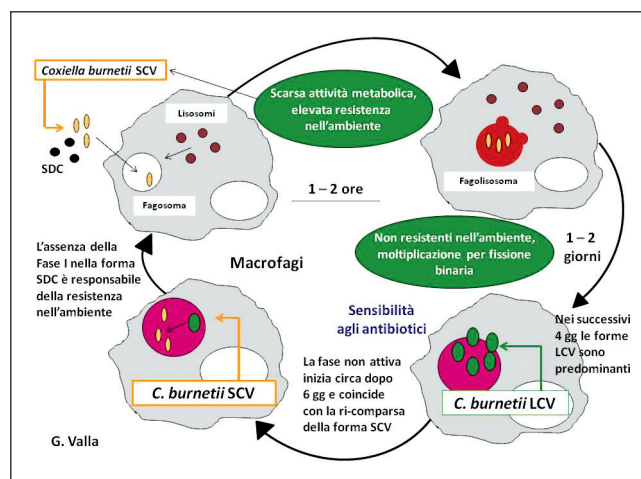


Figura 1 - Ciclo di sviluppo intracellulare di *Coxiella burnetii* in cellule eucariote.



Figura 2 - Segni clinici d'infezione da *Coxiella burnetii*.

caratterizza la forma non virulenta, spesso ottenuta durante la coltivazione, esprime una troncatura dell'LPS con assenza della catena polisaccaride O caratteristica della "fase I". Questa differenza di fase si riflette sull'espressione antigenica e innesca anche una diversa risposta immunitaria. Gli antigeni di *C. burnetii* in fase I, a differenza degli antigeni in fase II, inducono un'efficiente risposta anticorpale, un'intensa risposta cellulare (mediata dalle citochine modulate dalla stimolazione dei linfociti *helper*) e la sintesi di gamma-interferon ( $\gamma$ -IFN), permettendo la neutralizzazione del batterio anche nella sua localizzazione intracellulare. La presenza di *C. burnetii* in fase I va quindi tenuta in considerazione nella preparazione dei vaccini<sup>2</sup>. Nel bovino, il segno clinico più evidente, anche se non il più frequente, è l'aborto. In caso di aborto il feto si presenta macroscopicamente normale e, solo in alcuni casi, può presentare segni di broncopolmonite. La placenta può mostrare lesioni fibrinose intercotiledonari, con presenza di essudato, comunque non patognomoniche. L'infertilità, con allungamento del periodo parto-concepimento<sup>3</sup>, metriti<sup>4</sup>, endometriti tardive post inseminazione artificiale, presenza di bovine "repeat breeders", ritenzione degli invogli fetali<sup>3</sup> associata o meno a parti anticipati, sono segni, molto spesso sottostimati, che possono essere correlati all'infezione da *C. burnetii* (Figura 2).

*C. burnetii* è eliminata principalmente al momento del parto attraverso la placenta e i fluidi fetali, ma anche attraverso il muco vaginale, il latte, le feci, le urine e il materiale seminale. In particolare, è stato evidenziato che, in una stalla infetta, più del 45% delle bovine elimina il batterio per una delle vie considerate (latte, muco vaginale e feci). Il latte è risultato la via di escrezione prevalente (24,4%) anche se a livello individuale essa è spesso intermittente. Tuttavia, in considerazione dell'elevata percentuale di animali eliminatori, la ricerca nel latte di massa di *C. burnetii*, eseguita mediante *Polymerase Chain Reaction* (PCR), è ampiamente utilizzata ai fini della valutazione epidemiologica dell'infezione<sup>5</sup>. Come accennato in precedenza, l'infezione da *C. burnetii* è stata correlata alla presenza di metriti, endometriti<sup>3,4</sup> e aborti<sup>6</sup>. Scopo del presente studio è stato quello di valutare

la prevalenza dell'infezione da *C. burnetii* in allevamenti da latte italiani, mediante PCR eseguita sul latte di massa, e la possibile correlazione tra la positività di allevamento e la presenza di un numero rilevante di aborti e/o di metriti-endometriti cliniche.

