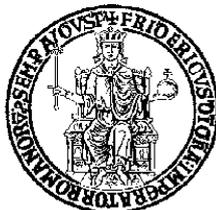


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II



**DIPARTIMENTO DI MEDICINA VETERINARIA E
PRODUZIONI ANIMALI**

DOTTORATO IN SCIENZE CLINICHE E FARMACO-TOSSICOLOGICHE VETERINARIE

Coordinatore Prof. Paolo Ciaramella

XXVIII CICLO

**VALIDAZIONE DI UN NUOVO DISPOSITIVO
ELETTRONICO AUTOMATICO (RUMIWATCH®) PER
LA VALUTAZIONE CLINICA DEL BENESSERE NEL
BUFALO MEDITERRANEO (BUBALUS BUBALIS)**

Relatore

Chia. ma Prof.ssa
Natascia Cocchia

Dottorando

Dott. Luigi D'Andrea

Triennio 2013 – 2016

Indice

. LISTA DELLE ABBREVIAZIONI	2
. ABSTRACT (italiano)	3
. ABSTRACT (inglese)	4
. INTRODUZIONE	5
. PARTE GENERALE	16
. VALUTAZIONE DEL BENESSERE	17
. TECNICHE DI MONITORAGGIO DEL BENESSERE	42
. IL NUOVO DISPOSITIVO RUMIWATCH®	60
. PARTE SPERIMENTALE	71
. MATERIALI E METODI	72
. RISULTATI	85
. DISCUSSIONI	97
. CONCLUSIONI	113
. BIBLIOGRAFIA	116
. RINGRAZIAMENTI	128

Lista delle abbreviazioni

BCS: body condition score, **DS:** deviazione standard, **ERM:** errore relativo medio, **GFO:** grandi funzioni organiche, **n:** numero, **OMAB:** osservatore mobile di attività del bovino, **P:** probabilità, **p:** proporzione, **RFID:** radio frequency identification, **RTLS:** sistema real time location **RW:** RumiWatch®, **RWc:** RumiWatch® cavezza, **RWp:** RumiWatch® podometro, **r_s:** correlazione di *Spearman*, **SMA:** sistema di mungitura automatizzato, **VR:** videoregistrazione.

ABSTRACT

L'obiettivo del presente studio è stato quello di validare per la prima volta 15 parametri di un nuovo dispositivo di rilevamento comportamentale denominato Rumiwatch® (RW; ITIN+HOCH, Liestal, Switzerland) nel bufalo Mediterraneo, al fine di valutare la sua accuratezza nel definire correttamente alcune delle grandi funzioni organiche (GFO) svolte quotidianamente da questi ruminanti.

Il presente studio è stato condotto su 15 bufale primipare, sane, di età compresa tra i 28 ed i 32 mesi, allevate in un'azienda della Provincia di Caserta (Campania). I soggetti arruolati erano custoditi in un *paddock* di ~ 225 m², condividendo lo spazio con altri 25 soggetti ed avendo libero accesso ad acqua e cibo. La validazione dei dispositivi RW (podometro e cavezza) è stata valutata installando il dispositivo in 3 gruppi di 5 animali ciascuno. Ogni gruppo è stato monitorato per 5 giorni (2 giorni - *tempo di adattamento*, 3 giorni - *fase di acquisizione*). Il sistema RW era composto da 2 differenti dispositivi applicati sull'animale in grado di rilevare le seguenti attività: “*stare a terra*”, “*evento camminata*”, “*stare in piedi*”, “*alzarsi*”, “*stendersi*”, “*numero di passi*”, “*tempo a terra*”, “*tempo di camminata*”, “*tempo fermo in piedi*”, “*tempo in piedi*” per quanto riguarda il Rumiwatch® podometro (RWp – *Esperimento 1*); mentre “*attività di ruminazione*”, “*n° boli*”, “*n° masticazioni totale durante la ruminazione*”, “*n° masticazioni per bolo*”, “*attività di prensione dell'alimento*” per il Rumiwatch® cavezza (RWc – *Esperimento 2*). La veridicità delle informazioni generate del dispositivo è stata verificata e validata avvalendosi di un sistema di videoregistrazione H/24 (VR) delle attività svolte dagli animali durante tutto il periodo di indagine (*gold standard*). La concordanza dei dati ottenuti da VR e RW è stata verificata mediante calcolo delle proporzioni (p; per le variabili dicotomiche), misura dell'errore relativo medio (ERM; per le variabili continue) e correlazione di Spearman (r_s).

Esperimento 1: il numero totale di eventi “*alzarsi*” e “*stendersi*” osservati mediante VR è stato correttamente rilevato dal RWp nel 98.2% e 98.3% dei casi, rispettivamente. Tutti gli eventi “*stare a terra*” sono stati correttamente identificati dal dispositivo (p=1.000). Il 99.5% degli eventi “*stare in piedi*” è stato correttamente identificato. Il valore del parametro “*tempo a terra*” dato dal RWp era molto vicino a quello osservato dalle VR (ERM=0.19%, r_s=1; P<0.0001), mentre il “*tempo in piedi*” totale stimato da RWp era estremamente vicino a quello osservato mediante VR (ERM=0.08%, r_s=1; P<0.0001), a differenza del “*tempo fermo in piedi*” totale che ha mostrato valori lievemente diversi (ERM=2.29%, r_s=0.814; P<0.0001). Il 99.5% degli “*eventi camminata*” è stato definito correttamente, mentre i parametri “*tempo di camminata*” e “*numero di passi*” mostravano un ERM alto (21.3%; r_s=0.814; P<0.0001) e moderato (9.64%; r_s=0.957; P<0.0001), rispettivamente.

Esperimento 2: l’“*attività di ruminazione*” e l’“*attività di prensione*”, sono state correttamente rilevate dal RWc nel 90.5% e 98.7% dei casi, rispettivamente. L'ERM tra VR e RWc è stato moderato per tutti e 3 gli eventi rimanenti: “*numero di boli*” (11.48%; r_s=0.932; P<0.0001), “*numero di masticazioni durante la ruminazione*” (16.00%) e “*numero di masticazioni per bolo*” (15.73%), sebbene per questi due ultimi valori nessuna correlazione significativa sia stata osservata.

I risultati della presente indagine suggeriscono che l'innovativo dispositivo RumiWatch® (podometro e cavezza) permette nel bufalo mediterraneo, al pari della vacca, l'identificazione di diverse caratteristiche dell'attività di locomozione, ruminazione e prensione dell'alimento, con risultati incoraggianti ed in linea con quanto descritto nel bovino. Tale studio lascia altresì presagire che anche in questi ruminanti l'applicazione di dispositivi elettronici di ultima generazione possa rappresentare un valido aiuto ed ausilio nell'identificare animali affetti da condizioni morbose che si esprimono soprattutto con andamento subclinico unitamente ad una corretta valutazione clinica del benessere animale dei soggetti allevati.

VALIDATION OF A NOVEL AUTOMATIC ELECTRONIC DEVICE (RUMIWATCH®) FOR THE EVALUATION OF THE CLINICAL WELFARE IN MEDITERRANEAN BUFFALO (BUBALUS BUBALIS)

ABSTRACT

The aim of the present study was to validate for the first time 15 parameters of the novel RumiWatch® device (RW; ITIN+HOCH, Liestal, Switzerland) in Mediterranean buffalo, with the goal to verify its accuracy to correctly define several daily activities performed by these ruminants.

The current study was performed on 15 buffaloes heifers, healthy, 28-32 month old, reared in a farm place in Caserta District- (Campania region, Italy). All the animals enrolled were kept in one paddock of ~ 225 m², sharing the space with other 25 animals having free access to food and water. The validation of the RW (pedometer and halter) was performed placing the device on 3 groups of 5 animals each one. The latters were monitored for 5 days (2 days -*adaptation time*, 3 days -*acquisition phase*). RW was characterized by 2 different devices placed on the animal and able to measure the following activities: “*lying bout*”, “*walking bout*”, “*standing bout*”, “*stand up*”, “*lie down*”, “*number of strides*”, “*lying time*”, “*walking time*”, “*standing time*”, “*upright time*” for the Rumiwatch® pedometer (RWp- *Experiment 1*); while “*rumination activity*”, “*n° of cuds*”, “*n° chewing during rumination time*”, “*n° chewing/cuds*”, “*eating activity*” per il Rumiwatch® halter (RW_h – *Experiment 2*). The data obtained by RW were compared with those originated by continuous video-recording (VR) by means of proportions (p; for dichotomous variables), relative measurement error (RME; for continuous variables) and *Spearman* correlation (r_s).

Experiment 1, the total number of events “*stand up*” and “*lie down*” observed with VR was correctly measured by RWp in 98.2% and 98.3% of the cases, respectively. All the cases “*lying bout*” were perfectly identified by the device (p=1.000). The value of the parameter “*lying time*” given by RWp was very close to that observed by means of VR (RME =0.19%, r_s=1; P<0.0001). The 99.5% of the events “*standing bout*” was well defined, while regarding the total “*upright time*” calculated by the RWp was similar to that detected by VR (RME =0.08%, r_s=1; P<0.0001), differently by total “*standing time*” that showed slightly different values (RME =2.29%, r_s=0.814; P<0.0001). The 99.5% of “*walking bout*” was correctly measured, while for the parameters “*walking time*” and “*number of strides*” an *high* (21.3%; r_s=0.814; P<0.0001) and *moderate* RME (9.64%; r_s=0.957; P<0.0001) were described, respectively.

Experiment 2, “*rumination activity*” and “*eating activity*”, has been correctly identified by the RW_h in 90.5% and 98.7% of the cases, respectively. The RME between and VR and RW_h was *moderate* in all the remaining events: “*n° of cuds*” (11.48%; r_s=0.932; P<0.0001), “*n° chewing during rumination time*” (16.00%), and “*n° chewing/cuds*” (15.73%), although for the latters two parameters no significant correlations were observed.

The results of the present investigation suggest that the novel device RumiWatch® (pedometer and halter) allows in Mediterranean buffalo, such us in cow, the measurement of some characteristics of the walking behavior, rumination and eating activity, with encouraging results and similar to those described for dairy cow. The study suggests that also in this ruminant the use of novel electronic devices can be useful to identified early diagnosis of subclinical sick animals associating this possibility to a correct welfare clinical evaluation of reared animals.

Introduzione

In Europa sono presenti circa 460'000 bufali mediterranei (*Bubalus bubalis*) e l'Italia si pone come paese leader in questo ambito con una presenza di oltre 350'000 soggetti (Vidu et al., 2014; Italian Ministry of Health, 2015). Le ragioni del crescente interesse per l'allevamento bufalino sono dovute soprattutto alla popolarità dei prodotti lattiero caseari ottenuti (International Dairy Federation, 1987). L'origine dell'allevamento di questi animali è ancora controverso in quanto non è facile desumere dalla documentazione esistente da quando la specie sia presente sul nostro territorio. Kumar e collaboratori (2007) attribuiscono origini indipendenti tra bufali domestici di fiume e quelli di palude. All'interno della prima categoria, il bufalo Mediterraneo e quello Indiano probabilmente ebbero origine da analoghe popolazioni. Gli stessi autori fanno risalire la data di

origine dell'addomesticamento a 6300 anni fa, mentre come luogo d'origine la regione sub-occidentale del subcontinente indiano. Circa 2600 anni fa, commercianti arabi portarono i bufali d'acqua dalla Mesopotamia verso il Vicino Oriente (Siria, Israele e Turchia). Durante il Medioevo (XIII secolo), l'animale domestico è stato infine portato in Europa dai pellegrini e da coloro che presero parte alle crociate.

Nel nostro Paese il Bufalo Mediterraneo è tipicamente allevato nel centro e sud Italia. L'80% della produzione di latte proviene dalla regione Campania e nello specifico dalle provincie di Caserta e Salerno dove sono presenti numerosi allevamenti intensivi (Vidu et al., 2014; Italian Ministry of Health. 2015). Negli ultimi decenni il crescente interesse per questa specie da latte, ha sicuramente favorito la sua diffusione sia in paesi europei come ad esempio la Svizzera, la Romania e la Grecia sia in altri extra europei (e.g. Albania, Turchia ed Egitto) (Borghese e Mazzi, 2005).

Negli ultimi anni, a causa della necessità di ottemperare alla crescente richiesta di prodotti caseari tipici, l'allevamento bufalino è profondamente mutato rispetto alle antiche tecniche tradizionali, (prevalentemente estensive e basate sul largo uso di ambienti palustri), attraverso l'uso di moderni sistemi intensivi, sulla scia di quanto ampiamente noto nell'allevamento delle bovine da latte; tali cambiamenti hanno influenzato negativamente i diversi aspetti del comportamento e del benessere del

bufalo Mediterraneo. Gli allevamenti di tipo intensivo presentano spesso la suddivisione delle zone di stabulazione in differenti aree funzionali (e.g. riposo, alimentazione, esercizio) nelle quali gli animali sono liberi di muoversi ma che spesso non garantiscono uno spazio sufficiente determinando una sensibile riduzione del benessere di questa specie (De Rosa et al., 2009a).

Come è noto il benessere degli animali da reddito è un tema che sta diventando sempre più incalzante, dato il grande interesse suscitato nell'opinione pubblica e per l'attenzione assidua che i mass-media gli riservano. L'attenzione è stata focalizzata dapprima sulla qualità e salubrità dei prodotti di origine animale, in particolare in seguito alle grandi emergenze sanitarie degli ultimi anni (diossina, BSE, influenza aviaria, etc.), e successivamente sulla sostenibilità ed eticità delle produzioni, soprattutto se di tipo intensivo (Bertocchi e Fusi, 2014).

La maggior parte delle persone sono sempre più sensibili alla causa animalista presumibilmente perché, abitando principalmente i grandi centri urbani, hanno perso il contatto diretto con la realtà zootecnica/rurale; di conseguenza spesso provano un sentimento di indignazione verso alcuni reportage giornalistici favorendo il diffondersi di un comune di dissenso verso qualunque pratica di allevamento adibita alla produzione di alimenti per l'uomo (Bertocchi e Fusi, 2014).

Storicamente è noto che l'addomesticamento e l'allevamento degli animali sono attività finalizzate al sostentamento e al reddito; solo recentemente il trattato di Lisbona (2007) impegna però, gli Stati membri della Comunità Economica Europea a rispettare il benessere degli animali allevati senza provocare sofferenze inutili (Bertocchi e Fusi, 2014). Il Medico Veterinario deve tutelare il loro benessere ed impedire che essi vengano allevati in condizioni di malessere, ma allo stesso tempo deve garantire la sicurezza alimentare e la salute pubblica; è oramai notorio come animali sani ed allevati in buone condizioni igienico-sanitarie producono meglio e di più (Bertocchi e Fusi, 2014); elementi stressanti che derivino da condizioni di scarso benessere possono determinare una maggiore predisposizione alle patologie e aumentare i rischi per il consumatore (Bertocchi e Fusi, 2014).

Nella nuova “*Strategia per la Salute degli Animali*” (2013), l'Unione Europea ribadisce infatti che la salute degli animali comprende non solo l'assenza di patologie ma anche il nesso critico tra la salute degli animali ed il loro benessere. Recentemente (2004–2009) è stato riconosciuto un sistema di classificazione del benessere attraverso l'uso di un “*score system*”, sviluppato nell'ambito di un progetto europeo *Welfare Quality*® (www.welfarequality.net); esso è stato realizzato per sviluppare uno standard di valutazione del benessere, sistemi d'informazione all'interno

delle aziende e strategie pratiche di miglioramento del benessere stesso. Nel 2007 anche le bufale da latte sono state incluse in questo progetto (De Rosa et al., 2015), sebbene il protocollo completo relativo a questa specie non sia stato ancora pubblicato (Napolitano, 2016, comunicazione personale.). Tuttavia, vi sono alcune somiglianze nel *management* tra le bovine da latte e le bufale e pertanto, il protocollo sviluppato per le prime è stato utilizzato come punto di partenza per questa specie. Nelle bovine da latte, il protocollo *Welfare Quality*® comprende circa 30 misure (*Welfare Quality*®, 2009), aggregate in 12 criteri che sono a loro volta raggruppate in 4 principi; quest'ultimi sono integrati in un unico punteggio finale che indica il livello di benessere degli animali in una determinata azienda. Alcuni esempi di misure alla base del protocollo sono rappresentati da: lesioni della cute, il livello di pulizia del corpo, la presenza di zoppie, etc. Risorse (e.g. la pulizia dei punti d'acqua, l'accesso al pascolo, il sistema di alimentazione, etc.) e gestione aziendale (e.g. il taglio della coda e procedure standard di decorazione; etc.) sono state a loro volta incluse nel sistema di monitoraggio aziendale affinché possano aiutare ad identificare le cause del cattivo benessere e intervenire con possibili miglioramenti assistenziali per l'allevatore. Validità (del benessere degli animali), affidabilità (che riflette la tendenza a dare gli stessi risultati su misurazioni ripetute) e fattibilità (Winckler et al., 2007; Windschnurer et al., 2008;

Plesch et al., 2010) delle diverse misure vengono infine valutate attraverso il sistema di monitoraggio *Welfare Quality*®.

La condivisione di tipologie di allevamento simili, ha predisposto la bufala da latte a problemi analoghi a quelli nelle vacche (Guccione et al., 2014a) come ad esempio: disordini riproduttivi (Vecchio et al., 2008), mastiti (Guccione et al., 2014b;2016a) e problemi podali (De Rosa et al., 2009a; Guccione et al., 2016b). Tali problematiche connesse all'allevamento intensivo e all'errato management degli animali, oltre ad essere riconosciute come causa di importanti perdite economiche sono oggi annoverate tra le cause che direttamente o indirettamente possono influenzare negativamente il benessere animale (*Welfare Quality*®, 2004).

Infatti è stato ampiamente dimostrato come bovine da latte con patologie cliniche o subcliniche subiscono una forte influenza sul modello comportamentale dell'alimentazione con gravi ripercussioni sul loro stato di salute (Grant e Albright. 2000). Huzzey e collaboratori rivelarono una diminuzione del tempo impiegato nell'alimentazione dalle vacche con mastite clinica. Gonzales e collaboratori, invece, monitorando gruppi di bovine nel periodo del peri-parto dimostrarono come, lo stato di chetosi nel *post-partum*, era associato a significativi cambiamenti nelle modalità di assunzione dell'alimento già a partire da 6 giorni prima della diagnosi

clinica. Infine, come dimostrato da Whay e collaboratori, i disordini della linea bianca dello zoccolo possono, ad esempio, ridurre la soglia nocicettiva del dolore del bovino aumentando la sensibilità al dolore. Questa patologia, determinando sui soggetti colpiti una condizione di stress, sembra influenzare negativamente i parametri di benessere quali stato di nutrizione (BCS basso) e grado di pulizia (score alto); questa riduzione del benessere potrebbe portare essenzialmente ad animali meno attivi, con conseguente riduzione del tempo di alimentazione, del numero di pasti nella giornata, dell'assunzione di sostanza secca unitamente a prolungato tempo a terra (Westin et al., 2016).

Negli allevamenti intensivi il contatto tra allevatore e animale sta diminuendo sempre più, a causa delle frenetiche attività che quotidianamente si svolgono all'interno di una azienda; ciò, inevitabilmente, porta ad una gestione spesso superficiale e non corretta dell'azienda, con gravi ripercussioni sugli animali presenti. Tale condizione determina talvolta difficoltà nell'evidenziare gli animali malati e notevoli ritardi nel chiamare il Medico Veterinario; ne consegue che l'impossibilità di avere il pieno controllo dello stato sanitario della mandria ha portato l'allevatore a definire dei cut-off di tolleranza verso forme morbose di diversa origine, la cui presenza implicitamente espone ad una passiva

accettazione del problema al suo interno ed a perdite economiche controllate (Mulligan et al., 2006).

La tutela del benessere animale passa quindi attraverso una precoce diagnosi clinica delle patologie connesse alla natura del sistema dell'allevamento. La consapevolezza, di questo assunto, ha determinato recentemente la necessità di sviluppare sistemi automatici di controllo della salute della mandria e conseguentemente del benessere. Diversi dispositivi ausiliari di interpretazione clinica dello stato sanitario, sono attualmente in via di sviluppo. Tra quelli già presenti in commercio possono essere annoverati: videocamere per la valutazione del comportamento dei soggetti stabulati (Martin e Bateson. 2007; Albertini et al., 2008), podometri per il rilevamento dell'attività giornaliera svolta dall'animale ed utile alla rilevazione dei calori ed al rilevamento delle zoppie (Müller e Schrader. 2003; McGowan et al., 2007; O'DriScoll et al., 2008; Darr e Epperson. 2009; Robert et al., 2009), sistemi telemetrici per misurare la temperatura corporea per valutare le alterazioni dell'omeostasi corporea (Brown-Brandl et al., 2003), pulsossimetri integrati all'interno di marche auricolari per misurare frequenza cardiaca e saturazione dell'ossigeno e, infine, collari GPS per l'individuazione ed il monitoraggio dei soggetti allevati al pascolo (Nagl et al., 2003). Tali dispositivi automatici, sebbene deputati al controllo sanitario della mandria, consentono di rilevare l'insorgenza di alcune

tipiche tecnopatie d'allevamento, ma allo stato attuale limitano le loro capacità di rilevamento del problema solo ad alcuni parametri e non permettono di avere una visione simultanea ed ampia delle condizioni cliniche dei soggetti malati; ciò rappresenta forse il limite più grosso che questi innovativi mezzi ausiliari di diagnosi clinica e valutazione del benessere animale presentano.

Recentemente è stato creato e validato (Zehner et al., 2012; Braun et al., 2013; Alsaad et al., 2015) un nuovo sistema di valutazione dello stato sanitario delle vacche da latte chiamato RumiWatch® con conseguenti possibilità di valutazione indiretta del benessere animale, soprattutto valutando alcune importanti funzioni organiche (GFO), permettendo anche una visione “clinica” d'insieme del soggetto. Il RumiWatch si basa sull'uso combinato di una testiera e un podometro dotati di accelerometro tridimensionale in grado di definire, secondo quanto indicato dalla casa costruttrice, la corretta individuazione di 25 attività comunemente svolte dagli animali, indicativi del benessere, suddivisi nelle categorie seguenti: durata e numero di atti ruminatori, durata del tempo di assunzione dell'alimento e dell'acqua e numero relativo di atti di masticazione e suzione (testiera), tempo trascorso a terra, tempo di camminata, tempo in piedi, numero di volte in cui l'animale si alza e si abbassa, numero di passi e durata (podometro).

Lo scopo del presente studio è quello di validare per la prima volta 15 parametri del dispositivo di rilevamento comportamentale Rumiwatch® nel bufalo Mediterraneo con l'obiettivo di valutare la sua accuratezza e definire correttamente alcune delle attività svolte quotidianamente da questi ruminanti, al fine di poter disporre di un dispositivo capace di svelare le condizioni di salute ed, indirettamente, controllare il benessere cui tali animali sono sottoposti nel sistema di allevamento attualmente in uso nelle aziende bufaline.

La parte sperimentale della presente tesi sarà preceduta da una parte generale che esegue un'approfondita trattazione del benessere clinico e dalla descrizione dettagliata dei dispositivi ausiliari comunemente utilizzati nell'allevamento bovino e bufalino.

PARTE GENERALE

Valutazione del benessere

Il “benessere animale” è un tema difficile ed il dibattito ad esso connesso, sia sulla sua determinazione sia sui criteri per poterlo misurare, oggi è quanto mai attuale e sotto certi aspetti controverso. Nel tempo la sua definizione ha sicuramente avuto modo di evolversi:

- “welfare è un termine dal significato vasto, che comprende il benessere sia fisico che mentale dell'animale. I tentativi per valutarlo devono considerare l'evidenza scientifica disponibile relativamente alle sensazioni degli animali, evidenza che può derivare dalla loro struttura e funzioni, come pure dal loro comportamento” (Brambell Report, 1965);

- “è uno stato di salute completa, sia fisica che mentale, in cui l'animale è in armonia con il suo ambiente” (Hughes, 1976);

- “il welfare di un organismo è determinato dallo stato in cui si trova in relazione ai tentativi di adattarsi all’ambiente” (Broom, 1986);

- “è lo stato dell’animale nel tentativo di affrontare il suo ambiente naturale” (Fraser e Broom, 1990);

- “il welfare di un animale fa riferimento alla qualità della sua vita e coinvolge molti elementi diversi, come la salute, la felicità e la longevità, a cui diverse persone attribuiscono differenti gradi di importanza” (Tannenbaum, 1991);

- Il welfare animale può essere racchiuso nelle note “cinque libertà” (Farm Animal Welfare Council, 1993):

- libertà dalla sete, dalla fame e dalla malnutrizione;
- libertà dal disagio;
- libertà dal dolore e dalle malattie;
- libertà di esprimere un comportamento normale;
- libertà dallo stress e dalla paura.

Riguardo i metodi di valutazione del benessere negli animali da reddito, diversi sistemi di quantificazione sono stati proposti nel tempo da numerosi ricercatori in tutto il mondo, soprattutto per la vacca da latte (Fraser et al., 1997; Fraser, 2003; World Organization for Animal Health, 2008;

Keyserlingk et al., 2009). Tali propositi, si sono concretizzati nella definizione di un modello europeo di quantificazione del benessere animale chiamato sistema *Welfare Quality*® (2009). Queste linee guida di analisi, si basano sulla verifica della presenza/assenza di alcuni principi fondamentali alla base di un adeguato benessere e sui criteri di valutazione ad essi annessi, costituiti a loro volta da una serie di misure (Tabella 1).

I principi proposti vengono valutati attraverso la verifica dei seguenti criteri e misure:

- Principio “*alimentazione corretta*”; viene valutato attraverso il soddisfacimento di due criteri fondamentali: presenza di appropriate riserve nutrizionali (misurate attraverso il sistema *body condition score*, BCS), e riserve idriche (misurate attraverso la verifica del flusso idrico d’abbeverata e il grado di pulizia degli abbeveratoi).

- Principio “*stabulazione adeguata*”; valuta se gli animali usufruiscono di condizioni di sufficiente comfort termico, di riposo soddisfacente e di facilità di movimento. La stima di questi criteri si basa sulla misura di alcuni indici specifici, quali: pulizia dei fianchi, degli arti e delle mammelle, tempo necessario per mettersi in

decubito, valutazione degli animali che restano in decubito fuori dall'area di riposo.

- Principio “*buona salute*”; basato sul criterio dell'assenza di lesioni, patologie e dolore provocato dalla tecnica d'allevamento. Nello specifico vengono inclusi come indici di verifica, presenza di: lesioni cutanee, zone alopeciche, edemi della giogaia, igroma del garrese, zoppia e ipercrescita degli unghioni.

- Principio “comportamento appropriato”; si basa sul concetto che nell'ambiente di allevamento gli animali debbano essere liberi di manifestare il proprio comportamento, ad esempio: presenza di comportamenti agonistici, interazioni sociali, comportamenti anomali (e.g. stereotipie). Infine viene valutato anche il rapporto uomo-animale, attraverso il rilievo e l'analisi della distanza di fuga alla mangiatoia, la distanza alla quale una persona può avvicinarsi ad un animale senza che l'animale stesso si muova o si allontani (*Welfare Quality*®. 2009).

Tab. 1 – Principi generali e criteri adottati nel *Welfare Quality*®.

PRINCIPIO	CRITERIO	MISURA
Alimentazione corretta	Soddisfacimento esigenze nutrizionali Soddisfacimento esigenze idriche	Animale molto magro, normale, molto grasso Fornitura di acqua, pulizia dei sistemi di distribuzione di acqua, acqua corrente, funzionamento dei sistemi di distribuzione di acqua.
Stabulazione adeguata	Comfort durante il riposo Comfort termico	Mammella, fianco, parti superiore ed inferiore della gamba Tempo necessario per distendersi, collisioni con le strutture circostanti durante la discesa, animale disteso parzialmente o totalmente al di fuori dell'area di riposo Fornitura di sistemi per la regolazione termica (buche, vasche,docce,ecc.)
Buona salute	Capacità di movimento Assenza di lesioni Assenza di patologie Assenza di dolore indotte da procedure manageriali	Presenza di catene, accesso ad aree di pascolo Zoppia (assente, presente, grave), sovra crescita dell'unghione Animali con alterazioni della cute (assenza di pelo, lesioni o rigonfiamenti, igroma del garrese, edema della giogaia, ascesso iatrogeno) Tosse, secrezione nasale, secrezione oculare, difficoltà respiratorie Diarrea Secrezione vaginale, prolasso vaginale o uterino, conta delle cellule somatiche del latte, mortalità, distocia, patologie post parto Taglio della coda, rimozione delle corna, inserimento anello nasale con relativo uso di analgesici o anestetici
Comportamento appropriato	Espressione del comportamento Rapporto uomo-animale Assenza di stress	Leccarsi reciprocamente, darsi testate, rincorrersi, azzuffarsi Distanza di fuga alla mangiatoia Valutazione qualitativa del comportamento

Tali criteri devono essere osservati e verificati su ogni singolo animale, consentendo in una fase successiva una valutazione globale dell'azienda. Ad ogni "misura" viene infatti assegnato un punteggio (compreso tra "0" e "2") che, combinato con quello delle altre, arriverà a definire il valore numerico di un criterio. Il punteggio ottenuto da ogni "Criterio" verrà sommato per definire il valore del "Principio" corrispondente. Da ciascun "Principio" esiterà un punteggio finale, riconducibile ad un singolo animale, compreso tra 0 e 100:

- '0' - corrisponde alla peggiore situazione osservabile (vale a dire la situazione al di sotto della quale non sono possibili ulteriori decrementi nel benessere).
- '50' - corrisponde ad una situazione neutra (cioè livello di benessere mediocre, deve essere incrementato).
- '100' - corrisponde alla situazione migliore osservabile in un animale (cioè situazione ottimale, non necessita di miglioramento alcuno).

La media dei punteggi ottenuti dagli animali oggetto di indagine permetterà di assegnare l'azienda in esame in una delle seguenti categorie stabilite dalle linee guida del sistema *Welfare Quality*®:

- **Eccellente:** il benessere degli animali è di massimo livello.

- **Elevato:** il benessere degli animali è buono.
- **Accettabile:** il benessere degli animali è al di sopra dei requisiti minimi o li soddisfa appena.
- **Non classificato:** il benessere degli animali è basso e considerato inaccettabile.

Per ciascuna delle precedenti categorie (e.g. Eccellente, Elevato, etc.) sono definiti dei “valori d’aspirazione”, ossia dei punteggi-obiettivo ai quali un’azienda deve mirare per poter essere classificata; affinché possa essere attribuita l’accezione di benessere **Eccellente** un sistema di allevamento deve ottenere almeno 80 punti, **Elevato** almeno 55, mentre **Accettabile** ottenendo un punteggio non inferiore a 20. Ogni valutazione avviene in maniera indipendente per ciascun principio, così punteggi più alti ottenuti in uno di questi, non compensano quelli più bassi eventualmente ottenuti dagli altri. Tale sistema di valutazione prevede quindi che un’azienda venga classificata come **Eccellente**, se almeno due principi abbiano totalizzato un punteggio maggiore o uguale di 80 e i restanti due non siano, invece, inferiori a 55; **Elevato** se almeno due dei principi abbiano dei punteggi maggiori o uguali a 55 ed i restanti due non inferiori a 20; **Accettabile** se almeno tre dei principi abbiano un valore superiore a 20 e solo il quarto tollerato al di sotto di questa soglia. Infine

aziende che totalizzano risultati inferiori vengono considerate come **Non classificate**.

Tale modello di valutazione è stato utilizzato per le vacche da latte, vitelloni, vitelli a carne bianca, suini da ingrasso, scrofe, suinetti, galline ovaiole e, infine, *broilers*. La specie bufalina è entrata ufficialmente in questo modello solo dal 2007 (De Rosa et al.,2015), sebbene non vi siano ancora dati pubblicati riguardo la valutazione aziendale del benessere per questa specie (Napolitano, 2016 comunicazione personale,). Come punto di partenza per la creazione di un modello di valutazione è stato utilizzato il protocollo sviluppato per le bovine da latte, tenendo tuttavia in considerazione aspetti peculiari di questa specie. La bufala infatti presenta alcune caratteristiche comportamentali e sociali che devono essere tenute in considerazione nella creazione di un modello aziendale di benessere. Uno degli aspetti più significativi del corretto management di questo ruminante è rappresentato dalla quantità di spazio a disposizione degli animali e dalle sue caratteristiche. Inoltre, tali parametri possono influenzare negativamente alcuni aspetti come:

- *FREQUENZA E QUANTITA' DI ALIMENTO INGERITO*; tale fattore può essere influenzato dalle condizioni climatiche esterne e pertanto nei sistemi di allevamento moderno bufalino non è

infrequente osservare vaporizzatori d'acqua che hanno l'obiettivo di rinfrescare gli animali durante le ore più calde del giorno durante il periodo estivo. In condizioni ottimali, l'assunzione di sostanza secca delle bufale in lattazione è infatti circa il 30% in meno rispetto a quella bovina (con una media di 16 kg pro-animale al giorno rispetto ai 22kg della vacca, Terramoccia et al., 2005), ma grazie all'impiego di simili strategie di regolazione forzata della temperatura corporea, è stato dimostrato da Thomas e collaboratori (2005) che la prensione giornaliera di alimento può aumentare in maniera significativa.

L'importanza dello spazio a disposizione per questa specie è talmente rilevante che Napolitano e collaboratori (2013) descrivono un'attività riconducibile alla prensione degli alimenti pari al 60% delle ore giornaliere quando gli animali sono allevati in condizioni estensive indicando come tali valori, simili a quelli nel bovino in medesime condizioni ambientali (Schlecht et al., 2006), possono essere raggiunti solo quando le condizioni ambientali rispettano a pieno il benessere di questo ruminante.

- *ATTEGGIAMENTI DI SOCIALIZZAZIONE ED AGONISMO*;
sebbene le bufale in condizioni naturali si muovano in gruppi in cui gli individui mantengono stretta vicinanza l'uno all'altro, la

mancanza di uno spazio minimo a disposizione di ciascun soggetto può indurre elevati livelli di stress negli animali e conseguentemente la comparsa di anomali comportamenti o stereotipie (De Rosa et al., 2007).

Come altre specie da allevamento, i bufali in natura sono organizzati in mandrie, in cui le interazioni agonistiche si verificano come un mezzo per stabilire e mantenere una struttura sociale. Tuttavia, una volta che i rapporti di dominanza sono stati stabiliti, gli atteggiamenti di minaccia ostentati da animali dominanti generalmente inducono la ritirata dei soggetti subordinati senza alcun contatto fisico. Vari fattori, quali la dimensione del gruppo in funzione della disponibilità di spazio e le strategie di gestione possono influenzare questo comportamento; la mancanza di spazio, infatti, può influenzare la frequenza e la qualità delle interazioni sociali, incrementando sensibilmente il numero di attività agonistiche registrate; a loro volta queste ultime possono essere considerate come indicative di un ridotto welfare (De Rosa et al., 2007). Inoltre, tale condizione si associa spesso con il rilevamento di numerose lesioni cutanee di varia gravità poiché è consuetudine in questi animali, a differenza del bovino, non rimuovere la gemma cornuaria aumentando le possibilità di ferite conseguenti a combattimenti

(BOSTID, 1981). Un numero maggiore di atteggiamenti di socializzazione positivi (e.g. annusare, strofinare e il leccare i conspecifici) sono stati osservati in gruppi di animali allevati con ampi spazi dedicati alla socializzazione (per es.: piscine) rispetto a quelli contenuti in spazi decisamente più ristretti (De Rosa et al., 2009b). La comparsa di queste espressioni della volontà di socializzare, da parte delle bufale da latte, è fondamentale per l'instaurarsi di legami associativi tra i soggetti, a loro volta in grado di aumentare i livelli di interazione del gruppo, diminuire il numero di comportamenti agonistici che potrebbero instaurarsi e influire positivamente sul benessere complessivo della mandria (Sato et al., 1991).

· *TERMOREGOLAZIONE*; le caratteristiche dello spazio rivestono un ruolo importante nella determinazione del benessere bufalino in diversi modi; una efficiente termoregolazione, infatti, viene raggiunta con maggiore facilità se questi ruminanti hanno a disposizione fango o piscine in cui rotolarsi o immergersi (Hafez et al., 1955). Quando i bufali hanno libero accesso all'acqua, sotto forma di stagni, buche o piscine (allevamenti estensivi), spendono una percentuale elevata del tempo a riposo compiendo queste attività

al fine di termoregolarsi e trovare nel contempo sollievo da ectoparassiti e mosche (BOSTID, 1981). Inoltre, in condizioni di forte caldo-ambientale, la persistenza nel fango o nell'acqua può aumentare il volume e il flusso di sangue verso la superficie cutanea facilitando la dissipazione del calore (Koga, 1999). Attraverso la selezione naturale, le bufale hanno acquisito diverse caratteristiche morfologiche, che permettono il loro adattamento alle zone caldo-umide. La pelle pigmentata di melanina è utile per la protezione contro i raggi ultravioletti così come la bassa densità dei peli facilita la dissipazione del calore per convezione ed irraggiamento. Nei climi caldi-asciutti, la bassa umidità induce intensa perdita di calore per evaporazione, attività questa già limitata nella bufala a causa del basso numero di ghiandole sudoripare di cui è dotata (Hafez et al., 1955). Inoltre, in presenza di aumenti significativi della temperatura ambientale, se gli animali non riescono a termoregolarsi in maniera efficiente possono manifestare un'attività respiratoria meno efficace rispetto a quella del bovino tanto da indurre un rapido aumento del pH del sangue ed alcalosi (Koga, 1991). In estate, la percentuale di tempo trascorso nel fango o nell'acqua è il doppio rispetto alle altre stagioni (Napolitano et al., 2007), ma quando durante questo periodo dell'anno, l'accesso all'acqua per sguazzare è limitato, sono state

dimostrate scarsa produzione latte (De Rosa et al., 2009a) e basse performance riproduttive (Di Palo et al., 2001), presumibilmente da ascrivere ad una insufficiente dissipazione di calore.

- *LOCOMOZIONE*; negli allevamenti estensivi i bovini trascorrono dal 20 al 26% del tempo giornaliero a camminare, mentre dal 12 al 20% al riposo (Schlecht et al., 2006) e un comportamento simile è descritto per le bufale giovenche in medesime condizioni di allevamento (Napolitano et al., 2007). Lo spazio a disposizione influisce in maniera significativa su questo comportamento, infatti, come descritto da Napolitano e collaboratori (2005), bufale circoscritte in ambienti meno spaziosi mostravano una minore attitudine alla locomozione a differenza di quelle allevate in maniera estensiva. De Rosa e collaboratori (2007a) hanno osservato che le giovenche contenute in *paddock* dedicavano più tempo per l'esplorazione delle strutture di recinzione rispetto agli animali tenuti al pascolo. Gli autori hanno attribuito questo comportamento diverso all'assenza di stimoli e quindi riduzione del welfare. Le bufale tenute in condizioni intensive, infatti, non potendo accedere al pascolo e all'acqua, prolungano le loro fasi d'ozio (Tripaldi et al. , 2004) e sono raramente coinvolte in attività d'interazione (De Rosa et al.,

2009a). Quando gli animali hanno la possibilità di accedere al pascolo, invece, la comparsa dei fenomeni di *self-grooming* sembra essere favorita (De Rosa et al., 2009a); ovvero la cura e la pulizia del corpo che solitamente sono considerate come segni di buono stato di salute e ottimale adattamento ambientale sembrano essere più frequenti (Knierim and Winckler, 2009); è oramai notorio da tempo come questo fenomeno sia ulteriormente agevolato dalla presenza di vasche o pozze per bagnarsi o sguazzare (Sato et al., 1991).

Sebbene il modello del *Welfare Quality*® restituisca una quantificazione indiretta del grado di efficienza-benessere di una azienda da latte, da un punto di vista squisitamente clinico, la valutazione del benessere stesso passa in primis attraverso l'esame clinico completo dell'animale (condizione prioritaria ed imprescindibile). Attualmente l'unico modello di valutazione clinica del benessere del bufalo mediterraneo è quello proposto da Ciaramella e Guccione (2014) e passa attraverso un esame clinico completo e specifico della bufala mediterranea (clinica cosiddetta collettiva) e conseguente valutazione del suo stato di salute. La valutazione del benessere clinico può tuttavia avvalersi di alcuni indici di valutazione indiretta che, seppur simili a quelli riportati dal *Welfare Quality*®, vengono comunemente utilizzati con scale di punteggio diverse, più dettagliate, e coadiuvanti la diagnosi di un eventuale stato di malessere.