## MATERIALI E METODI

### Popolazione animale inclusa nello studio e disegno dello studio

Lo studio è consistito in due parti distinte. Nella prima parte (Studio 1), nell'ambito dell'attività di servizio diagnostico di Ceva Salute Animale Italia con la collaborazione di vari Medici Veterinari, sono stati raccolti campioni di latte di massa da 344 allevamenti da latte italiani in un periodo compreso tra ottobre 2011 e luglio 2013. Nella seconda parte dello studio (Studio 2) per 246 allevamenti si è proceduto alla raccolta di dati anamnestici: in particolare è stato chiesto al Medico Veterinario di riferimento dell'allevamento, di raccogliere dati sulla consistenza dei capi in lattazione e sull'incidenza di aborti e di metriti/endometriti nell'anno precedente il test per *C. burnetii*. Nella valutazione del tasso di aborti sono state prese in considerazione le perdite fetali, con morte fetale ed espulsione del feto, che avvenivano tra i 45 giorni e la fine della gestazione distinguendo perdite fetali precoci (tra i 45 giorni ed i 90 giorni) e tardive ( $\geq$  ai 90 giorni di gravidanza). Considerando che un tasso di aborti ( $>$  90 giorni di gestazione) fino al 4-5% può essere considerato nella norma<sup>7</sup>, nel corso dello studio, per la valutazione dell'incidenza degli aborti, è stata presa come riferimento una percentuale di aborti, che si verificano dopo il 90° giorno di gestazione, superiore o inferiore al 5%. Per metrite si intende la presenza di infiammazione sia dell'endometrio che del miometrio (strati superficiali e profondi della mucosa uterina), rilevata entro i primi 15-21 giorni post parto e caratterizzata dall'aumento di volume dell'utero associato ad uno scolo, che può essere acquoso, con una colorazione rosso-brunstra, o mucopurulento, spesso con un odore fetido. Nel corso dello studio, ai fini del calcolo dell'incidenza delle metriti sono state prese in considerazione le metriti cliniche di 2° e 3° grado, in accordo con la definizione fornita da Sheldon e collaboratori<sup>8</sup>: presenza di un aumento del volume uterino con scolo purulento associato a temperatura superiore a 39,5°C, nei casi più lievi, fino ad includere animali con segni clinici a carattere sistemico (diminuzione della produzione latte, abbattimento del sensorio e tossiemia). L'endometrite clinica è stata valutata attraverso la presenza di scolo uterino purulento ( $\geq$ 50% di pus) rilevabile in vagina oltre il 21° giorno *post partum*, o di scolo muco-purulento (approssimativamente 50% di pus e 50% di muco) in vagina rilevato dopo almeno 26 giorni dal parto<sup>8</sup>. Quindi, nel corso dello studio, gli allevamenti con una percentuale di aborti ed un tasso cumulativo di metriti (escluse le metriti di 1° grado) e di endometriti cliniche rispettivamente superiore al 5% e al 15-17% sono stati considerati come allevamenti "problema" per i due parametri considerati.

### Test di Polymerase Chain Reaction (PCR)

I campioni di latte sono stati refrigerati (+ 2 / + 8 °C) per il trasporto e successivamente conservati in congelatore a -24

± 6°C fino al momento dell'esecuzione del test. I campioni raccolti in Piemonte, Lombardia ed Emilia-Romagna sono stati inviati ad una delle seguenti sezioni dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna: Pavia, Parma, Piacenza, Mantova, Brescia. Per i campioni raccolti nel centro-sud, il test è stato eseguito presso la sezione di Perugia dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, mentre i campioni raccolti nel Triveneto sono stati conferiti alle sezioni di Vicenza e Padova dell'Istituto Zooprofilattico delle Venezie. La metodica di estrazione del DNA e di esecuzione della PCR, analoga per tutti i laboratori ed indirizzata verso l'identificazione del segmento 687 bp della regione genomica *transpon-like* di *C. burnetii*, è stata quella descritta da Natale e collaboratori<sup>9</sup> e da Vicari e collaboratori<sup>10</sup>.