Alcuni di questi indici validi sia per il bovino sia per la bufala da latte sono rappresentati da:

- *BCS*; nella vacca i sistemi di valutazione del *BCS* attualmente in uso sono 2: il primo a 5 punti (da 0 a 5, basato su incrementi ponderali di 0.25, con 0: gravemente emaciata; 5: molto obesa) valida per le vacche da latte e proposto da Lowman et al. (1976), ed uno a 9 punti (da 1 a 9, con incrementi ponderali di 1, con 1: gravemente emaciata; 9: molto obesa) valido per i bovini da carne e proposto da Wagner e collaboratori (1988).

Per quanto riguarda la bufala da latte, questa viene comunemente associata per aspetto morfologico ed attività metabolica ai bovini da carne (Campanile et al., 1998), pertanto per lungo tempo è stato utilizzata la scala di Wagner et al. (1988) a 9 punti modificata. Recentemente è stata introdotta in questa specie una nuova scala a 5 punti (da 0 a 5, basato su incrementi ponderali di 0.25- 0: gravemente emaciata; 5: molto obesa), simile a quella utilizzata nel bovino ma con alcune modifiche che tengono presente le peculiarità della specie riguardo alla disposizione dei depositi adiposi corporei (Guccione et al., 2016b). Vacche e bufale con valori di *BCS* al disotto della norma sono state associate con una diminuzione clinica del benessere (Roche et al., 2009; Guccione et al., 2016b). In

entrambe le specie, i disordini podali rappresentano l'esempio principe della correlazione esistente tra patologia e scadimento della condizione corporea (Roche et al., 2009; Guccione et al., 2016b). Al contrario, anche vacche eccessivamente grasse sembrano esporsi invece a disordini e patologie metaboliche (steatosi, chetosi, distocie, dislocazioni abomasali) in grado di influenzare negativamente lo stato di salute dei soggetti colpiti, performance produttive e riproduttive (Markusfeld et al., 1997). Bufale troppo grasse dopo il parto sono state indicate come affette da una minore fertilità rispetto a soggetti normopeso (Campanile, 1998).

Tab.2- Descrizione dei criteri di valutazione del BCS in bovini da carne secondo lo schema di Wagner (1988).

Score	Descrizione
1	Severamente emaciato. Tutte le coste e le strutture ossee sono facilmente visibili. Animale debole. L'animale ha difficoltà a stare in piedi e a camminare. Assenza di grasso esterno visibile o palpabile
2	Emaciato. Simile al punto 1 ma assenza di debolezza
3	Molto magro. Grasso non palpabile né visibile sopra le coste e all'entrata del petto. I muscoli nel quarto posteriore sono facilmente visibili e i processi spinosi sono molto evidenti
4	Magro. Costole e tuberosità ossee sono facilmente visibili. Il grasso non è palpabile sulle coste e sulle tuberosità. I muscoli nel quarto posteriore sono visibili.
5	Moderato. Le costole sono meno evidenti rispetto al punto 4 e sono ricoperte da meno di 5cm di grasso. Le ultime 2 o 3 coste possono essere palpate facilmente. Non è presente grasso all'entrata del petto. Le tuberosità ossee possono essere coperte da massimo 1cm di grasso. I muscoli nel quarto posteriore non sono visibili.
6	Buono. Aspetto dolce nel complesso. Poco grasso è depositato alla base del petto. Le costole non sono visibili individualmente. Circa 1cm di grasso può ricoprire le tuberosità ossee e le ultime due o tre coste.
7	Molto buono. La punta del petto è piena di grasso. Le tuberosità ossee e la base della coda sono ricoperte di grasso. Il tronco appare squadrato a causa della presenza di grasso. Depressioni sopra la colonna spinale sono dovute al grasso presente lateralmente. Circa 2-3cm di grasso possono ricoprire le ultime due o tre coste.
8	Obeso. Il tronco è molto squadrato. La punta del petto è estesa dal grasso sottostante. Grandi deposito di grasso sporgono alla base della coda e sulle tuberosità ossee. Il collo è ispessito. Circa 3-4cm di grasso possono ricoprire le ultime due o tre coste. Grandi depressioni sopra la colonna spinale.
9	Molto obeso. Come descritto nel punto 8 ai massimi estremi.

Tab.3- Descrizione dei criteri di valutazione del BCS in bufale mediterranee per ogni parametro (costole, colonna vertebrale, fianchi e coda) secondo lo schema di Ezenwa (2009) modificato da Guccione (2016).

Region of body				
Score	Costole	Colonna vertebrale	Fianchi	Coda
5 (Obeso)	Non visibili; lo strato grasso le ricopre così come lo spazio intercostale	Ossa non visibili; si trova in una leggera depressione tra grasso a destra e sinistra	Convessi, morbidi posteriormente, ossa dell'anca non evidenti	Circondata da tessuto adiposo molle alla base
	Poco visibili verso l'addome; sono palpabili	Ossa non visibili; si trova a livello con i tessuti circostanti	Aspetto tondo e liscio al tatto, ossa dell'anca visibili	Base a livello del tessuto adipose circostante
3 (Ideale)	Alcune visibili al centro della gabbia toracica; verso l'addome rigide al tatto	Palpabile; leggermente elevata	Chiaramente visibili, ossa dell'anca facilmente palpabili ma non sporgenti	Base sporge leggermente al tatto, ma non visibile
	Costole totalmente visibili; sensazione di gradini al tatto	I processi spinali sono palpabili singolarmente	Concavi	Base attaccata visibilmente al tessuto circostante
1 (Emaciato)	Costole ben visibili con profonde depressioni tra loro; molto rigide	Le vertebre si distinguono al tatto e alla vista	Posteriore emaciate, osse dell'anca sporgono	Base circondata da tessuti della cavità del bacino

- **GRADO DI PULIZIA;** diverse sono le scale proposte per la valutazione clinica del grado di pulizia nel bovino. Schreiner and Ruegg (2002) hanno proposto un sistema a 4 punti (da 1 a 4, con incrementi di 1, con 1: completamente pulito o con livelli trascurabili di sporco; 4: completamente ricoperto di fango incrostato); le aree valutate erano prevalentemente gli arti e la mammella. Ellis e collaboratori (2006) hanno proposto un sistema a 5 punti (da 1 a 5, con incrementi di 1, con 1: molto pulito; 5: molto sporco con fango o feci); le aree valutate sono: i

fianchi, le gambe, la coda e la mammella. Tutti i punteggi analizzati in maniera indipendente per ciascuna area d'osservazione vengono sommati restituendo un punteggio complessivo compreso tra 4 e 20.

Nielsen e collaboratori (2011) hanno proposto un sistema a 4 punti (da 1 a 4, con incrementi di 1, con 1: completamente pulito o con livelli trascurabili di sporco; 4: completamente ricoperto di fango incrostato);

Le aree valutate erano: gli zoccoli e gli arti al di sotto del garretto lateralmente e posteriormente. Per quanto riguarda il grado di pulizia nel bufalo attualmente sono documentate due scale di punteggio entrambe derivate dal bovino; la prima proposta da Napolitano e collaboratori (2005), divide l'animale in 5 macro-aree (ano-genitale, mammella, gamba, coscia e ventre), a ciascuna delle quali viene assegnato un punteggio (compreso tra 0 e 2, con incrementi di 0.5 - 0: pulite e 2: molto sporchi) e sommato alle restanti 4. La seconda proposta recentemente da Guccione e collaboratori (2016b) utilizza un sistema di valutazione diverso e più rapido, che origina dal modello proposto da Nielsen e collaboratori (2011) nella vacca. In breve, questo sistema di valutazione considera i livelli di sporcizia degli arti posteriori presenti e la sua diffusione in senso prossimalmente alla gamba dell'animale utilizzando una scala ordinale di punteggio compreso tra 1 e 4 (1 = nulla o poco letame sopra la banda coronarica; 2 = spruzzi leggeri al di sopra

della banda coronaria; 3 = placche distinte di letame sopra la banda coronarica, ma con pelo visibile; 4 = placche solide di letame che si estendono oltre al garretto e ginocchio). Nella valutazione del grado di pulizia va tuttavia tenuto presente che la cute dei bufali si differenzia da quella dei bovini per la ridotta presenza di ghiandole sudoripare (il loro numero sarebbe pari a circa 1/10 di quello dei bovini) che li spinge a bagnarsi e rotolarsi nel fango con un'alta frequenza soprattutto durante la stagione calda al fine di ottimizzare la termoregolazione (De Rosa et al., 2015). Per questo motivo, le zone del corpo imbrattate devono essere interpretate positivamente se presentano fango, mentre la presenza di feci o sporcizia di altra natura possono essere interpretate come conseguenza di una alterazione dello stato di salute dell'animale o di problematiche manageriali (bassa frequenza di rinnovo della lettiera o elevata densità di animali nel *paddock*); queste ultime possono rappresentare fattori di rischio per lo sviluppo di patologie e disordini di varia natura. E' oramai notorio la correlazione esistente tra la pulizia degli arti posteriori e della mammella con presenza di mastite subclinica e clinica nella vacca da latte (Munoz et al., 2008), così come l'associazione tra la presenza di nutrito imbrattamento delle porzioni distali dell'arto e la comparsa di infezioni interdigitali sia nella vacca sia nella bufala (Blowey, 2004; Guccione et al., 2016b).

Tab.4- Descrizione dei criteri di valutazione del *cleanliness score* in bovini secondo lo schema di Schreiner and Ruegg (2002).

Score	Descrizione
1	Completamente priva di sporcizia o ne ha poca
2	Leggermente sporca
3	In gran parte coperto di sporcizia
4	Completamente ricoperto di sporco incostrato

Tab.5- Descrizione dei criteri di valutazione del *cleanliness score* in bufale mediterranee secondo lo schema di Nielsen (2011) modificato da Guccione (2016).

Score	Descrizione
1	Poca o nessuna sporcizia sopra la banda coronarica
2	Leggeri spruzzi al di sopra della banda coronarica
3	Letame incrostato al di sopra della banda coronarica, ma pelo ancora visibile
4	Solide placche di letame che si estendono ben oltre il garretto

- **GRADO DI ZOPPIA**; la presenza di disordini podali rappresenta il principale problema associato ad uno scarso benessere nelle moderne stalle da latte (EFSA, 2009). Il fatto stesso che gli animali alterano la loro andatura indica che una condizione algica sottostante si è

instaurata. Vacche con fessurazione dell'unghione hanno dimostrato possedere livelli di cortisolo elevati e solo dopo somministrazione di anestetico locale hanno aumentato il carico del peso sulla gamba interessata con un miglioramento conseguente del grado di zoppia (Belge et al., 2004; Rushen et al., 2007; Flower et al., 2008). Le lesioni della porzione cornea del piede e della pelle interdigitale possono portare ad iperalgesia (Whay et al., 1997, 1998), ossia una maggiore sensibilità al dolore come dimostrato da Whay e collaboratori (1998) a causa di una diminuzione della soglia nocicettiva del dolore. Gli animali affetti da disordini podali subiscono una serie di cambiamenti comportamentali: sono meno attivi (O'Callaghan et al., 2003), riducono il tempo totale trascorso a mangiare, riducono il numero di pasti al giorno, l'assunzione di sostanza secca (Bach et al., 2007), si stendono più a lungo e si alzano o si abbassano meno frequentemente (Cook et al., 2004), ma soprattutto alterano la loro andatura. Tali alterazioni sono valutate mediante scale di punteggio che interpretano il grado zoppia connesso alla patologia (*lameness score*). Attualmente due differenti scale sono presenti in letteratura nel bovino: quella di Sprecher e collaboratori (1997), che ha proposto una scala a cinque punti (da 1 a 5, 1:normale; 5:zoppia severa); e quella di Barker e collaboratori

(2010) che hanno proposto una scala a quattro punti (da 0 a 3, 0: buona locomozione; 3: zoppia severa). La prima ad oggi è quella che trova maggiore applicazione a livello mondiale (Tabella 6).

Tab. 6 – Criteri utilizzati per assegnare un punteggio e una descrizione clinica per il bovino.

SCORE	DESCRIZIONE CLINICA	CRITERI DI VALUTAZIONE
1	Normale	L'animale si alza e cammina con una postura della schiena normale. La sua andatura è normale.
2	Zoppia lieve	L'animale ha una postura della schiena normale, ma sviluppa una postura ad arco mentre cammina. La sua andatura rimane normale.
3	Zoppia moderata	Una postura ad arco della schiena è evidente sia in piedi che quando cammina. La sua andatura è influenzata ed è meglio descritta con passi brevi di uno o più arti.
4	Zoppia	Una postura ad arco della schiena è sempre evidente e l'andatura è meglio descritta compiendo un passo alla volta. La mucca scarica il peso su uno o più arti / piedi.
5	Zoppia severa	L'animale dimostra inoltre l'incapacità o il rifiuto a sopportare il peso su uno o più dei suoi arti / piedi.

Per quanto riguarda la bufala, solo recentemente è stata dimostrata, per la prima volta, la presenza di patologie podali quali malattia della linea bianca, flemmone, dermatite e iperplasia interdigitale associate ad alterazione del benessere animale e zoppia (Guccione et al., 2016b). Fino ad ora le patologie podali nel bufalo erano considerate virtualmente assenti (Cammarano e Marino, 2003) e solamente disordini podali (i.e. unghione a cavatappi e sovracrescita), non in grado di influenzare negativamente il benessere degli animali affetti (e con questo il grado di zoppia), sono stati descritti. In assenza di altri riferimenti validi per la bufala, nello studio è stata adottata la scala a 5 punti di Sprecher e collaboratori (1997).

Tecniche di monitoraggio del benessere

Oggi giorno l'impiego di sistemi ed apparecchiature per la rilevazione del comportamento animale sta trovando largo impiego nei sistemi di allevamento intensivo, permettendo di coadiuvare alcuni dei problemi manageriali connaturati al sistema di allevamento stesso. Tali dispositivi permettono un monitoraggio indiretto delle mandrie particolarmente numerose e altrimenti difficilmente gestibili, eliminando gli effetti della presenza fisica dell'osservatore sul comportamento degli animali quando ci si riferisce a parametri indicativi di benessere come la frequenza di alimentazione o distanze percorse (Martin e Bateson, 2007; Albertini et al., 2008).

Oltre al vantaggio di limitare l'effetto dell'osservatore, le valutazioni indirette, se confrontate con quelle eseguite direttamente dall'operatore, consentono la registrazione di una grande quantità di dati e per lungo tempo, permettendo in oltre un' analisi in differita delle stesse.

Alcuni degli strumenti più comuni attualmente in uso nelle aziende zootecniche per il monitoraggio diretto ed indiretto del benessere animale sono rappresentati da: telecamere di monitoraggio in sala parto, *robot* di mungitura, podometri, sistemi di individuazione GPS, collari per la rilevazione dei calori, monitoraggio remoto del parto, sistemi di “zootecnica di precisione”. Le applicazioni relative al monitoraggio animale, per ognuno di questi sistemi, risultano di particolare interesse e potrebbero fornire informazioni indispensabili per individuare o creare tecniche di allevamento sempre più sostenibili nella scelta delle soluzioni strutturali e impiantistiche nonché ispirate al mantenimento di benessere clinico degli animali.

Uno degli esempi più comune di monitoraggio della mandria in tempo reale è costituito, come detto, dall'utilizzo di telecamere nell'area dell'azienda deputata alla sala parto. Tramite un nuovo sistema innovativo è possibile essere avvisati, ricevendo una chiamata GSM sul cellulare, e verificare in tempo reale la veridicità del parto, mediante la visualizzazione diretta su *smartphone* o *tablet*. Un sensore radio viene applicato sulla vulva

dell'animale; al momento della dilatazione delle labbra lo strumento invia il segnale alla centralina che contatta i numeri telefonici pre-settati e attiva una sirena posizionata in azienda per allertare il personale. La centralina deve essere posizionata nei pressi della sala parto ad una distanza di massimo 50 metri dall'area dove sono presenti gli animali da monitorare (Combivox, Italia).

Fig.1 – Rappresentazione grafica Birth Video Alert.



Riguardo i sistemi di monitoraggio automatizzato del parto, va menzionato quanto recentemente sviluppato da un gruppo di ricercatori italiano che ha introdotto nell'allevamento da latte un dispositivo di monitoraggio remoto (Palombi et al., 2014). L'idea si basa sull'impiego di una stazione ricevente, collocata esternamente all'area del parto, e da un cilindro dotato di sensore e trasmettitore inserito nel canale vaginale. Quando si avvia il secondo stadio di travaglio, le contrazioni provocano l'espulsione della sonda e in questo modo si attiva un segnale radio,

raccolto da una stazione ricevente in grado di inviare un segnale che raggiunge il *computer* o il cellulare dell'allevatore. Il monitoraggio remoto riduce le complicanze al parto, rendendo possibile la sincrona presenza di un Medico Veterinario o di personale aziendale in concomitanza dell'evento.

Fig.2 – Sonda contenente rilevatore e trasmettitore, che si inserisce nella vagina dell'animale nell'imminenza del parto (Palombi et al., 2014).



Il continuo miglioramento tecnologico pertinente a questo settore, si è incentrato principalmente nel superare le limitazioni strumentali e ha offerto necessariamente stimoli per la progettazione di dispositivi sempre più affidabili e versatili, nel peso e nelle dimensioni e adattabili a qualsiasi specie animale. Un esempio di quanto detto è rappresentato dalla creazione dei podometri di seconda generazione. Si tratta di strumenti che, grazie alla

presenza di un accelerometro a tre assi al loro interno, riescono a monitorare diverse attività compiute dall'animale, tra cui:

- *il numero di passi orari eseguiti*; utile soprattutto nella rilevazione dei calori; infatti le vacche durante l'estro aumentano l'attività motoria con una percentuale superiore al 70% rispetto alla media dei 10 giorni precedenti (Chanvallon et al., 2014).

- *la posizione dell'animale*; applicando uno di questi accelerometri sull'arto (anteriore o posteriore) di una bovina, è possibile ottenere la posizione dell'arto (orizzontale, verticale, inclinato) e capire se la bovina è ferma o in movimento. La registrazione di questo valore e la successiva analisi permette così di ottenere, in automatico, il tempo trascorso dalla bovina in piedi, senza camminare e il tempo che la bovina dedica al riposo in cuccetta con la possibilità di conoscere anche tutte le caratteristiche del riposo (eventuali posizioni di lateralità assunte durante il riposo, frequenza e durata dell'atteggiamento). L'attività di riposo ha una funzione estremamente significativa per le vacche da latte ed influisce sui livelli di produzione lattea. Devono trascorrere, infatti, almeno 12 ore al giorno distese affinché si possa parlare di management ottimale e di benessere rispettato (DFC-NFACC, 2009).

Va tuttavia ricordato che, diverse possono essere le superfici destinate al riposo degli animali (e.g. cuccette con materassino in gomma, cuccette in cemento ricoperte di paglia, cuccette in sabbia) e nel monitoraggio del corretto management va ricordato come il tempo medio trascorso su cuccette morbide sia circa 2 ore al giorno in più rispetto a quello trascorso su cuccette in cemento (Haley et al., 2000). Va infine ricordato che i tempi a riposo degli animali allevati in maniera estensiva e intensiva non hanno differenza significativa (Fregonesi and Leaver, 2002).

- *dati relativi alle zoppie*; i più recenti dispositivi sono infatti in grado di misurare sia la lunghezza del passo compiuto sia il tempo necessario a percorrerlo. Alsaad e collaboratori (2015) hanno valutato questi parametri con un podometro di ultimissima generazione (RuminWatch®) riscontrando una media dell'errore di misura relativa inferiore al 10% se comparata ad un *gold standard* d'osservazione operatore-dipendente (videoregistrazione).

I podometri possono restituire informazioni (fruibili in tempo reale o stoccabili su supporti elettronici) in grado di dare indicazioni precise ed affidabili del comportamento della bovina (Müller and Schrader, 2003; McGowan et al., 2007; O'Driscoll et al., 2008; Darr and Epperson, 2009;

Robert et al., 2009). Tuttavia questi presentano comunque alcuni limiti: il segnale fornito non distingue la posizione dell'animale all'interno del *paddock* o delle stalle, questo infatti potrebbe essere disteso nella corsia, piuttosto che in prossimità della rastrelliera falsando conseguentemente le informazioni relative al grado di adattamento al sistema di cuccette utilizzato e al comfort provato dall'animale (Munksgaard et al., 2005).

Fig.3 – Podometro applicato all'arto anteriore di una bovina (esempio riportato a scopo illustrativo, TDMS.r.l.).



Un altro sistema automatizzato che contribuisce ad un aumento dello stato di salute e di benessere negli animali è costituito dal sistema di mungitura automatizzato (SMA). Infatti con l'introduzione di questo

sistema all'interno dell'azienda si assiste ad una significativa riduzione della presenza dell'uomo in stalla e aumento delle produzioni (de Koning et al., 2002). Questo sistema dato l'autonomo accesso alla stazione di mungitura mira a ottimizzare il benessere della bovina permettendo una frequenza di mungitura più vicina alle condizioni naturali. Viene meno dunque l'intervento dell'operatore per la movimentazione verso la sala di mungitura e di conseguenza anche la permanenza delle bovine in sala d'attesa per lunghi periodi; ciò consente di eliminare diversi punti critici: stazionamento prolungato negativo per la salute del piede; stress sociale, eliminando il contatto forzato tra animale e animale in fase di pre-mungitura vengono meno i comportamenti agonistici che notoriamente si instaurano tra animali di "rango differente" (Jacobs and Siegford, 2012). Al contrario, con il *robot* la bovina può usufruire di molto spazio riuscendo così a evitare la maggior parte dei conflitti, soprattutto se la dimensione dell'area antistante alla postazione è di dimensioni adeguate. La possibilità che la bovina possa adattare il numero di mungiture giornaliere al proprio livello di produzione rappresenta sicuramente un vantaggio soprattutto per gli animali più produttivi in quanto vi è la possibilità che sia consentito loro di usufruire del *robot* di mungitura più volte al giorno; infatti vacche primipare hanno registrato una media di mungitura volontaria di 3 volte/die (Abeni et al., 2005; Munksgaard et al., 2011), con intervalli di mungitura

compresi tra 6 e 12 ore (Gygax et al., 2007). Per quanto riguarda i processi infiammatori a carico della mammella, la mungitura ripetuta più volte al giorno rappresenta un utile sistema di prevenzione e di supporto alla terapia. Inoltre la pulizia dei capezzoli in tempi successivi induce un eccellente effetto di stimolazione, permettendo la produzione di una quantità di ossitocina sufficiente a regolare l'eiezione di tutto il latte. Il sistema automatizzato permette anche all'allevatore di valutare altri aspetti sul latte riguardante la salute della vacca, come: il colore, la conduttività elettrica e la conta delle cellule somatiche. Dal punto di vista del benessere animale se da un lato il SMA può avere effetti benefici sulla libertà degli animali di controllare e gestire le loro attività quotidiane, dall'altro può rappresentare una fonte di stress in quanto le postazioni sono singole, pertanto l'esperienza di una mungitura isolata rispetto al resto delle compagne può risultare poco gradita all'animale. Inoltre, sebbene i sistemi di mungitura automatizzati permettono un livello di benessere degli animali più elevato rispetto ai sistemi convenzionali (Jacobs and Siegford, 2012), sembrano esporre a problematiche clinico-manageriali non trascurabili come: aumento del tempo di adattamento della mandria al sistema (può variare da tre a quattro settimane con differenze relative ad età ed esperienza dell'animale (Weiss et al, 2004; Munksgaard et al, 2011); l'investimento necessario al suo acquisto del SMA (costo medio di circa

200'000 euro contro i 48'000 euro necessari per una sala di mungitura convenzionale); la conformazione dei capezzoli difforme tra animali (in alcuni soggetti la dimensione e la posizione della mammella e delle sue strutture possono impedire il corretto funzionamento dell'apparecchiatura determinando un incremento delle percentuali di capezzoli persi conseguenti a traumi meccanici e mastiti arrivando ad interessare con questi fenomeni fino al 26% dei soggetti in azienda-Bach e Busto, 2005); difficoltà ad incrementare gradualmente il numero di capi in allevamento vista la correlazione tra SMA e numero di mungiture possibili. Non va infatti dimenticato che ogni stazione permette non più di circa 150 mungiture al giorno, che, se distribuite, ad esempio, in 2,5 per singolo animale, può soddisfare il fabbisogno di un allevamento di 60 capi (Trebeschi G., 2008). Questa situazione espone gli allevatori al fatto che in seguito ad un aumento indiscriminato del numero dei capi, alcuni animali potrebbero essere munti un numero insufficiente di volte con conseguenze gravi sulla salute della mammella.

Nel bufalo tale sistema non trova una comune applicazione in relazione presumibilmente dell'elevato costo del sistema. Comunque nell'unica azienda disponibile sita nel comprensorio di Capaccio (SA) i *robot* automatici sembrano offrire eccellenti prestazioni applicate ad una mandria di circa 400 animali.

Fig.4 – Esempio di SMA volontario senza la presenza dell'uomo.



Altro sistema di monitoraggio della mandria è rappresentato dall'“osservatore mobile di attività del bovino” (OMAB); quest'ultimo è stato sviluppato da Nagl e collaboratori (2003) e consente di valutare continuamente lo stato di salute degli animali in azienda e/o al pascolo mediante l'utilizzo di un collare contenente al suo interno: un'unità GPS, un pulsossimetro, un sensore di temperatura corporea e ambientale, un trasduttore rilevante la respirazione. L'unità GPS è in grado di fornire sia il posizionamento degli animali nello spazio, sia di registrare dati relativi al movimento ed attività (e.g. distensione a terra, ruminazione a terra, assunzione alimento, camminata e stare in piedi). Di queste ultime può indicare se sono limitate e/o discontinue nel tempo (Moen et al., 1996). Un

sistema *CoreTemp* commerciale, ovvero un trasmettitore ingeribile delle dimensioni di un bolo, controlla la temperatura corporea in continuo. Il bolo trasmette in modalità *wireless* i dati di temperatura ad un'unità ricevente collegata all'OMAB. I boli sono apparati di rilevazione continua della temperatura ruminale, generalmente di forma cilindrica, materiale inerte e spesso dotati di "alette" che ne riducono il rischio di rigurgito e il passaggio negli altri distretti dell'apparato digerente. L'utilizzo di tali dispositivi, in condizioni sperimentali, ha permesso per esempio di chiarire il tempo medio intercorrente tra la comparsa di un'infezione e il manifestarsi dell'ipertermia febbrile (Fajt V et al. 2004). Un pulsossimetro misura la saturazione di ossigeno nel sangue e la frequenza cardiaca tramite una marca auricolare applicata all'animale. Questi dati vengono memorizzati nella memoria esterna, e trasmessi all'OMAB mentre l'animale è lontano dalla stazione ricevente. Infine la respirazione può essere valutata collegando un trasduttore ad una narice del naso. Quando l'animale espira si ha un aumento della temperatura rilevata dal trasduttore rispetto a quella rilevata dal sensore ambientale, questo cambiamento quindi indica la fase espiratoria. L'insieme di tutti questi parametri permettono un tempestivo intervento da parte del Medico Veterinario, quando questi si discostano dai valori fisiologici, permettendo così un

continuo monitoraggio dello stato di salute e quindi del benessere di mandrie concentrate in azienda o al pascolo.

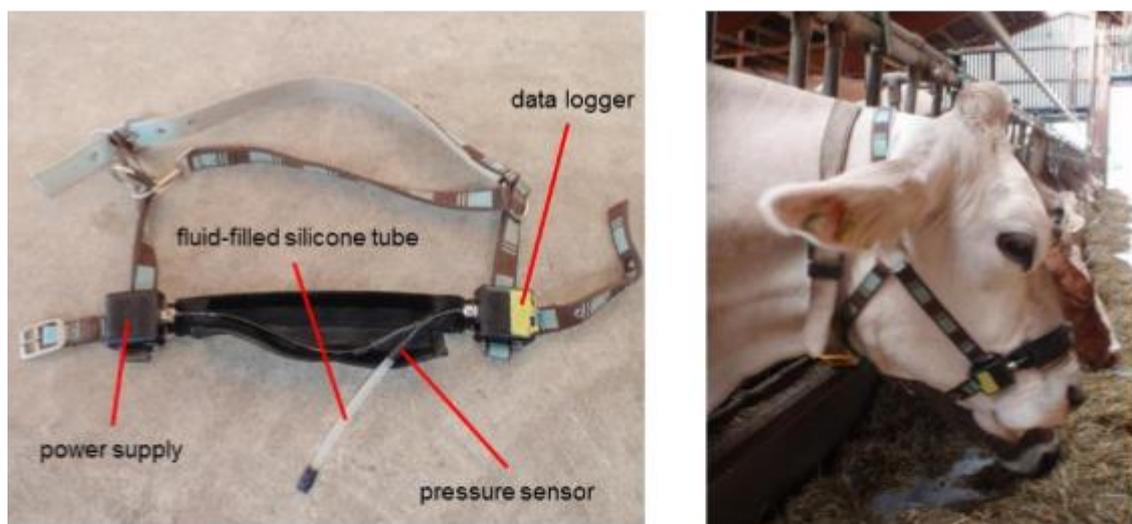
Fig.5 – Toro a cui è stato applicato il dispositivo OMAB®.



Continuando con la descrizione dei sistemi di monitoraggio e delle attività e welfare dei grossi ruminanti, va sottolineato come recentemente sia stato sviluppato un nuovo dispositivo per la valutazione dettagliata dei comportamenti di prensione dell'alimento e della ruminazione dei bovini (RuminWatch®) (Nydegger et al., 2011). Questo è composto da una cavezza con incorporato un sensore di pressione disposto trasversalmente rispetto al muso dell'animale in grado di misurare la quantità e l'intensità degli atti masticatori, di prensione e di deglutizione compiuti. Tale strumento si basa sul principio della variazione delle forze meccaniche

generate su un tubo di silicone posizionato nella cavezza a livello del naso. Il sensore di pressione incorporato all'interno del tubo, quindi invia il segnale che viene registrato in entrata e decodificato in numeri. In questo modo è possibile ottenere informazioni sulla durata e sul numero delle ruminazioni e della prensione di alimento. Tale sistema di controllo consente, quindi, una rapida individuazione dei problemi di salute, malattie metaboliche e deficit alimentari indicati dalla ridotta attività di ruminazione e assunzione di cibo.

Fig.6 – Testiera RumiWatch contenente un tubo di silicone pieno di liquido con sensore di pressione integrato e due unità elettroniche applicato su un animale in azienda.



Non va dimenticato come negli ultimi anni, il sensibile sviluppo dell'elettronica ha portato ad un miglioramento delle procedure impiegate nel controllo degli animali. Oggigiorno, infatti, sono presenti ad esempio dispositivi di localizzazione, identificazione e monitoraggio degli animali in sistemi di allevamento intensivo basati su tecnologia *Radio Frequency*

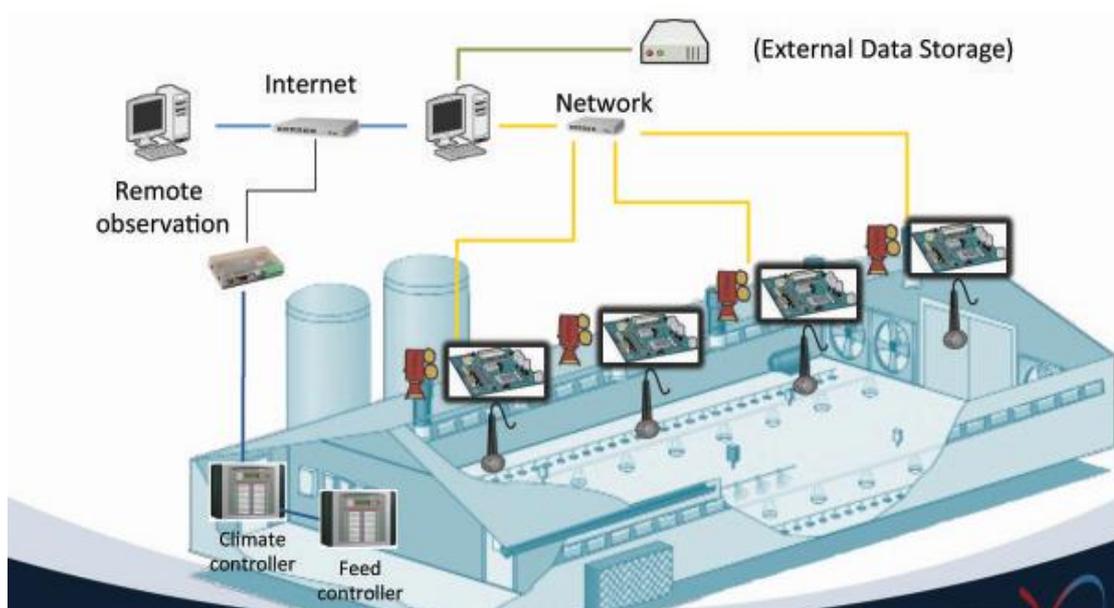
IDentification (RFID) (Trevharten e Michael, 2008; Ng et al., 2005; Eradus e Jansen, 1999; Bass et al., 2008; Bowling et al., 2008; Caja et al., 2005; Collin et al., 2002; Voulodimos et al., 2010; Shanahana et al., 2009; Barbari et al., 2008). La tecnica RFID, in generale, è composta da un trasmettitore (Tag) e da un lettore (*reader*); quest'ultimo ha la funzione di leggere i dati registrati nel Tag ed è composto da una memoria di stoccaggio dati e da un'antenna. Questa coppia di dispositivi, attualmente in commercio, è comunemente inserita in collari, orecchini o sottocute, e consente l'individuazione certa degli animali quando questi sostano in prossimità di un punto o di una zona in cui è installato un reader. Il sistema basato sulla tecnologia passiva RFID è stato utilizzato con successo in sistemi di bagnatura individuale dei suini (Barbari, 2009) ed a gruppi di bovini in prossimità di zone di alimentazione (Eigenberg et al., 2005). Esistono Tag passivi e attivi. I primi sono privi di batteria e funzionano solo se sono sufficientemente vicini ad un *reader* che emana impulsi elettromagnetici. I secondi rappresentano un sistema più interessante rispetto ai Tag passivi per lo studio del comportamento degli animali (Barbari et al., 2008). Questi possiedono un impianto di alimentazione ed inviano continuamente impulsi che vengono ricevuti dai *reader*. Il sistema permette la raccolta dati in formato digitale sulla posizione di ciascun animale, sebbene non fornisca informazioni sulle attività che esso sta

svolgendo. I Tag attivi vengono utilizzati in due sistemi differenti: *il Sistema Real Time Location (RTLS)* e il sistema detto *marker*. Il RTLS è costituito da dispositivi *wireless* (antenne e ripetitori *hub*) e da un *software* che rileva continuamente la posizione in tempo reale degli animali dotati di Tag attivi. L'altro sistema, invece, richiede *marker* posizionati in diversi punti di interesse dell'azienda e lettori che inviano e ricevono dati sino a 100 metri di distanza. Ogni lettore garantisce l'identificazione di un elevato numero di Tag collocati simultaneamente all'interno dell'area di controllo ("*RuBee Livestock Visibility Network*", 2006, <http://www.rubee.com/Info/>, accessed on Oct.30 2010). Monitorare se un animale è in mangiatoia o la sua attività motoria può fornire indicazioni utili e precise sulle condizioni sanitarie del soggetto individuandolo se malato. I primi segni di malessere sono infatti disoressia e anoressia, oltre alla diminuzione del movimento.

Discutendo di nuove tendenze tecniche nell'allevamento di bovine da latte non si può evitare di parlare della zootecnia di precisione (o Plf, *precision livestock farming*). Si tratta di un complesso di procedure e di dispositivi in grado di permettere il monitoraggio continuo, anche on line, delle performance, della salute e del comportamento di ogni singolo animale e della mandria. L'obiettivo è quello di ottimizzare e facilitare il lavoro dell'allevatore. In dettaglio, la zootecnia di precisione utilizza, per il proprio monitoraggio, sensori tecnologicamente avanzati e già disponibili

in svariate applicazioni industriali. Ad esempio, webcam e relativi *software* per l'analisi dell'immagine (per misurare il *body condition score* o per vedere se sono in atto zoppie), microfoni più *software* per l'analisi del suono (come il rilevamento dei colpi di tosse per controllare le patologie respiratorie), pedometro o collare per vedere se il comportamento dell'animale può essere indicativo di zoppia, o di calore. Un altro strumento costituente la Plf è il *robot* di mungitura che permette di controllare quantità e qualità del latte prodotto da ogni singola bovina.

Fig.7 – Rappresentazione di un sistema di controllo Plf (Dipartimento di Scienze veterinarie -Università di Milano).



Il nuovo dispositivo RumiWatch®

Come già accennato il comportamento animale e la valutazione di alcune grandi funzioni organiche (GFO) rappresentano importanti indicatori di benessere della mandria (Cook et al., 2005; Urton et al., 2005; Chapinal et al., 2011; Viazzi et al., 2013). GFO quali ruminazione, assunzione di alimenti ed acqua e locomozione sono alcuni dei parametri considerati utili per un'identificazione indiretta e precoce di malessere metabolico delle vacche da latte; tuttavia per ovvie ragioni logistiche la loro determinazione risulta essere spesso indaginosa in sistemi di allevamento intensivo costituiti da un ingente numero di animali (Zehner et al., 2012; Alsaatod et al., 2015; D'Andrea et al., 2015). Recentemente è stato sviluppato un nuovo sistema automatizzato di controllo dello stato sanitario della mandria chiamato RumiWatch® (RW), ideato e sviluppato dall'Istituto di Ricerca

Agroscope (Svizzera) in collaborazione con l'azienda ITIN + HOCH (Svizzera).

Tale dispositivo si basa sull'uso combinato di una testiera e di un podometro dotati di accelerometro tridimensionale in grado di definire alcuni parametri oggettivi indicativi del benessere della vacca quali: durata e numero di ruminazioni nell'arco della giornata, durata del tempo di assunzione dell'alimento e dell'acqua e numero di atti di masticazione e suzione (testiera), tempo trascorso a terra, camminando, in piedi, numero di volte in cui l'animale si alza e si abbassa, numero di passi e durata (podometro).

Nel dettaglio il dispositivo si compone di:

- RumiWatch *Manager* (PC); il *software* che consente di avviare e controllare i dati misurati, nonché per gestire e visualizzare i dati raccolti. Il computer che esegue il RumiWatch *Manager* comunica in modalità *wireless* con le Unità RumiWatch (testiera e podometro).

- RumiWatch *Converter*; *software* il cui scopo è quello di valutare manualmente e consolidare i dati grezzi in modo personalizzato.

- RumiWatch *Reader*; consente una comunicazione *wireless* e la trasmissione dei dati tra le unità RumiWatch (NBS, contapassi) e un PC. La frequenza di trasmissione è di 2,4 GHz. Il RumiWatch *Reader* deve essere collegato a un'interfaccia USB (porta) sul PC (vedi figura 8).

Fig.8- Collegamento RumiWatch *Reader* al Pc.