### Valutazione dei dati

La prevalenza a livello di allevamento, basata sui risultati ottenuti dal test PCR sul latte di massa, è stata calcolata come il numero di allevamenti positivi diviso per il totale degli allevamenti sottoposti a test. È stato inoltre comparato il numero di allevamenti positivi e negativi che riportavano, nell'indagine anamnestica, una percentuale superiore al 5% di aborti e superiore al 15-17% di metriti (escluse le metriti di 1° grado) ed endometriti cliniche. La valutazione delle percentuali osservate nei vari gruppi e sottogruppi è stata sottoposta a Test CHI quadrato.

## RISULTATI

La ripartizione territoriale degli allevamenti inclusi nelle due parti dello studio (Studio 1 e Studio 2) è riportata nella Tabella 1. In totale, la consistenza di animali in lattazione presenti negli allevamenti al momento della raccolta del cam-

pione di latte di massa e inclusi in questa parte dello studio, era di circa 32.000 vacche, con una media di stalla pari a circa 133 capi in lattazione per allevamento. Dei 344 campioni di latte di massa, raccolti nel corso dello Studio 1, sono risultati positivi 138 campioni, pari al 40,1% (Tabella 2). La percentuale di positività variava da un minimo del 33% rilevata in Piemonte ad un massimo del 48,1% del Triveneto. Dei 246 allevamenti inclusi nella seconda parte dello studio (Studio 2), per i quali erano disponibili notizie anamnestiche relative alla presenza di un'incidenza rilevante di aborti e/o di metriti/endometriti cliniche, sono risultati positivi 106 allevamenti, pari al 43,1%. La media capi/allevamento degli allevamenti positivi era di 156 capi in lattazione, mentre quella degli allevamenti negativi era di 116 capi in lattazione. Trentadue allevamenti (13%) non segnalavano problemi né di aborti né di metriti/endometriti cliniche; di questi, 22 sono risultati negativi (68,8%) e 10 positivi (31,2%). Per quanto riguarda il parametro aborti, 120 allevamenti dei 246 inclusi nello studio (49%) hanno riportato un'incidenza superiore al 5% di aborti. Di questi 50 erano positivi per *C. burnetii* mentre i rimanenti 70 allevamenti erano negativi (Tabella 3 e Figura 3). La differenza tra allevamenti positivi e negativi per *C. burnetii* in PCR sul latte di massa, per quanto attiene l'incidenza di aborti > al 5%, non era statisticamente significativa ( $p:0.6601$  - Odds ratio: 0,89). Per quanto riguarda il parametro metriti/endometriti cliniche, 129 allevamenti dei 246 inclusi nello studio (52%) hanno riportato un'incidenza superiore al 15-17% di metriti/endometriti cliniche. Di questi 69 erano positivi per *C. burnetii* (pari al 65% degli allevamenti "problema" per metrite/endometrite clinica), mentre 60 allevamenti erano negativi (pari al 43% degli allevamenti "problema" per metrite/endometrite clinica) (Tabella 4 e Figura 4). La differenza tra allevamenti positivi e negativi per *C. burnetii* in PCR sul latte di massa, per quanto attiene l'incidenza metriti/endometriti cliniche > al 15-17%, è statisti-

**Tabella 1** - N° allevamenti inclusi negli Studi 1 e 2.

Area geografica	Studio 1		Studio 2				
	Allevamenti		Allevamenti		Capi in lattazione		
	n°	%	n°	%	n°	%	n° medio/stalla
Piemonte	112	32,6	93	37,9	11.340	34,7	122
Lombardia	56	16,2	37	15,0	8.409	25,6	227
Emilia Romagna	57	16,6	21	8,5	5.490	16,7	261
Triveneto	79	23,0	75	30,5	6.718	20,5	90
Centro-sud	40	11,6	20	8,1	836	2,5	42
<b>Totale</b>	<b>344</b>	<b>100</b>	<b>246</b>	<b>100</b>	<b>32.793</b>	<b>100</b>	<b>133</b>