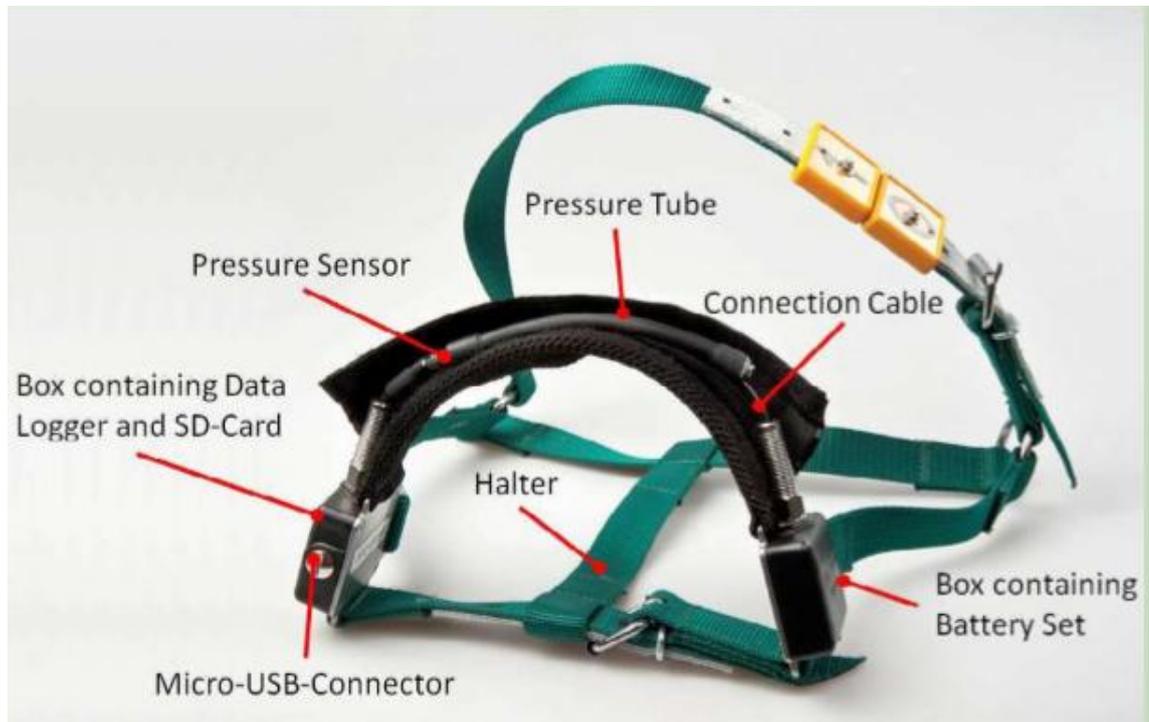
RumiWatch Cavezza

Il sensore contenuto nella cavezza permette di rilevare i movimenti della mandibola dell'animale e comprende i seguenti componenti come indicato in figura 9:

- tubo di pressione riempito di liquido;
- sensore di pressione (alla fine del tubo);
- box (sinistra) contenente il gruppo batterie;
- box (destra) con interfaccia USB contenente il *data logger*, un sensore di accelerazione, un sensore di temperatura e un supporto per micro SD - card

- cavo di collegamento tra i due box
- cavezza

Fig.9- Componenti della cavezza RW.



La porzione della cavezza situata sul muso e la porzione situata sul collo sono entrambe regolabili, in modo da renderla adattabile su qualsiasi animale, prestando attenzione a non limitare i movimenti della masticazione e della deglutizione degli animali. La porzione destinata al collo dovrebbe rimanere ferma senza esercitare pressione sulla regione laringo-faringea. La porzione destinata al muso può essere regolata in modo tale da consentire alla vacca di muovere liberamente la mascella e allo stesso tempo, di esercitare una certa pressione sul tubo di pressione. In

condizioni di campo, la casa madre suggerisce che la corretta posizione della cavezza possa essere verificata valutando lo spazio disponibile tra quest'ultima ed il naso dell'animale che a sua volta deve essere sufficiente all'inserimento di una mano di un uomo adulto con facilità.

La cavezza dispone di una componente tecnologica costituita da: sensori di pressione, capaci di rilevare i movimenti della mandibola dell'animale; sensori 3D di accelerazione, per rilevare i movimenti della testa dell'animale; La registrazione dei dati raccolti avviene in tempo reale nel dispositivo con una frequenza di 10 Hz su una scheda SD prima di essere riportati su PC tramite interfaccia USB. Un report orario riguardo il comportamento dell'animale viene riportato in maniera autonoma al PC senza fili. L'energia necessaria per la raccolta dei dati e la loro scrittura sulla scheda SD è fornita da un *set* di batterie a basso consumo.

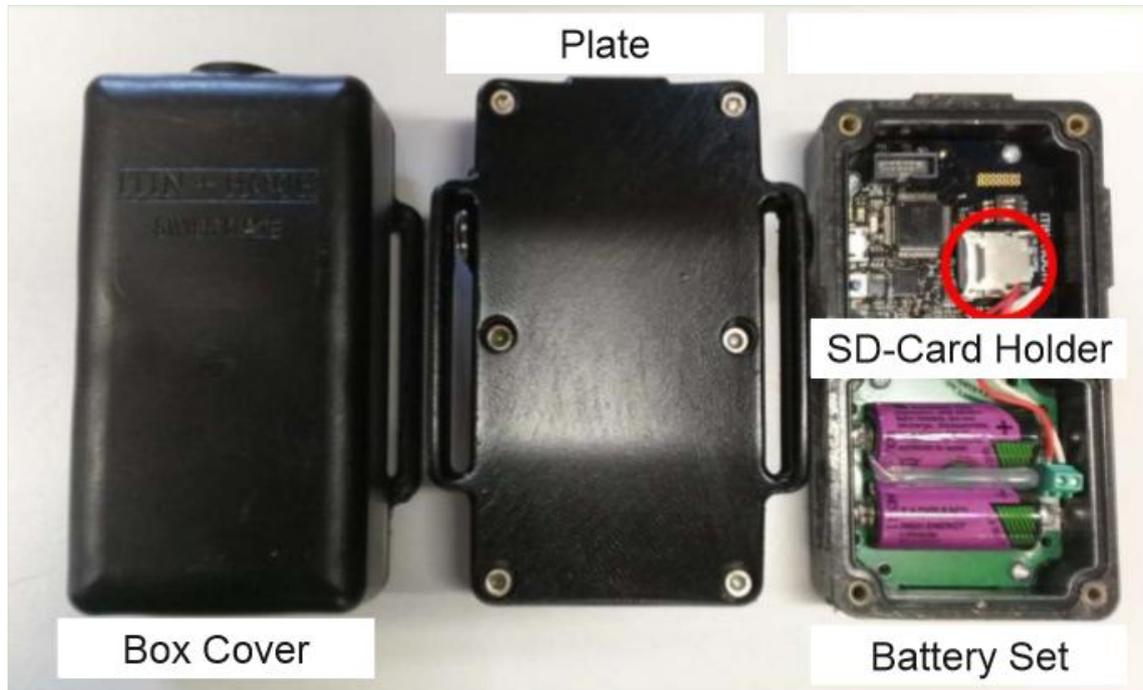
RumiWatch Podometro

Il podometro consente di valutare il movimento dell'animale ed è costituito dalle seguenti componenti (figura 10):

- box contenente *data logger*, un sensore di accelerazione, un sensore di temperatura, una *micro SD-card*, un'interfaccia *micro USB* e un *set* di batterie
- piastra (plastica)

- nastro regolabile

Fig.10- Componenti del podometro RW (User Guide, RumiWatch 2012).



Il podometro deve essere montato sull'arto posteriore dell'animale. La sua installazione a mezzo di velcro regolabile, deve essere fatto in modo da assicurare che sia saldamente fissato e non possa scivolare via. Ciò nonostante l'applicazione del contapassi non dovrebbe produrre alcuna lesione dovuta al fatto che possa essere eccessivamente stretta. Durante l'applicazione del podometro sull'animale, occorre prestare attenzione ad orientarlo correttamente: il logo "ITIN + HOCH" deve essere rivolto verso l'alto al fine di assicurare la corretta acquisizione dei dati di movimento.

Il podometro dispone di una componente tecnologica costituita da: sensore 3-D di accelerazione, per rilevare i movimenti delle gambe degli

animali. La registrazione dei dati raccolti avviene in tempo reale all'interno del *data logger* del podometro. I dati, essendo registrati con una frequenza di 10 Hz, possono essere salvati su una scheda *micro SD* prima di essere trasmessi a un PC tramite l'interfaccia *micro USB*. Un report orario del comportamento animale può essere trasmesso in modalità *wireless* a un PC. L'energia necessaria per la raccolta dei dati e la loro scrittura sulla scheda SD è fornita da un *set* di batterie a basso consumo.

Secondo quanto indicato dalla casa costruttrice (User Guide, RumiWatch 2012) l'uso combinato dei due apparecchi garantirà la corretta individuazione di 25 attività comunemente svolte dagli animali (Tabella 7), quando tali parametri avranno ricevuto una validazione scientifica. In linea generale, questi ultimi possono essere divisi in 5 categorie: presa d'alimentazione, ruminazione, camminata, stato in piedi e stato a terra. (User Guide, RumiWatch 2012).

Tab.7 – Attività decodificate e riconosciute dal nuovo dispositivo RumiWatch®.

RumiWatch Cavezza	RumiWatch Podometro
Tempo di ruminazione	Tempo a terra
Tempo di prensione1	Tempo in piedi
Tempo di prensione2	Tempo di camminata
Tempo di abbeverata	Alzarsi
Altra attività di masticazione	Stendersi
N° masticazioni durante la ruminazione	Evento a terra
N° masticazioni durante la prensione1	Evento in piedi
N° masticazioni durante la prensione2	Evento camminata
Atti deglutizione acqua	N° di passi
N° di boli	Durata del passo
N° masticazioni per minuto	Lunghezza del passo
N° masticazioni per bolo	
Tempo con la testa alzata	
Tempo con la testa abbassata	

L'impiego di questo dispositivo su larga scala, all'interno di allevamenti di tipo intensivo, potrebbe garantire la rapida individuazione dell'alterazione delle attività fisiologicamente svolte dall'animale garantendo agli allevatori, facenti uso, un costante monitoraggio della mandria con una sensibile riduzione dei tempi di intervento nel caso in cui delle anomalie vengano riscontrate.

Fig.11- Corretta applicazione del RW.



I sensori di pressione, temperatura e posizione presenti su entrambi i dispositivi sono in grado di misurare fino a 10 *input/sec*; sulla base di questi dati incamerati con l'aiuto di algoritmi matematici, l'unità RW può generare rapporti di attività dell'animale entro intervalli di monitoraggio compresi tra 0.6⁻⁴ h e 24 h.

La trasmissione dei dati incamerati all'interno dei dispositivi avviene in tempo reale mediante tecnologia *wireless*, ad un dispositivo mobile di ricezione dotato di porta USB chiamato *RW reader*; quest'ultimo oltre a garantire la comunicazione tra gli apparecchi applicati sull'animale ed il computer, permette di visualizzare le attività svolte dai soggetti su monitor attraverso il *software RW Manager*.

I dati registrati e stoccati all'interno della cavezza e podometro mediante impiego di scheda SD, possono essere copiati direttamente all'interno del computer; una volta salvati sul dispositivo, i dati ottenuti devono essere convertiti mediante programma *RW Converter* in dati numerici utilizzabili da tutti i più comuni programmi di gestione ed elaborazione dati (e.g. Excel®, SPSS®, NCSS®, etc.)

PARTE SPERIMENTALE

Materiali e Metodi

Reclutamento animali e caratteristiche aziendali

Il presente studio è stato condotto su 15 bufale mediterranee primipare, sane, di età compresa tra i 28 ed i 32 mesi, allevate in un'azienda della Provincia di Caserta (Campania, Italia) costituita da 450 animali da latte di cui circa la metà in mungitura. Tutti i soggetti sono stati reclutati tra Maggio 2015 e Ottobre 2015 e sono stati scelti mediante campionamento per randomizzazione semplice. Tutti gli animali sono stati sottoposti a esame obiettivo generale completo per verificare lo stato di salute al momento della sperimentazione. I soggetti arruolati erano custoditi in un *paddock* coperto di $\sim 225 \text{ m}^2$ ($\sim 15 \text{ m} \times 15 \text{ m}$) condividendo lo spazio con

altri 25 soggetti. Le bufale avevano libero accesso all'acqua di abbeverata ed erano alimentati 3 volte al giorno mediante sistema *unifeed*.

Tutte le procedure svolte sugli animali hanno seguito i principi delle *buone pratiche cliniche* e l'allevatore era a conoscenza, e d'accordo, con tutti i propositi dello studio. Inoltre il progetto di ricerca è stato sottoposto a valutazione da parte dell'*Organismo Preposto al Benessere Animale (OPBA)* del Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II".

Tecnica di validazione

La validazione dei dispositivi Rumiwatch® (RW) (ITIN+HOCH, Liestal, Switzerland) è stata valutata in 3 gruppi di 5 animali ciascuno. Ogni gruppo è stato monitorato per un tempo totale di 5 giorni: i primi 2 sono stati considerati come *tempo di adattamento*, gli altri 3 come *tempo utile per la fase di acquisizione dati vera e propria*.

Il sistema RW impiegato nel presente studio era composto da 2 differenti dispositivi applicati sull'animale: podometro (RWp) e cavezza (RWc) (Figura 12); entrambi erano dotati di accelerometro3-D, per rilevare i movimenti nello spazio dell'arto (ove era applicato) e della testa dell'animale, rispettivamente. Un sensore di pressione era inoltre presente

all'interno della cavezza al fine di evidenziare e numerare i movimenti della mandibola.

Fig. 12- Cavezze e podometri pronti all'installazione sugli animali (foto a sinistra), dettaglio della cavezza n°4 (foto a destra).



La veridicità e la validazione delle informazioni generate del dispositivo è stata valutata mediante l'utilizzo di un sistema di videoregistrazione H/24 (VR) delle attività svolte dagli animali durante il periodo di indagine (*gold standard*). Il corretto funzionamento delle apparecchiature (Figura 13), così come il grado di tolleranza delle primipare alla loro presenza è stata costantemente verificata lungo tutto il periodo di osservazione ad intervalli regolari di circa 2 ore (Figura 14). Una sincronizzazione al secondo, tra il tempo di inizio delle VR e dell'acquisizione dei dati mediante RWp e delle RWc è stata eseguita al momento dell'installazione dei dispositivi sugli animali.

Fig.13- Fase di controllo funzionamento videocamere, mediante schermo di monitoraggio attività di registrazione.



Fig.14- Fase di controllo funzionamento dispositivi RumiWatch® (Cavezza + Podometro) e verifica del grado di tolleranza e benessere delle primipare.



Il dispositivo RW (cavezza + podometro) è stato applicato agli animali opportunamente contenuti all'interno di un travaglio. A ciascun animale è stato quindi assegnato un numero progressivo compreso tra 1 e 5. Per

facilitare l'individuazione dei soggetti all'interno del *paddock*, ciascuno di questi è stato identificato in modo univoco sia tramite l'applicazione di VetRap® (3M™, Minnesota, U.S.A.) e nastri adesivi colorati sui dispositivi (Figura 1,4), sia attraverso l'impiego di appositi pennarelli segna bestiame (Figura 12,15) (Raidez, Erms, Germania). Infine del nastro adesivo è stato inoltre applicato su entrambe le corna di ciascun soggetto, il numero di linee ottenute corrispondeva al numero identificativo assegnato all'animale (Foto 15, 16). Immediatamente dopo essere state bardate, le bufale sono state nuovamente spostate all'interno del *paddock* comunitario. Tutti i sistemi d'identificazione univoca degli animali erano controllati ed eventualmente applicati nuovamente ogni mattina, per tutta la durata del tempo utile alla fase di acquisizione dati.

Fig.15 - Animale identificato in maniera univoca mediante VetRap®, nastri colorati e numerazione sul corpo eseguita mediante pennarelli segna bestiame.



Fig.16- Dettaglio nastro adesivo identificativo applicato alle corna dei soggetti in esame.



Lo studio di validazione del dispositivo RW ha previsto la definizione ed applicazione di due differenti metodologie di indagine, una impiegata per la verifica dei dati ottenuti mediante RWp (*Esperimento 1*), l'altra per il controllo di quelli generati dalla RWc (*Esperimento 2*) come di seguito riportate in dettaglio.

Esperimento 1

Il primo esperimento è stato finalizzato alla valutazione del corretto funzionamento del podometro. I parametri presi in considerazione in relazione all'attività locomotoria svolta dalle bufale sono stati 10 come riportato in tabella 8.

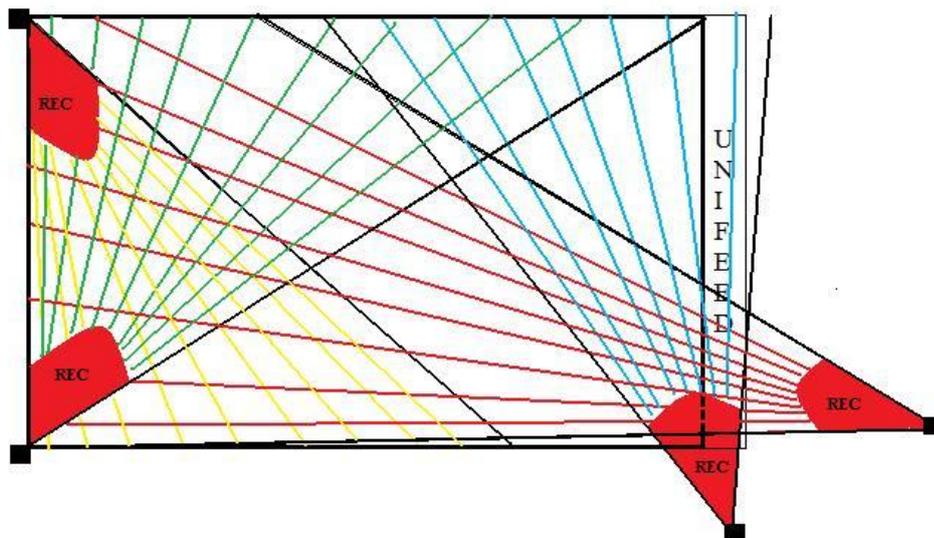
Tab.8 - Definizione dei parametri utilizzati per quantificare l'attività locomotoria (Alsaad et al.,2015).

Parametro	Definizione
Stare a terra	Periodo con il podometro in una posizione superiore a un angolo di 58 ° verso l'asse verticale della durata > 50 s. L'interruzione di questa posizione del podometro per meno di 50 s è identificato e calcolato come alzarsi e stendersi, ma non come uno stare in piedi a parte. Stare a terra è valutato come non interrotto.
Evento camminata	Periodo caratterizzata da almeno 3 passi consecutivi nella stessa direzione (in avanti o all'indietro). Il periodo compreso tra 2 passi non deve superare i 4 s. Gli eventi camminata sono classificati come separati se il tempo tra 2 passi supera i 10 s.
Stare in piedi	Periodi durante i quali la vacca è in piedi ma non camminare; modifica temporanea dell'angolo del podometro superiore a 58 ° verso l'asse verticale per meno di 50 s non è né valutato come stendersi né alzarsi né come un stare a terra aggiuntivo.
Alzarsi	Evento in cui l'angolo del podometro cambia la sua posizione da un angolo > 58 ° verso l'asse verticale per un angolo <58 ° verso l'asse verticale
Stendersi	Evento in cui l'angolo del podometro cambia la sua posizione da un angolo <58 ° verso l'asse verticale per un angolo > 58 ° verso l'asse verticale per una durata di almeno 50 s
Numero di passi	Numero di avanzamento o arretramento dell'arto all'interno di un evento camminata
Tempo a terra	Somma della durata di tutti gli eventi stare a terra che si trovano entro un determinato periodo di registrazione
Tempo di camminata	Somma della durata di tutti eventi camminata che si trovano entro un determinato periodo di registrazione
Tempo fermo in piedi	Somma della durata di tutti gli eventi stare in piedi fermo che si trovano entro un determinato periodo di registrazione
Tempo in piedi	Somma della durata di tutti gli eventi stare in piedi e camminata che si trovano entro un determinato periodo di registrazione

Il *gold standard* impiegato per la verifica dell'attendibilità dei dati ottenuti dal podometro è stata la VR a mezzo di n°4 telecamere e registrazione continua H/24 (HD-Digital Infrared System, Conceptronic, Germany), che hanno ripreso le attività svolte da ciascun gruppo di animali, sia nella fase di adattamento (2 giorni) sia durante il tempo utile all'acquisizione dati (3 giorni). La comparazione tra le immagini ottenute mediante VR e gli *output* ricavati dai RWp, relativamente ai parametri “*stare a terra*”, “*stare in piedi*”, “*alzarsi*”, “*stendersi*”, “*tempo a terra*”,

“tempo in piedi” è stata eseguita su un totale di 24h (utilizzando le ore diurne); mentre per l’“evento camminata”, “tempo di camminata”, “tempo fermo in piedi” e “numero di passi” un totale di 1h è stato utilizzato (somma di tre periodi di osservazione di 20 minuti ciascuno). Questi dispositivi di videosorveglianza sono stati applicati all’esterno del *paddock* di contenimento ma orientati in maniera da avere una visione completa dello spazio a disposizione degli animali (Figura 17).

Fig.17 – Rappresentazione grafica stilizzata della disposizione delle telecamere e del loro angolo di ripresa.



Esperimento 2

Il secondo esperimento è stato finalizzato alla valutazione del corretto funzionamento della cavezza. I parametri presi in considerazione sono stati 5 come riportato in tabella 9.

Tab.9 - Definizione dei parametri utilizzati per quantificare l'attività masticatoria di vacche da latte.

Parametro	Definizione
Attività di ruminazione	Verifica della presenza/assenza di attività di ruminazione
N° boli	Conteggio dei boli rigurgitati entro un determinato periodo di registrazione
N° masticazioni totale durante la ruminazione	Conteggio delle masticazioni durante la ruminazione entro un determinato periodo di registrazione
N° masticazioni per bolo	Conteggio delle masticazioni medie per bolo durante la ruminazione entro un determinato periodo di registrazione
Attività di prensione Alimento	Verifica della presenza/assenza di attività di prensione degli alimenti

Il *gold standard* impiegato per la validazione dei dati ottenuti è stata la VR a mezzo di fotocamera manuale (Nikon Reflex, D3200, Japan) ed è stata eseguita durante un tempo totale di acquisizione dati della durata di 20 minuti, sia per l'attività di ruminazione che per quella di prensione degli alimenti. Al termine delle sperimentazioni la registrazione è stata interrotta e si è proceduto alla rimozione dei dispositivi (Figure 18 e 19).

Fig. 18- Fase di rimozione del podometro.

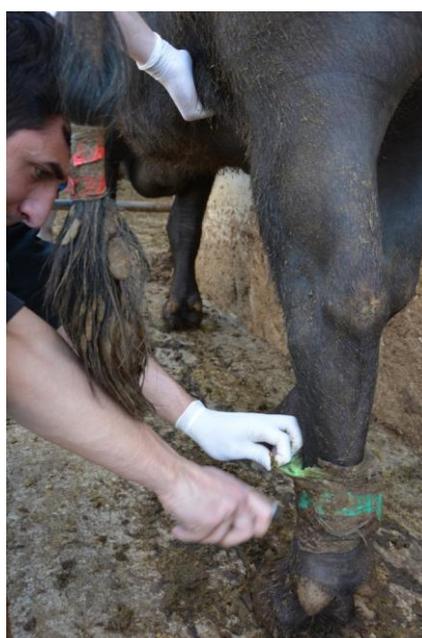


Fig.19- Dispositivi rimossi dopo la fase di acquisizione dati.



Tutti i dati registrati sono stati trasferiti da ciascun sistema di registrazione (cavezza + podometro) al *computer* mediante cavo *micro USB* ed analizzati utilizzando il programma dedicato *RumiWatch Manager 2* (ITIN+HOCH, Liestal, Switzerland). I file sono stati successivamente convertiti dal formato *.RWU* (generato dal programma dedicato) in *.CSV*, tramite il programma dedicato *RumiWatch Converter* (ITIN+HOCH, Liestal, Switzerland). Infine i dati sono stati analizzati impiegando il programma *Excel®* (Microsoft office 2010, Washington, U.S.A.) e specifico *software* di statistica (*NCSS® LLC*, Kaysville, UT). Le VR ottenute durante le varie fasi di acquisizione dati sono state comparate con i risultati forniti dal dispositivo RW (cavezza + podometro) ed analizzate sempre dallo stesso operatore.

Analisi Statistica

Tutti i parametri sono stati analizzati mediante statistica descrittiva *standard* e la loro distribuzione è stata definita utilizzando istogrammi, *plots* di normalità Q-Q e *Shapiro Wilk test*. Tutti i dati sono stati espressi mediante numeri assoluti, percentuali, medie \pm deviazione standard (DS). La comparazione tra dati originati dalla VR e RW (cavezza + podometro) è stata eseguita sul totale degli *output* ottenuti al termine dei periodi di acquisizione dei dati per ciascuna attività. Per i dati dicotomici (e.g. “alzarsi”, “stendersi”, “attività di ruminazione”, “attività di prensione dell’alimento”, etc.), i valori ottenuti dall’algoritmo interpretativo del dispositivo RW sono stati confrontati con il numero di eventi rilevati nelle registrazioni video (*gold standard*). Sono stati quindi calcolate la proporzione degli eventi rilevati (eventi registrati da RumiWatch® \div eventi osservati con il *gold standard*) e i rispettivi intervalli di confidenza al 95%. Per i dati continui (e.g. “tempo a terra”, “tempo di camminata”, “tempo in piedi”, etc.), una misurazione dell’errore relativo medio (ERM) utilizzando la seguente formula proposta da Alsaad et al. (2015) è stata eseguita:

$$\text{ERM} = \left(\frac{100}{\text{osservazione videoregistrata}} \right) \times |(\text{osservazione videoregistrata} - \text{osservazione RumiWatch®})|$$

Un valore di ERM $<1\%$ è stato considerato come “*molto basso*”, ERM compreso tra 1 e 5% come “*basso*”, mentre tra 6 e 20% come “*moderato*” (Alsaad et al.,2015). Valori maggiori del 20% sono stati considerati come “*alti*”. Le variabili osservate non erano normalmente distribuite per cui il loro rapporto è stato inoltre analizzato mediante test di correlazione non parametrica a ranghi di *Spearman* (r_s). Come descritto da Taylor (1990), valori di $r_s \geq 0.9$ esprimevano una correlazione “*molto forte*”, valori compresi tra 0,68 e 0.89 una correlazione “*forte*”, tra 0,36 e 0,67 una “*moderata*”, ed infine $r_s \leq 0.35$ una correlazione “*debole*” .

Risultati

Dati osservazionali medi

I valori medi dei diversi parametri osservati a diversi tempi di registrazione mediante VR e RW (cavezza + podometro) sono riportati in tabella 10. Brevemente, gli animali osservati mediante VR per un periodo di 24h hanno effettuato in media l'evento "*alzarsi*" 7.33 ± 2.28 volte (\pm DS), "*stare a terra*" 7.66 ± 2.50 , "*stare in piedi*" 14.93 ± 4.16 , "*stendersi*" 7.53 ± 2.46 , mentre gli eventi "*tempo a terra*" e "*tempo in piedi*" hanno avuto una durata media di 9.10 ± 2.87 e 14.90 ± 2.87 (ore \pm DS) per animale, rispettivamente. Il dispositivo RWp ha registrato 7.47 ± 2.28 , 7.67 ± 2.51 , 14.86 ± 4.36 , 7.66 ± 2.58 volte gli eventi "*alzarsi*", "*stare a terra*", "*stare in piedi*" e "*stendersi*", rispettivamente; mentre 9.10 ± 2.87 h e 14.90 ± 2.87 h gli

eventi “*tempo a terra*” e “*tempo in piedi*” avvenuti in media per animale, rispettivamente.

Per quanto riguarda i parametri osservati mediante VR in 1h, in media l’“*evento camminata*” è stato osservato 14.93 ± 4.16 volte, “*numero di passi*” 69.13 ± 19.60 passi, “*tempo di camminata*” e “*tempo fermo in piedi*” si sono verificati in media per 5.94 ± 1.23 min e 54.06 ± 1.23 min per bufala, rispettivamente. Nello stesso lasso di tempo i medesimi parametri registrati dal RWp ammontavano a 14.86 ± 4.36 e 74.86 ± 22.67 volte, per quanto riguarda “*evento camminata*” e “*numero di passi*”; una durata di 4.70 ± 1.23 e 55.30 ± 1.23 min è stata invece attribuita dall’apparecchio a “*tempo di camminata*” e “*tempo fermo in piedi*” per bufala, rispettivamente.

Tab.10 – Valori medi dei diversi parametri osservati e deviazione standard valutati nelle rispettive unità di tempo.

PARAMETRO	Registrazione Video (n°)	RumiWatch Algoritmo (n°)	Tempo di valutazione
Alzarsi	7.33 ± 2.28	7.47 ± 2.28	24h
Stare a terra	7.66 ± 2.50	7.67 ± 2.51	24h
Stare in piedi	14.93 ± 4.16	14.86 ± 4.36	24h
Stendersi	7.53 ± 2.46	7.66 ± 2.58	24h
Tempo a terra	9.10 ± 2.87	9.10 ± 2.87	24h
Tempo in piedi	14.90 ± 2.87	14.90 ± 2.87	24h
Evento camminata	14.93 ± 4.16	14.86 ± 4.36	1h
Numero di passi	69.13 ± 19.60	74.86 ± 22.67	1h
Tempo di camminata	5.94 ± 1.23	4.70 ± 1.23	1h
Tempo fermo in piedi	54.06 ± 1.23	55.30 ± 1.23	1h

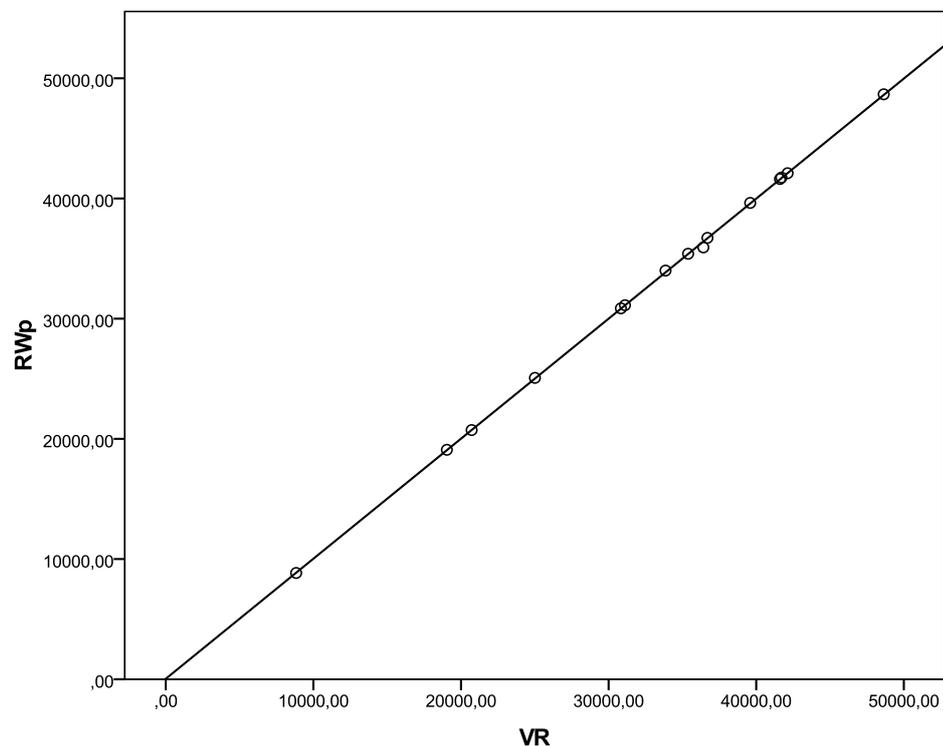
Relativamente alla cavezza, durante la fase di acquisizione dati del primo e secondo gruppo di animali, n°1 RWc per ciascuno di essi è stata danneggiata, ragion per cui la prova di valutazione, per questo dispositivo, è stata condotta su 10 bufale. Relativamente alle attività della cavezza documentate mediante VR manuale (20 minuti),. Il “*numero di boli*” medio osservato è stato 17.60 ± 3.12 , il valore medio del “*numero di masticazioni totale durante ruminazione*” 980.90 ± 51.48 atti , mentre quello del “*numero di masticazioni per bolo*” è stato stimato pari a 56.80 ± 9.84 atti. Il dispositivo RWc ha registrato invece un’ “*attività di ruminazione*” media di 17.40 ± 4.85 min ed una “*attività di prensione*” medio 19.83 ± 0.37 min. Il valore medio del “*numero di masticazioni totale durante ruminazione*” indicato 922.10 ± 264.54 atti , mentre quello del “*numero di masticazioni per bolo*” è stato stimato pari a 55.20 ± 13.57 atti.

Esperimento 1 - Comparazione VR vs. RWp

Il numero totale di eventi “*alzarsi*”, osservati mediante VR (n=110) (da qui riferiti come “*alzarsi-VR*”), è stato correttamente rilevato dal RWp (da qui riferiti come “*alzarsi-RWp*”) nel 98.2% dei casi (n=112); il numero totale di eventi “*stendersi-VR*” (n=113) è stato correttamente identificato dal 98.3% degli “*stendersi-RWp*” (n=115). Tutti gli eventi “*stare a terra-VR*” sono stati correttamente identificati dai RWp (n=115, P=1.000;

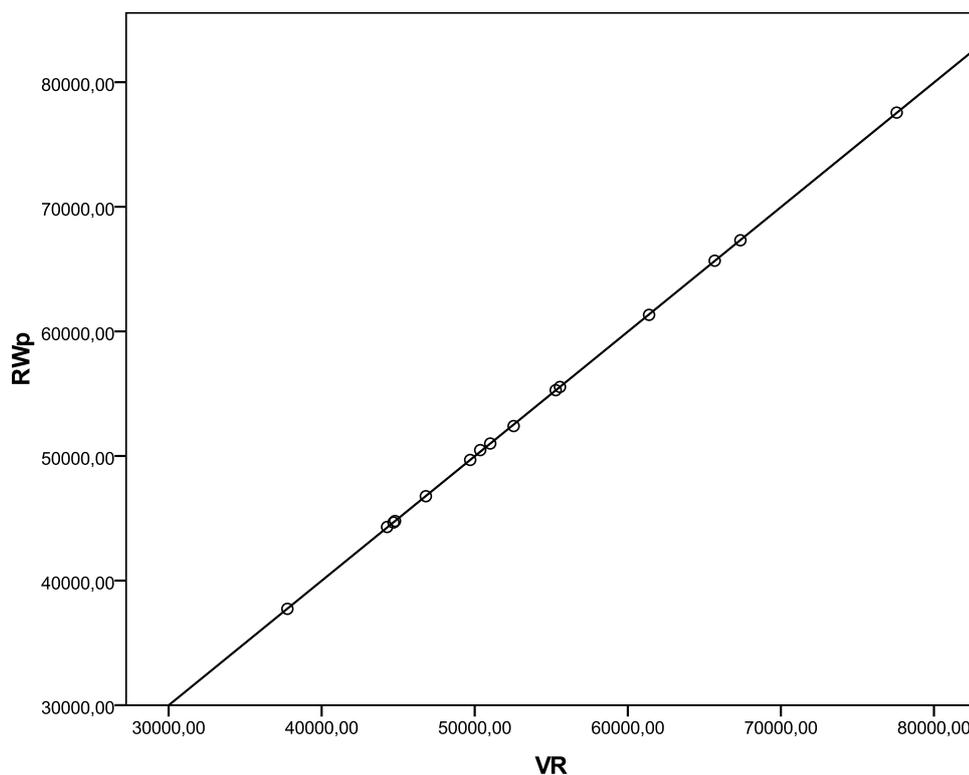
Tabella 11). Il “tempo a terra-RWp” stimato era molto vicino a quello osservato dal *gold standard* con un ERM *molto basso* (0.19%) ed una correlazione *molto forte* tra gli *output* RWp e VR è stata altresì osservata ($r_s=1$; $P<0.0001$; Tabella 12; Grafico 1).

Grafico 1- Correlazione tra i secondi di “tempo a terra-RWp” vs. “VR” nelle 15 bufale mediterranee oggetto di studio.



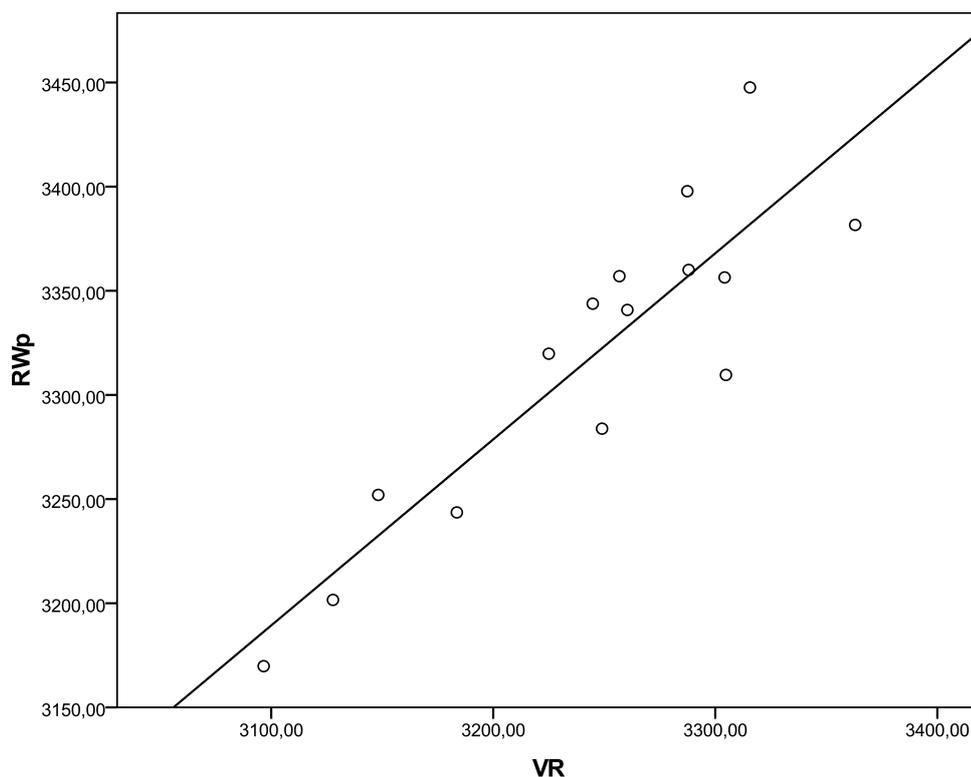
Il 99.5% degli eventi “*stare in piedi-VR*” (n=224) è stato correttamente identificato dal RWp (n=223)(Tabella 11). Il “tempo in piedi-RWp” totale stimato era estremamente vicino a quello osservato dal *gold standard* con un ERM *molto basso* (0.08%) ed una correlazione *molto forte* tra gli *output* RWp e VR è stata osservata ($r_s=1$; $P<0.0001$; Tabella 12; Grafico 2).

Grafico 2- Correlazione tra i secondi di “*tempo in piedi-RWp*” vs. “*-VR*” nelle 15 bufale mediterranee oggetto di studio.



Per quanto riguarda il “*tempo fermo in piedi*” totale un errore *basso* (2.29%) è stato osservato confrontando i dati ottenuti da RWp e VR, ed una correlazione *forte* tra queste due variabili è stata osservata ($r_s=0.814$; $P<0.0001$; Tabella 12; Grafico 3).

Grafico 3- Correlazione tra i secondi di “*tempo fermo in piedi-RWp*” vs. “*-VR*” nelle 15 bufale mediterranee oggetto di studio.



Per quanto concerne il numero totale di “*eventi camminata-VR*” (n=224), il 99.5% è stato correttamente identificato dal RWp (n=223) (Tabella 11); per quanto attiene il “*tempo di camminata-RWp*” ed il “*tempo di camminata-VR*” è stato osservato un *alto* (21.3%) ERM nonostante fosse presente ad una correlazione *forte*. ($r_s=0.814$; $P<0.0001$; Tabella 12; Grafico 4).

Infine, l’ERM tra VR e RWp per l’evento “*numero di passi*” totale è stato 9.64% unitamente una correlazione *molto forte* ($r_s=0.957$; $P<0.0001$; Tabella 12; Grafico 5).

Grafico 4- Correlazione tra i secondi di “tempo di camminata-RWp” vs.“-VR” nelle 15 bufale mediterranee oggetto di studio.