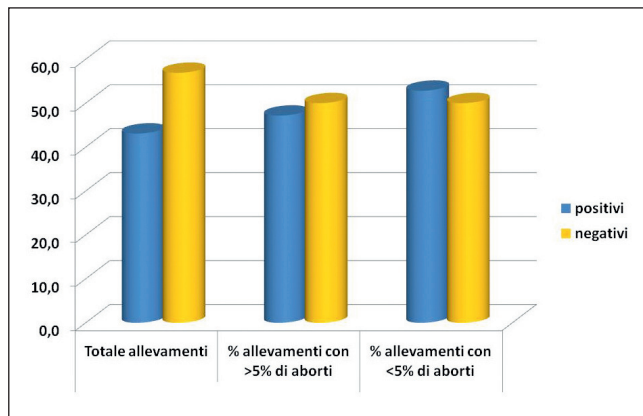
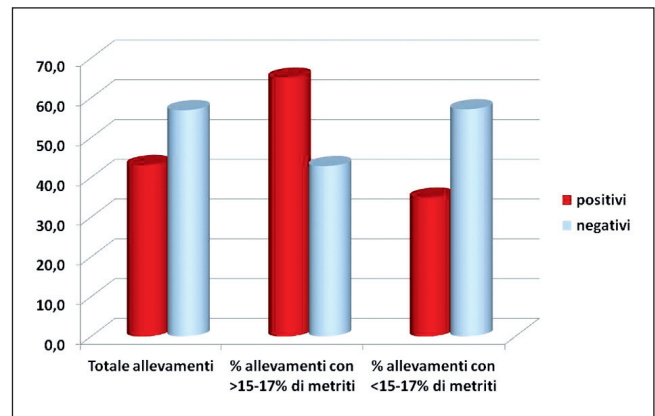
**Tabella 2** - Allevamenti testati per *Coxiella burnetii* nel latte di massa in PCR.

Area geografica	Totale	N° positivi	% positivi	N° negativi	% negativi
Piemonte	112	37	33,0	75	67,0
Lombardia	56	23	41,1	33	58,9
Emilia Romagna	57	23	40,4	34	59,6
Triveneto	79	38	48,1	41	51,9
Centro-sud	40	17	42,5	23	57,5
<b>Totale</b>	<b>344</b>	<b>138</b>	<b>40,1</b>	<b>206</b>	<b>59,9</b>

**Tabella 3** - Ricerca per *Coxiella burnetii* nel latte di massa in PCR in allevamenti con incidenza % di aborti > o < al 5% (Studio 2).

Risultato	Numero di allevamenti	N° capi in lattazione		N° (%) di allevamenti	
		totali	per stalla	con % di aborti > 5%	con % di aborti < 5%
Positivi	106	16.530	156	50 (47%)	56 (53%)
Negativi	140	16.263	116	70 (50%)	70 (50%)
<b>Totale</b>	<b>246</b>	<b>32.793</b>	<b>133</b>	<b>120 (49%)</b>	<b>126 (51%)</b>

P: 0.6601 - Odds ratio: 0.89

**Figura 3** - Percentuale di allevamenti con incidenza di aborti > o < al 5% (Studio 2).**Figura 4** - Percentuale di allevamenti con una % incidenza di metriti/endometriti > o < al 15-17% (Studio 2).**Tabella 4** - Ricerca per *Coxiella burnetii* nel latte di massa in PCR in allevamenti con incidenza % di metriti/endometriti > o < al 15-17% (Studio 2).

Risultato	Numero di allevamenti	N° capi in lattazione		N° (%) di allevamenti	
		totali	per stalla	con % di metriti/endometriti > 15-17%	con % di metriti/endometriti < 15-17%
Positivi	106	16.530	156	69 (65%)	37 (35%)
Negativi	140	16.263	116	60 (43%)	80 (57%)
<b>Totale</b>	<b>246</b>	<b>32.793</b>	<b>133</b>	<b>129 (52%)</b>	<b>117 (48%)</b>

P: 0.0005 - Odds ratio: 2.49

camente significativa ( $p:0.0005$  - Odds ratio: 2,49), con una probabilità di 2,5 volte maggiore per allevamenti positivi per *C. burnetii* di mostrare un'incidenza elevata di metriti e/o endometriti cliniche.