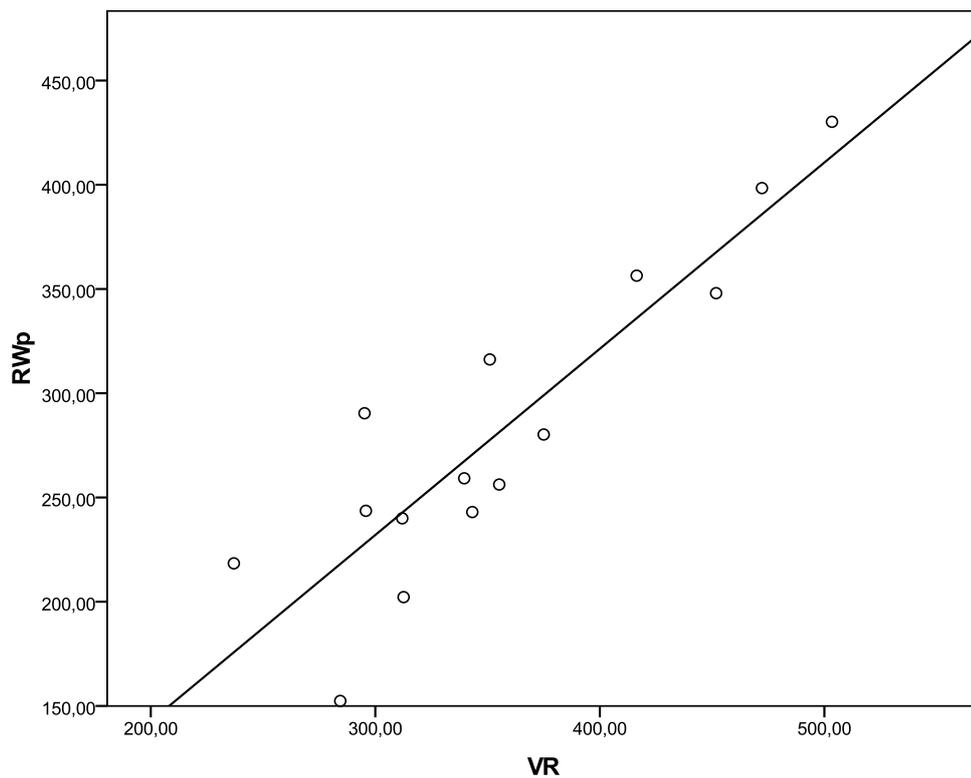
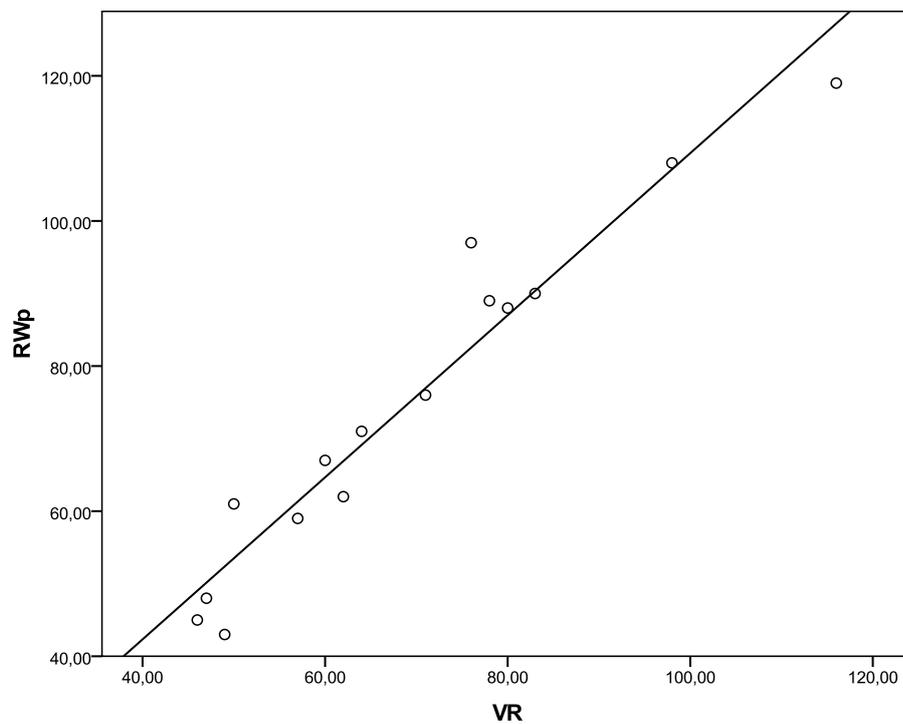


Grafico 5- Correlazione tra il “numero di passi-RWp” vs.“-VR” nelle 15 bufale mediterranee oggetto di studio.



Tab.11 – Numero e proporzioni degli eventi registrati dal dispositivo RumiWatch® podometro comparati con il numero osservato dalle registrazioni video (*gold standard*).

<i>Variabili</i>	<i>Registrazione Video (n*)</i>	<i>RumiWatch Algoritmo (n*)</i>	<i>Proporzione (p)</i>	<i>95% Intervallo di confidenza di p</i>	
				<i>Minimo</i>	<i>Massimo</i>
Alzarsi	110	112	0.982	0.937	0.995
Stendersi	113	115	0.983	0.939	0.995
Evento camminata	224	223	0.995	0.975	0.999
Stare a terra	115	115	1.000	0.968	1.000
Stare in piedi	224	223	0.995	0.975	0.999

Tab.12 – Misurazione dell'errore relativo medio (ERM) degli eventii registrati dal dispositivo RumiWatch® podometro comparati con il risultato ottenuto dalle registrazioni video (*gold standard*).

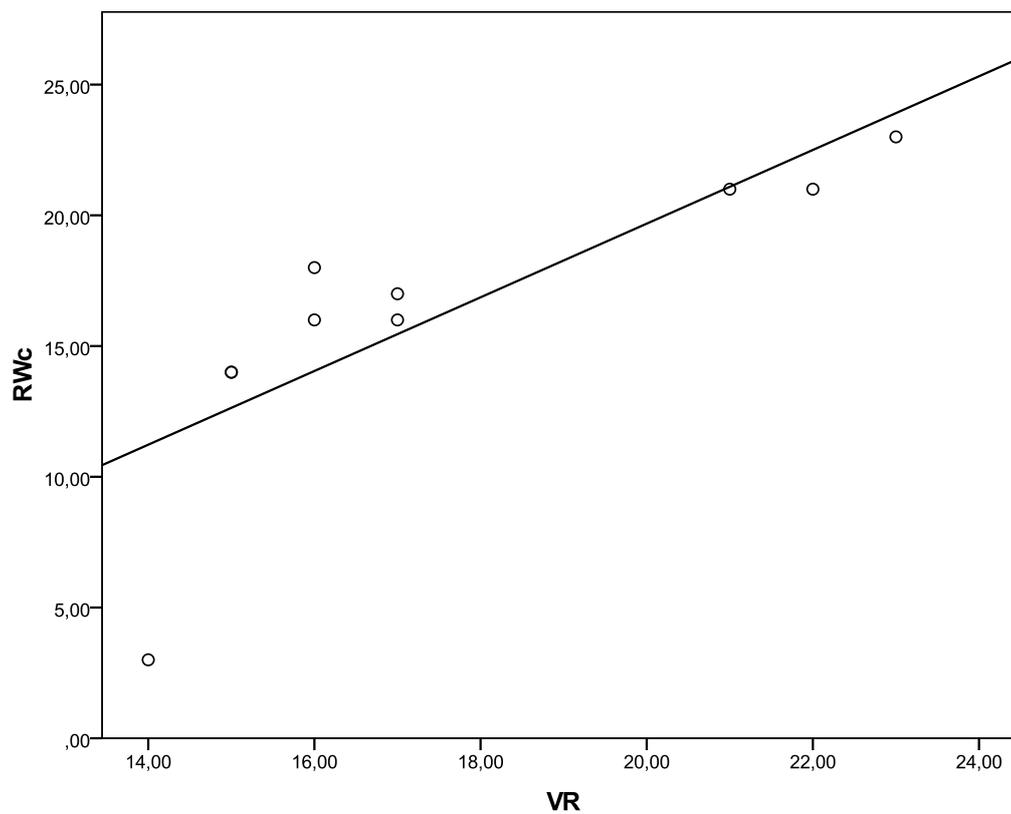
<i>Variabili</i>	<i>ERM (%)</i>	<i>DS</i>	<i>Intervallo dei valori</i>	
			<i>Minimo</i>	<i>Massimo</i>
Tempo in piedi	0.08	0.07	0.007	0.270
Tempo a terra	0.19	0.33	0.035	1.345
Tempo fermo in piedi	2.29	1.06	0.145	3.981
Tempo di camminata	21.03	11.13	1.626	46.413
Numero di passi	9.64	7.47	0.000	27.631

Esperimento 2 - Comparazione VR vs. RWc

Il numero totale di secondi trascorsi per la valutazione dell' "attività di ruminazione", osservati mediante VR (n=12'000) (da qui riferita come "attività di ruminazione-VR"), è stato correttamente rilevato dal RWc (da qui riferiti come *alzarsi-RWc*) nel 90.5% dei casi (n=10'855,20); il numero

totale di secondi trascorsi per la valutazione dell' "attività di prensione-VR" (n=12'000) è stato invece correttamente identificato dal 98.7% delle "attività di prensione-RWc" indicate (n=11'904) (Tabella 13). L'ERM tra VR e RWc per l'evento "numero di boli" totale è stato moderato (11.48%) ed una correlazione molto forte è stata osservata ($r_s=0.932$; $P<0.0001$; Tabella 14; Grafico 6). Relativamente all'evento "numero di masticazioni durante la ruminazione-RWc" stimato (n=9221), l'ERM è risultato essere moderato (16.00%) quando tale attività è stata comparata con le osservazioni fatte mediante VR (n=9809); la correlazione tra questi due parametri non è risultata significativa. Infine, anche per quanto riguarda il "numero di masticazioni per bolo-RWc" medio (n=55.20) un errore moderato (15.73%) è stato osservato confrontando i dati ottenuti da VR (n=56.80); anche in questo caso nessuna correlazione significativa è stata osservata.

Grafico 6.- Correlazione tra il “numero di boli-RWc” vs. “-VR” nelle 10 bufale mediterranee oggetto di studio.



Tab.13- Numero e proporzioni degli eventi registrati dal dispositivo RumiWatch® cavezza comparati con il numero osservato dalle registrazioni video (*gold standard*).

<i>Variabili</i>	<i>Registrazione Video (n*)</i>	<i>RumiWatch Algoritmo (n*)</i>	<i>Proporzione (p)</i>	<i>95% Intervallo di confidenza di p</i>	
				<i>Minimo</i>	<i>Massimo</i>
Attività di ruminazione	12000	10855,4	0.905	0.899	0.910
Attività di prensione	12000	11904	0.987	0.985	0.989

Tab.14 – Numero e proporzioni degli eventi registrati dal dispositivo RumiWatch® cavezza comparati con il numero osservato dalle registrazioni video (*gold standard*).

<i>Variabili</i>	<i>ERM (%)</i>	<i>DS</i>	<i>Intervallo dei valori</i>	
			<i>Minimo</i>	<i>Massimo</i>
Numero di boli	11.48	23.29	0.000	78.571
Numero di masticazioni durante la ruminazione	16.00	22.75	1.275	80.765
Numero di masticazioni per bolo	15.73	19.21	1.612	65.333

Discussioni

L'obiettivo del presente studio è stato quello di validare per la prima volta 15 parametri del dispositivo di rilevamento comportamentale Rumiwatch® nel bufalo Mediterraneo, al fine di valutare la sua accuratezza nel definire correttamente alcune GFO svolte quotidianamente da questi ruminanti.

Per la validazione dei dispositivi RumiWatch® (cavezza + podometro) sono state utilizzate bufale primipare soprattutto a causa delle dimensioni della testa di questi animali (mediamente più lunga e stretta rispetto a quella bovina) e al fine di garantire, come conseguenza, la migliore attendibilità dei dati stimati dal RWc; questi apparecchi, infatti, sono stati ideati e costruiti per adattarsi al capo della vacca da latte e non a quella

della bufala, ragion per cui è stato necessario ricorrere ad animali giovani che avessero dimensioni della testa più contenute.

La scelta di impiegare un sistema di sorveglianza a mezzo di telecamere fisse a videoregistrazione continua H/24, oltre ad un sistema di acquisizione dati manuale (fotocamera digitale), ha permesso di superare alcuni degli svantaggi avuti da altri gruppi di ricerca che recentemente hanno sviluppato e validato i dispositivi RWc e RWp nella bovina da latte (Braun et al., 2013; Alsaad et al., 2015). Infatti in questi studi, il processo è stato compiuto prevalentemente mediante l'impiego di telecamere manuali o monitoraggio diretto delle attività che hanno comportato sia la presenza costante di un operatore nella fase di acquisizione dati, sia una convivenza forzata tra ricercatori ed animali con la possibilità di influenzare negativamente le attività quotidianamente registrate (Martin e Bateson, 2007; Albertini et al., 2008). La scelta di questo sistema inoltre ha presentato un ulteriore vantaggio, ossia l'osservazione senza interruzione alcuna di tutti gli spostamenti compiuti dalle bufale all'interno del *paddock* grazie all'acquisizione simultanea di immagini provenienti da più telecamere. E' stato quindi possibile osservare l'interazione che gli animali oggetto della sperimentazione hanno mostrato rispetto alla mandria in condizioni naturali a differenza di quanto sviluppato da altri autori in condizioni sperimentalmente indotte.

Diversamente da quanto descritto da Braun e collaboratori (2013), che hanno eseguito un'osservazione diretta degli animali durante la fase di validazione del RWc nel bovino associata ad una conta manuale delle attività, nel presente studio è stata eseguita una acquisizione e registrazione dei dati mediante dispositivi digitali (videocamere e fotocamera manuale) e successivo trasferimento degli input ottenuti su supporti di memoria (scheda SD, *Hard Disk computer* ed esterni). Nella fase comparativa delle attività acquisite da VR e RW, questa metodologia impiegata ha permesso di: registrare e catalogare grandi quantità di dati con possibilità di analisi in differita; rivedere più volte e a velocità diverse (a seconda delle necessità) le attività svolte dagli animali aumentando l'accuratezza della stima dei dati da parte del *gold standard*; valutare nel complesso il comportamento dei soggetti nel loro ambiente.

Durante il *tempo utile per la fase di acquisizione dei dati* (3 giorni) si è reso necessario identificare, in maniera univoca ed evidente, i gruppi di animali oggetto di studio poiché condividevano lo spazio vitale con il resto della mandria. A differenza della bovina, le bufale mediterranee sono caratterizzate da un fenotipo piuttosto simile e sono prive di pezzature o macchie caratteristiche sulla loro cute. I sistemi di identificazione impiegati (VetRap®, nastri adesivi colorati, pennarelli segna bestiame) sono stati quindi controllati ed ri-applicati quotidianamente poiché gli animali erano

dediti ad un frequente lambimento delle attrezzature applicate e dei sistemi di identificazione utilizzati (e.g. numeri disegnati sul dorso mediante pennarello, figura 15). Le bufale mediterranee notoriamente stringono all'interno della mandria forti legami sociali che le portano a continue interazioni tra loro (Napolitano et al., 2005); questa condizione, associata alla ben documentata curiosità innata della specie (Napolitano et al., 2005), ha costretto gli autori a svolgere questa attività a cadenza regolare.

Per quanto riguarda la scelta degli intervalli temporali di acquisizione dati (e.g. 24h telecamere fisse, 1h fotocamera digitale manuale, etc.), questa nasce da alcune considerazioni di ordine pratico connaturate alla natura dello studio. Le 4 telecamere fisse, infatti, se pur dotate di sistema di visione notturna ad infrarossi, hanno mostrato difficoltà nell'acquisizione nitida di immagini dopo il tramonto soprattutto perché la corsia di alimentazione degli animali era costantemente illuminata con luce artificiale durante le ore notturne, non permettendo una corretta messa a fuoco delle immagini da parte dei dispositivi. A fronte di questo problema osservato è stato deciso di utilizzare un totale di 24h di attività diurne per la validazione del dispositivo RWp. Relativamente ai parametri indagati in 1h di videoregistrazione (e.g. *“numero di passi”*, *“tempo di camminata”*, etc.), è stato deciso di utilizzare tre intervalli di acquisizione dati da 20 minuti ciascuno, poiché durante la fase di adattamento dei primi 5 animali

arruolati è stato osservato che essi svolgevano un numero limitato di attività di locomozione all'interno del *paddock*. Si è reso quindi necessario frazionare il tempo di osservazione garantendo comunque il raggiungimento di un numero di “*eventi*” sufficiente alla validazione del dispositivo RW. Secondo gli autori, la scarsa attività di locomozione poteva essere ascritta al nutrito numero di capi presenti (n=40) in funzione delle dimensioni del *paddock* di contenimento ($\sim 225 \text{ m}^2$; $\sim 5.62 \text{ m}^2/\text{capo}$).

Infine, la scelta di eseguire una registrazione a mezzo di fotocamera digitale anche delle attività acquisite dal RWc, scaturisce dal fatto che le 4 telecamere a postazione fissa non fornivano sempre una adeguata e sufficiente risoluzione per vedere nel dettaglio i movimenti della mandibola.

Come già indicato nei risultati lo studio di validazione degli *output* ottenuti dalle RWc è stato eseguito su solo 10 animali poiché sono stati riscontrati episodi di malfunzionamento di 2 cavezze (1 RWc del primo gruppo, 1 RWc del secondo gruppo); la causa di queste anomalie è stata attribuita al danneggiamento di alcune parti elettroniche. Probabilmente entrambe le situazioni osservate possono essere ascritte a danni a carico delle placche di metallo e caucciù poste ai lati della cavezza (contenenti fili, circuiti, scheda di memoria e batteria) che possono aver ricevuto colpi o aver urtato contro elementi presenti nel *paddock* (e.g. abbeveratoio,

recinzione etc.). Il danneggiamento delle strutture ha quindi permesso la rottura di un filo dell'*hardware* in un apparecchio (1° RWc) e la permeazione d'acqua all'interno dell'alloggio per la batteria, con conseguente ossidazione dei circuiti, nell'altro (2° RWc); entrambi gli inconvenienti hanno compromesso irrimediabilmente la capacità di incamerare e trasmettere i dati da parte degli apparecchi.

Sebbene non sia tra gli obiettivi primari del presente studio la valutazione di parametri comportamentali della bufala mediterranea, attraverso lo studio delle VR, alcune interessanti deduzioni possono essere estrapolate dall'analisi degli eventi "*tempo a terra*", "*tempo in piedi*" (indagati per un periodo di 24h) e "*numero di masticazioni per bolo*" (valore medio ottenuto dallo studio della "*attività di ruminazione*" in 20 minuti). Secondo quanto descritto da Napolitano e collaboratori (2007), bufale mediterranee al pascolo trascorrevano circa il 21% del loro tempo a terra, mentre il restante 79% in piedi, alla ricerca di cibo e/o acqua e nell'espletamento delle interazioni sociali. I valori ottenuti nel nostro studio sembrano essere lievemente più alti indicando un tempo trascorso a terra pari al 37.91% (9.10 ± 2.87 h) mentre quello in piedi al 62.09% (14.90 ± 2.87 h); tale differenza potrebbe essere spiegata dal fatto che gli animali all'interno di un *paddock* hanno uno spazio a disposizione nettamente inferiore rispetto a quelli allevati in maniera estensiva e quindi potrebbero

essere verosimilmente meno stimolati a compiere attività di esplorazione dell'ambiente circostante per la ricerca di cibo e/o acqua. Sebbene non vi siano studi che descrivano le attività svolte da questo ruminante quando allevato in sistemi intensivi e che possano confermare questa ipotesi, nei bovini allevati in medesime condizioni ambientali e con aree di riposo in cemento, sono state descritte percentuali simili a quelle osservate nel nostro studio per entrambi i parametri (tempo a terra - 43.41%; tempo in piedi - 56.59%; Haley et al., 2001).

Inoltre, per quanto riguarda il “*numero di masticazioni per bolo*” osservate (56.80 ± 9.84 atti), queste sembrano essere in linea con quanto descritto da Ciaramella e Guccione (2014) che definiscono, durante la visita clinica di questa grande funzione organica, valori del tutto sovrapponibili a quelli osservati nel bovino e notoriamente compresi in un *range* variabile tra 40 e 60 atti per bolo (Rosenberger et al., 1993). Per quanto riguarda gli altri eventi osservati tramite VR non è stato possibile trarre analoghe conclusioni, poiché la loro osservazione era esclusivamente riferita a periodi di tempo in cui l'animale svolgeva quella determinata attività e finalizzati alla sola validazione dei dispositivi RW.