## DISCUSSIONE

Nel corso dello studio da noi condotto la percentuale di allevamenti risultati positivi alla presenza di *C. burnetii* nel latte di massa rilevata mediante PCR si attesta su valori intorno al 40%, che sono in linea con i dati ottenuti nel corso degli studi condotti in precedenza sia in Italia che in altri Paesi Europei e dimostra che l'infezione presenta caratteri di endemicità. Infatti, Czaplich e collaboratori<sup>11</sup> hanno rilevato nel latte di massa prelevato in 206 allevamenti del sud del Belgio il 57,8% di positività agli anticorpi (metodo ELISA) ed il 30% di positività in PCR, segno di escrezione attiva di *C. burnetii*. Nel 2007, Muskens e collaboratori<sup>11</sup> hanno rilevato in 341 allevamenti da latte olandesi una prevalenza anticorpale del

78,6% mediante ELISA, mentre il batterio è stato rilevato con real-time PCR nel 56,6% degli allevamenti: 254 delle 2925 bovine testate con PCR individuali (8,7%) sono risultate eliminatrici attive del patogeno. Altre ricerche, condotte rispettivamente in Svizzera e nel Regno Unito, riportano dati di prevalenza nel latte di massa del 29,6% e del 69,7%. In Italia la prevalenza osservata nella regione Veneto riporta una percentuale di allevamenti positivi per *C. burnetii* nel latte di massa in PCR pari al 44,4%<sup>9</sup>. Di recente Vicari e collaboratori<sup>10</sup> hanno pubblicato un'estesa ricerca epidemiologica eseguita su 780 allevamenti di bovine da latte nell'Italia del nord-ovest, nel corso della quale sono stati raccolti campioni di latte di massa per la ricerca di *C. burnetii*. Il 43,2% dei campioni ( $n=337$ ) testati sono risultati positivi al primo controllo. Nelle stalle lombarde incluse nello studio ( $n=287$  allevamenti), si è proceduto ad un secondo controllo in PCR eseguito ad almeno 3-4 mesi di distanza, che ha evidenziato un aumento della prevalenza dal 40,1% (115 positivi su 287) al 60,3% (173 su 287). Questa differenza può essere correlata al fatto che nel corso del primo controllo non sono sotto-

poste ad esame le bovine in asciutta e che le bovine in lattazione variano nel tempo (uscita delle bovine a fine carriera e ingresso delle primipare). Inoltre, in un allevamento infetto possono coesistere bovini che hanno eliminato il batterio in modo sporadico, più o meno prolungato. Occorre quindi tenere presente che il dato rilevato nel corso dello studio da noi eseguito, potrebbe essere sottostimato in considerazione del fatto che è stato eseguito un solo controllo sul latte di massa. La prevalenza osservata presenta differenze territoriali, con il valore più basso che è stato riscontrato in Piemonte. Questo fatto potrebbe essere correlato alla dimensione degli allevamenti piemontesi di bovine da latte sottoposti a test che, mediamente hanno un numero medio di bovine in lattazione inferiore a quello di Lombardia ed Emilia Romagna. Ciò può influenzare il tasso di prevalenza. Infatti, se consideriamo la dimensione media degli allevamenti positivi e negativi per *C. burnetii* per i quali erano disponibili dati anamnestici (n=246 allevamenti), appare evidente che gli allevamenti positivi avevano un numero medio di capi maggiore (156 capi totali negli allevamenti positivi rispetto ai 116 capi totali degli allevamenti negativi). Gli allevamenti con anamnesi negativa, sia per aborti sia per metriti/endometriti, hanno mostrato una percentuale di positività al latte di massa in PCR decisamente inferiore al dato globale (31,2% rispetto al 43,1% dei 246 allevamenti inclusi nello studio), suggerendo una possibile correlazione positiva tra *C. burnetii* e problemi riproduttivi. Analizzando nel dettaglio i dati relativi ai parametri ottenuti nel corso dello studio (aborti e metriti/endometriti cliniche) appare evidente che il dato aborto non presenta una correlazione statisticamente significativa. Ciò non significa che *C. burnetii* non sia in grado di indurre aborto nel bovino, ma piuttosto che non debba essere considerato uno degli agenti abortigeni più frequenti nella bovina da latte. Questo dato è in linea con i risultati ottenuti nel corso del "piano aborti" della Regione Veneto<sup>13</sup>. Nel corso di questo studio sono stati analizzati 1.066 feti bovini: nel 40,5% dei feti analizzati è stato identificato almeno un patogeno. *C. burnetii* è stata identificata nel 3,0% del totale dei feti, mentre *Neospora caninum* è risultato il patogeno più frequente (20,2% dei feti analizzati). Inoltre, i dati ottenuti da López-Gatius e collaboratori<sup>3</sup> indicano che l'infezione da *C. burnetii* non influenza negativamente il tasso di aborti dopo i 90 giorni di gestazione. Al contrario, per quanto riguarda gli allevamenti che riportano un'incidenza superiore al 15-17% di metriti/endometriti cliniche, abbiamo rilevato una differenza statisticamente significativa tra gli allevamenti positivi per *C. burnetii* rispetto a quelli con negatività al latte di massa, a conferma di una possibile correlazione tra infezione e metriti. A questo proposito una maggiore incidenza di metriti negli allevamenti infetti potrebbe essere ricondotta alla dimostrata correlazione, rilevata da López-Gatius e collaboratori<sup>3</sup> tra infezione da *C. burnetii* e ritenzione placentare. In questo studio gli Autori riportano che negli allevamenti positivi per *C. burnetii* si ha una probabilità quasi doppia di andare incontro a ritenzione placentare, che è nota per essere uno dei principali fattori di rischio per la comparsa di metrite nella bovina da latte. Dal punto di vista patogenetico il tropismo di *C. burnetii* per monociti e macrofagi può indurre una riduzione della funzionalità della risposta cellulare a livello uterino nell'immediato post parto, risposta immunitaria fondamentale per il ripristino delle normali condizioni uterine e per un'ottimale fertilità<sup>14,15</sup>.

## CONCLUSIONI

I dati raccolti nel corso dello studio confermano l'ampia diffusione dell'infezione da *Coxiella burnetii* negli allevamenti da latte italiani e indicano che la positività nel latte di massa, rilevata mediante PCR, può essere considerata come un potenziale fattore di rischio per una maggiore incidenza di metriti e/o endometriti cliniche.

## RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano i Colleghi Veterinari che hanno fornito i campioni di latte di massa e le notizie anamnestiche e le Sezioni degli Istituti Zooprofilattici coinvolti nell'esecuzione dei test di laboratorio.

### ■ Prevalence of *Coxiella burnetii* in bulk milk in herds of dairy cows and possible correlation with Italian reproductive problems

#### SUMMARY

**Introduction** - Q fever is a zoonosis caused by an obligate intracellular bacterium, *Coxiella burnetii*, and is endemic throughout the world. Abortion, stillbirth and non-viable neonates are the main clinical signs in sheep and goats, while placenta retention, metritis, infertility and, rarely, late abortion, are the main signs in cattle. Many epidemiological data are available in Europe. In Italy, recently a wide study about the occurrence of *C. burnetii* in bulk tank milk was published, but few data are available about the possible correlation between the infection and the incidence of metritis and abortion.

**Aim** - To assess the prevalence of *C. burnetii* infection in Italian dairy herds by identification of segment of 687 bp genomic segment of the *transposon-like* region, in samples of bulk tank milk and the possible correlation of positivity with an incidence of abortion greater than 5% and of metritis/clinical endometritis greater than 15-17%.

**Materials and methods** - In the first part of the study, bulk tank milk samples from 344 Italian dairy herds between October 2011 and July 2013 were collected. In the second part of the study, from 246 of the 344 farms, data about the incidence of metritis/clinical endometritis and of abortion were recorded.

**Results** - 138 of 344 farms (40.1%) were positive. Out of the 246 farms included in the second part of the study, for which anamnestic information are available concerning the presence of a significant incidence of abortion and metritis / clinical endometritis, 106 farms (43.1%) were positive. The difference between positive and negative herds for *C. burnetii* using PCR on bulk tank milk, was not statistically significant (p: 0.6601 - Odds ratio: 0.89) for as regards the incidence of abortions. The difference between positive and negative herds, was statistically significant (p: 0.0005 - Odds ratio: 2.49) for as regards the incidence of metritis / clinical endometritis, with a probability of about 2.5 times greater for positive herds to show a high incidence of the investigated clinical signs.

**Discussion and conclusions** - The data collected during the

study confirm the wide spread of *C. burnetii* infection into the Italian dairy herds and indicate the positivity in bulk tank milk, detected by PCR, as a potential risk factor for a higher incidence of metritis and / or clinical endometritis.

## KEY WORDS

*Coxiella burnetii*, bulk milk PCR test, abortion, metritis, endometritis.

---

## Bibliografia

1. Arricau-Bouvery N., Rodolakis A. (2005) Is Q fever an emerging or re-emerging zoonosis? *Vet Res* 36, 327-349.
2. Arricau-Bouvery N., Souriau A., Bodier C., Rodolakis A. (2004) Only phase I Q fever vaccine protects pregnant goats against challenge with *Coxiella burnetii*. *International Society for Animal Hygiène - Saint-Malo*, 131-132.
3. López-Gatius F., Almeria S., Garcia-Isperto I. (2012) Serological screening for *Coxiella burnetii* infection and related reproductive performance in high producing dairy cows. *Research in Veterinary Science* Aug. 93 (1) 67-73.
4. Tainturier D. (1987) Métrites en série chez la vache provoquées par la fièvre. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 163, 195-198.
5. Guatteo R., Beaudeau F., Joly A., Seegers H. (2007) Assessing the within-herd prevalence of *Coxiella burnetii* milk-shedder cows using a real time PCR applied to bulk tank milk. *Zoonoses and public Health*, 54, 5, 191-194.
6. Cabassi C.S., Taddei S., Donofrio G., Ghidini F., Piancastelli C., Flammini C.F., Cavirani S. (2006) Association between *Coxiella burnetii* seropositivity and abortion in dairy cattle of Northern Italy. *New Microbiologica*, 29, 211-214.
7. Anderson ML. (2007) Infectious causes of bovine abortion during mid - to late gestation. *Theriogenology*, 68, 474-486.
8. Sheldon I.M., Lewis G.S., Gilbert R.O. (2006) Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65, 1516-1530.
9. Natale A., Barberio A., Ceglie L. (2011) Recenti acquisizioni sulla Febbre Q. *Rivista di Zootecnia e Veterinaria*, 44, 1, 31-44.
10. Vicari N., Faccini S., Ricchi M., Garbarino C., Decastelli L., Bodini M., Rosignoli C., Dalmaso A., Bronzo V., Fabbi M. (2013) Occurrence of *Coxiella burnetii* in bulk tank milk from northwestern Italy. *Veterinary Record*, doi: 10.1136/vr.101423.
11. Czaplicki G., Houtain J.Y., Mullender C., Porter S.R., Humblet M.F., Manteca C., Saegerman C. (2012) Apparent prevalence of antibodies to *Coxiella burnetii* (Q fever) in bulk tank milk from dairy herds in southern Belgium. *Veterinary Journal*, 192, 3, 529-531.
12. Muskens J., van Engelen E., van Maanen C., Bartels C., Lam T.J.G.M. (2011) Prevalence of *Coxiella burnetii* in Dutch dairy herds based on testing bulk tank milk and individual samples by PCR and ELISA. *Veterinary Record*, 168, 79, doi: 10.1136/vr.c6106.
13. Barberio A. (2009) Approccio diagnostico agli aborti bovini. Corso di formazione IZS Venezie. Download 7.8.2013, Trento, 18 dicembre 2009.
14. Sheldon I.M., Cronin J., Goetze L., Donofrio G., Schuberth H.J. (2009) Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biol. Reproduction*, 81, 1025-1032.
15. LeBlanc J.L., Osawa T., Dubuc J. (2011) Reproductive tract defense and disease in post partum dairy cows. *Theriogenology*, 76, 1610-1618.