Riguardo *l'Esperimento 1*, ossia la comparazione dei dati ottenuti tra VR e RWp, i risultati ottenuti per l'evento “*tempo a terra*” hanno mostrato un ERM *molto basso* (0.19%) e una correlazione *molto forte* tra i dati del

RWp e il *gold standard* ($r_s=1$; $P<0.0001$; Tabella 6; Grafico 1); questo risultato sembra essere in linea con quanto descritto da Alsaod e collaboratori (2015) durante la validazione del medesimo apparecchio nel bovino (ERM=0.09; $r_s=1$). Lo studio appena citato costituisce l'unico modello utile ai fini di una comparazione dei risultati riguardanti RWp attualmente presente in letteratura. Situazione equivalente è stata anche osservata per il parametro "*stare a terra*" poiché tutte le volte in cui l'evento si è verificato (VR=115) il dispositivo lo ha correttamente identificato (RWp=115; $p=1.000$; Tabella 5) così come descritto anche per il bovino (VR e RWp=165; $p=1.000$; Alsaod et al., 2015). Relativamente agli eventi "*alzarsi*" e "*stendersi*", invece la situazione sembra essere lievemente diversa; i sistemi RWc hanno correttamente decodificato queste attività (n=112, e n=115, rispettivamente) nel 98.2% e nel 98.3% delle volte in cui queste sono state osservate con le VR (n=110, e n=113, rispettivamente, Tabella11). La mancanza di una piena corrispondenza è stata attribuita, da parte degli autori, ad una frequente attività di sfregamento dell'addome con gli arti posteriori da parte gli animali osservata durante l'analisi delle VR e classificata erroneamente da parte del RWp come evento "*alzarsi*" e "*stendersi*". Sebbene questo comportamento sia stato osservato più volte, in un solo caso quest'ultimo non è stato correttamente classificato, generando nell'apparecchio due

episodi “*alzarsi*” e “*stendersi*” di fatto inesistenti e che spiegano la discrepanza osservata. Un ulteriore sviluppo dell’algoritmo di interpretazione di questo fenomeno peculiare della specie bufalina è caldamente suggerito al fine di raggiungere una piena corrispondenza come osservato nella vacca, in cui questa attività non è stata mai documentata (Alsaood et al., 2015).

Infine va sottolineato come un altro parametro valutato nell’arco delle 24h abbia mostrato risultati estremamente incoraggianti e possibili vantaggi clinico – manageriali potenzialmente connaturati alla sua corretta interpretazione; l’evento “*tempo in piedi*”, infatti, ha mostrato valori di ERM *molto bassi* (0.08%) ed una correlazione tra i dati del RWp e VR *molto forte* ($r_s=1$; $P<0.0001$; Tabella 6; Grafico 3). Il parametro, non descritto per il bovino, corrisponde al tempo complessivo che l’animale trascorre in piedi fermo o in movimento. Nei sistemi di allevamento intensivi questo parametro, unitamente al “*tempo a terra*”, può costituire un utile indice di valutazione del benessere e *comfort* degli animali (Haley et al., 2001; Napolitano et al., 2007). Infatti, la loro conoscenza può rappresentare uno strumento in grado di evidenziare indirettamente la presenza di un anomalo stato di salute dei soggetti (e.g. patologie che costringono l’animale a lungo a terra) o di alcuni fattori che possono negativamente influenzare il management degli animali (e.g. spazio a

disposizione non adeguato, scarsi stimoli ambientali, errata tipologia dei ricoveri, etc.).

Per comprendere al meglio i risultati ottenuti mediante l'osservazione video delle attività svolte nell'arco di 1h (attività compiute esclusivamente in piedi) è necessario ricordare nuovamente il funzionamento del dispositivo RWp (Tabella 8): in breve, affinché un animale possa essere considerato in piedi, l'arto deve tenuto in posizione verticale per un tempo di almeno 50 secondi; affinché un "evento camminata" possa essere considerato tale, l'animale deve compiere almeno tre passi con l'arto in cui è installato il podometro (≥ 3) e devono trascorrere meno di 4 secondi tra un passo e il successivo; qualora una delle due situazione non si verifichi il RWp non rileva l'evento in questione. Quanto premesso permette quindi di spiegare un fenomeno osservato in tre eventi legati tra di loro (gli unici possibili in uno stato in piedi dell'animale) quali: "stare in piedi", "evento camminata", "tempo in piedi fermo"; infatti per quanto riguarda i primi due, entrambi i parametri quando osservati mediante VR (n=224) hanno evidenziato un episodio in più rispetto ai RWp (n=223; Tabella 11). Questa discrepanza può essere giustificata dal fatto che, durante uno degli intervalli di osservazione, il podometro ha fallito l'identificazione di un passo in una camminata che ne comprendeva tre, determinando come conseguenza sia un "evento camminata" in meno sia uno "stare in piedi"

in meno (la camminata, effettuata tra due eventi “*stare in piedi*”, non è stata individuata e questi ultimi sono stati conseguentemente accorpati in un unico evento). Si è trattato di un evento isolato, probabilmente riconducibile ad un passo particolarmente corto eseguito in quella circostanza da parte dell’animale; nonostante questo errore, la proporzione di eventi “*stare in piedi*” e “*evento camminata*” correttamente identificati ($p=0.995$ in entrambi i casi, Tabella 11) può essere considerata sovrapponibile a quanto descritto nel bovino (“*stare in piedi*” $p=1.000$ e “*evento camminata*” $p=0.992$; Alsaod et al., 2015).

Questa condizione appena descritta, unitamente ad un possibile errore umano dovuto alla difficoltà oggettiva di definire con precisione il secondo in cui un animale si ferma o riprende la camminata, possono aver anche determinato la *bassa* discrepanza tra i risultati ottenuti dalla valutazione dell’evento “*tempo fermo in piedi*” (ERM=2.29%, $r_s=0.814$; $P<0.0001$; Tabella 12; Grafico 3). Quanto osservato, tuttavia, è da considerarsi incoraggiante ed in grado di definire in maniera assolutamente opportuna questo comportamento dell’animale, anche in considerazione del fatto che i valori osservati nel bovino nell’unico studio analogo, sono stati meno performanti (ERM=4.70%; $r_s=0.960$; Alsaod et al., 2015).

Continuando con il parametro “*numero di passi*” un ERM pari al 9.64% ed una correlazione *molto forte* tra i dati ottenuti mediante VR e RWp è

stata osservata ($r_s=0.957$; $P<0.0001$; Tabella 12; Grafico 5). Questi valori, di poco superiori a quelli descritti da Alsaod e collaboratori nel bovino (2015) (ERM=6.23%, $r_s=0.980$), possono essere considerati assolutamente soddisfacenti, confermando anche nel bufalo mediterraneo una buona capacità ad identificare correttamente i passi eseguiti. Così come descritto nella vacca (Alsaod et al., 2015), qualora si verifichi un evento che non permette il soddisfacimento dei *cut-off* precedentemente menzionati, per i parametri “*stare in piedi*” e “*evento camminata*”, si assiste inevitabilmente ad una discrepanza dei valori osservati (tra VR e RWp) anche per l’evento “*numero di passi*” spiegando conseguentemente il valore di ERM osservato.

In ultimo il parametro che in assoluto ha mostrato le maggiori difficoltà nell’essere correttamente identificato è stato il “*tempo di camminata*”; quest’ultimo infatti è stato associato ad un ERM *alto* (21.3%, $r_s=0.814$, Tabella 12, grafico 4). Le ragioni di questa discordanza possono essere ascritte a diversi fattori: *in primis*, a quella differenza riguardante l’ “*evento camminata*” precedentemente descritta (la VR ha mostrato un “*evento camminata*” in più rispetto al RWp, questo significa maggiore tempo trascorso a camminare, quindi una discrepanza maggiore tra VR e RWp); *in secundis*, ad una differenza ineluttabile tra osservatore ed apparecchio nel definire l’esatto tempo di inizio e fine dell’evento “*tempo di*

camminata” (questa differenza, intrinseca alla metodologia di studio, ha generato l’ERM osservato). Va tuttavia sottolineato come l’unico studio comparativo presente in letteratura, mostri a sua volta un ERM *moderato* relativamente a questo parametro (17.2%, Alsaad et al., 2015); gli autori in quella occasione hanno attribuito la differenza esclusivamente al fatto che l’evento “*tempo di camminata*” scaturisce da una circostanza dinamica, rapida e il cui inizio e fine sono difficilmente identificabili dall’operatore con precisione (l’animale passa velocemente da una fase statica ad una dinamica e viceversa), a differenza dei parametri “*alzarsi*” e “*stendersi*” in cui il cambiamento di attività avviene con intervalli temporali maggiori ed identificati con migliore accuratezza (evento più lento) (Trenel et al., 2009; Alsaad et al., 2015). Ad ogni modo è doveroso sottolineare come la capacità di riconoscere correttamente gli eventi legati alla camminata, da parte di dispositivi simili al RWp presenti attualmente in commercio, si attesti comunque tra valori moderati e bassi (Robert et al., 2009; Trenel et al., 2009; Mattacchini et. al., 2013).

Riguardo *l’Esperimento 2*, ossia la comparazione dei dati ottenuti tra VR e RWc, è necessario premettere come l’adattamento di questi dispositivi ai diametri della testa delle bufale primipare sia stato difficoltoso a causa dell’ampia variabilità osservata tra con specifici; uno degli animali arruolati (animale n=5, appartenente al gruppo n=3) mostrava difatti un muso

particolarmente piccolo non in grado probabilmente di stimolare i sensori deputati alla ruminazione (presenti nella testiera a cavallo del muso, *noseband*) in maniera appropriata; come conseguenza è stato osservato che, la fase di acquisizione dei dati relativi all’*“attività di ruminazione”*, ha generato ragguardevoli errori di classificazione del comportamento erroneamente identificato come *“attività di prensione”* dell’alimento (90.5% di eventi *“attività di ruminazione”* correttamente identificati, Tabella 13). Il problema osservato ha inevitabilmente influito sull’accuratezza di identificazione degli altri parametri indirettamente associati all’*“attività di ruminazione”*, generando un ERM moderato per ciascuno di essi (*“numero di boli”*, ERM=11.48%; *“numero di masticazioni durante la ruminazione”*, ERM=16.00%; *“numero di masticazioni per bolo”*, ERM=15.73%). Sebbene questi risultati sembrano essere meno incoraggianti rispetto a quelli ottenuti da studi di validazione del RWc nel bovino, in condizioni sperimentali di indagine (Zehner et al., 2012; Braun et al., 2013), gli autori hanno osservato che rimuovendo dall’analisi i dati generati dalla cavezza che male si adattava alla testa dell’animale, i valori di stima delle attività miglioravano sensibilmente (*“attività di ruminazione”*, $p=0.980$; *“numero di boli”*, ERM=4.02%; *“numero di masticazioni durante la ruminazione”*, ERM=8.80%; *“numero di masticazioni per bolo”*, ERM=10.21%).

Infine il parametro che ha avuto la migliore classificazione da parte del RWc è stata l'“*attività di prensione*” dell'alimento (VR=12'000 sec vs. RWc=11'904 sec, $p=0.987$, Tabella 13), confermando quanto osservato nel bovino da Braun e collaboratori (2013) (VR=23358 vs. RWc=23298 sec). La piccola differenza osservata tra i valori della VR e del RWc è stata attribuita ad una difficoltà, da parte dell'operatore che ha visionato le VR, nel definire con assoluta accuratezza l'inizio e la fine dell'attività, in quanto gli animali mostravano la tendenza ad inserire completamente la parte distale del muso all'interno dell'alimento disposto a terra dal carro miscelatore, generando di conseguenza questa incertezza nella stima (figura 16).

Conclusioni

I risultati della presente indagine suggeriscono che l'innovativo dispositivo RumiWatch® (podometro + cavezza) permette nel bufalo mediterraneo, al pari della vacca, l'identificazione di diverse caratteristiche dell'attività di locomozione, ruminazione e prensione dell'alimento, con risultati incoraggianti poiché associati a valori di classificazione dei parametri in linea con quanto descritto nel bovino.

Affinché questo dispositivo possa divenire d'uso comune all'interno delle aziende zootecniche bufaline è necessario che alcune modifiche vengano apportate: la struttura della cavezza dovrebbe essere adeguata ai diametri della testa di questo ruminante e rinforzata; mentre per quanto riguarda il podometro, si dovrebbe continuare a sviluppare il *software* di

decodificazione degli impulsi generati dalle attività di locomozione, al fine di ridurre al minimo le discrepanze osservate in concomitanza con alcune attività peculiari documentate nella bufala (e.g. passi particolarmente corti, attività di sfregamento, etc.).

Ulteriori studi si rendono necessari al fine di confermare l'effettiva capacità del dispositivo ad identificare tutte le attività che potenzialmente può decodificare (e.g. numero di masticazioni durante la prensione, tempo di abbeverata, numero di deglutizioni in corso di abbeverata, etc.) generando, di conseguenza, una imprescindibile base scientifica di partenza per poter disporre, in futuro, di un dispositivo capace di svelare indirettamente le condizioni di salute di questi animali, i loro livelli di benessere e stress. L'impiego di questo apparecchio, infatti, prelude ad un ventaglio di possibilità che potrebbero concretizzarsi nell'identificazione di *cut-off* associati alle attività svolte da animali sani nel loro ambiente di allevamento; questa ipotesi permetterebbe la definizione di valori soglia indicativi dello stato di salute degli animali, favorendo la precoce identificazione di soggetti malati ed un tempestivo intervento da parte del Medico Veterinario, una rapida formulazione della diagnosi clinica ed una ottimizzazione degli effetti delle terapie adottate, traducendosi, in ultima istanza, in un notevole vantaggio economico per l'allevatore.

Bibliografia

- Abeni, F., L. Calamari, F. Calza, M. Speroni, G. Bertoni, and G. Pirlo. 2005. Welfare assessment based on metabolic and endocrine aspects in primiparous cows milked in a parlor or with an automatic milking system. *J. Dairy Sci.* 88:3542–3552.
- Albertini M., E. Canali, S. Cannas, V. Ferrante, S. Mattiello, M. Panzera and M.Verga. 2008. *Etologia applicata e benessere animale*. Vol. 1 – Parte Generale.
- Alsaad M., J. J. Niederhauser, G. Beer, N. Zehner, G. Schuepbach-Regula, and A. Steiner. 2015. Development and validation of a novel pedometer algorithm to quantify extended characteristics of the locomotor behavior of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:6236–6242.
- Bach, A., and I. Busto. 2005. Effects on milk yield of milking interval regularity and teat cup attachment failures with robotic milking systems. *J. Dairy Res.* 72:101–106.
- Bach A., M. Binares, M. Devant and X. Carre. 2007. Associations between lameness and production, feeding and milking attendance of Holstein cows milked with an automatic milking system. *Journal of Dairy Research* 74: 40–46.
- Barbari M., L. Conti and S. Simonini. 2008. Spatial Identification of Animals in Different Breeding Systems to Monitor Behavior. *Livestock Environment VIII*, Iguassu Falls, Brazil.
- Barbari M and L. Conti. 2009. Use of different cooling systems by pregnant sows in experimental pen. *Biosystems Engineering*. 103: 239-244.
- Barker Z.E., K.A. Leach, H.R. Whay, N.J. Bell and D.C.J. Main. 2010. Assessment of lameness prevalence and associated risk factors in dairy herds in England and Wales. *Journal of Dairy Science* 93: 932–941.
- Bass P.D., D.L. Pendell, D.L. Morris, J.A. Scanga, K.E. Belk, T.G. Field, J.N. Sofos, J.D. Tatum and G.C. Smith. 2008. Review: sheep traceability systems in selected countries outside of North America. *Professional Animal Scientist* 24: 302–307.
- Belge F., A. Bildik, A. Belge, D. Kikalp and N. Atasoy. Possible association between chronic laminitis and some biochemical parameters in dairy cattle. *Aust. Vet J.* 2004 82:556–57.

- Bertocchi L. and Fusi F. 2014. “Manuale per la valutazione del benessere e della biosicurezza nell'allevamento bovino da latte a stabulazione libera” [Guidelines for the assessment of welfare and biosecurity in dairy cattle in loose housing systems] ISBN 978-88-9097-041-2.
- Blowey RW. Lameness in the Foot. In Andrews AH, Blowey RW, Boyd H, Eddy RG, editors. *Bovine Medicine Disease and Husbandry of Cattle*. II Edition. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK. 2004; p 409-31.
- Borghese A. and Mazzi M. 2005. Buffalo population and strategies in the World. In: “Buffalo Reproduction and Research”. REU Technical Series 67 (FAO Regional Office for Europe). Edited by Antonio Borghese: 1-39.
- BOSTID 1981. The water buffalo: new prospects for an underutilized animal. National Academy Press, Washington. Retrieved on January 4, 2013, from http://www.cd3wd.com/cd3wd_40/cd3wd/AGRIC/B21WAE/EN/B1723.HTM.
- Bowling M. B., D. L. Pendell, D.L. Morris, Y. Yoon, K. Katoh, K.E. Belk and G.C. Smith. 2008. Review: identification and traceability of cattle in selected countries outside of North America. *Professional Animal Scientist* 24:277-286.
- Braun U., L. Trosch, F. Nydegger and M. Hässig. 2013. [Evaluation of eating and rumination behaviour in cows using a noseband pressure sensor](#). *BMC Veterinary Research*. 9, 2013, 164-171.
- Brown-Brandl T. M., T. Yanagi, H. Xin, R. S. Gates, R. A. Bucklin and G. S. Ross. 2003. A new telemetry system for measuring core body temperature in livestock and poultry. *American Society of Agricultural Engineers* ISSN 0883-8542 Vol.19:583-589.
- Caja G., M. Hernandez-Jover, C. Collin, D. Garin, X. Alabern, B. Farriol and J. Ghirardi. 2005. Use of ear tags and injectable transponders for the identification and traceability of pigs from birth to the end of the slaughter line. *Journal of Animal Sciences* 83:2215–2224.
- Cammarano A. and Marino A.L. Theoretical-practical course of podology. *Bubalus Bubalis*. 2003; 9:13-7.
- Campanile G., C. De Filippo, R. Di Palo, W. Taccone and L. Zicarelli. 1998. Influence of dietary protein on urea levels in blood and milk of buffalo cows. *Livestock Production Science* 55:135–143.

- Chanvallon A., S. Coyral-Castel, J. Gatién, J.M. Lamy, D. Ribaud, C. Allain, P. Clément and P. Salvetti. 2014. Comparison of three devices for the automated detection of estrus in dairy cows. *Theriogenology*. 2014 Sep 15;82:734-41.
- Chapinal N., A. M. de Passille, M. Pastell, L. Hanninen, L. Munksgaard and J. Rushen. 2011. Measurement of acceleration while walking as an automated method for gait assessment in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 94:2895–2901.
- Ciaramella P. and J. Guccione. 21. *Esame del bufalo di razza mediterranea italiana*. Semeiologia Clinica Veterinaria. Ed: Poletto. 2013.
- Collin C., G. Caja, R. Nehring and O. Ribo. 2002. The use of passive injectable transponders in fattening lambs from birth to slaughter: effects of injection, position, age, and breed. *Journal of Animal Sciences* 80: 919–925.
- Communication from the Commission to the European Parliament, the Council, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions of 19 September 2007 on a new Animal Health Strategy for the European Union (2007-2013) where «Prevention is better than cure» [COM (2007) 539 final]. 2007.
- Cook N.B., T.B. Bennett and K.V. Nordlund. 2004. Effect of free stall surface on daily activity patterns in dairy cows with relevance to lameness prevalence. *Journal of Dairy Science* 87: 2912–2922.
- Cook N. B., T. B. Bennett, and K. V. Nordlund. 2005. Monitoring indices of cow comfort in free-stall-housed dairy herds. *J. Dairy Sci.* 88:3876–3885.
- D'Andrea L, J. Guccione, M. Alsaad, G. Molinaro, A. De Rosa, A. Steiner and P. Ciaramella. 2016. WBC Abstract Animal Welfare. WBC2016-880 Validation of a novel pedometer algorithm as indicator of animal welfare in a dairy Mediterranean buffalo herd.
- Darr M. and W. Epperson. 2009. Embedded sensor technology for real time determination of animal lying time. *Comput. Electron. Agric.* 66:106-111.
- de Koning, K., Y. van der Vorst and A. Meijering. 2002. Automatic milking experience and development in Europe. Pages II–II1 in Proc. First N. Am. Conf. on Robotic Milking, Toronto, Canada. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands.

- De Rosa G., F. Napolitano, F. Saltalamacchia, A. Bilancione, E. Sabia, F. Grasso and A. Bordi. 2007a. The effect of rearing system on behavioural and immune responses of buffalo heifers. *Italian Journal of Animal Science* 6 (Suppl. 2), 1260–1263.
- De Rosa G., F. Napolitano, F. Grasso, A. Bilancione, M. Spadetta, C. Pacelli and K. Van Reenen. 2007b. Welfare Quality R : a pan-European integrated project including buffaloes. *Italian Journal of Animal Science* 6 (Suppl.2), 1360–1363.
- De Rosa G., F. Grasso, A. Braghieri, A. Bilancione, A. Di Francia and F. Napolitano. 2009a. Behavior and milk production of buffalo cows as affected by housing system. *Journal of Dairy Science* 2, 907–912.
- De Rosa G, F. Grasso, A. Bilancione, G. Migliori, F. Napolitano, C. Winckler and K. Van Reenen. 2009b. Final monitoring scheme for the assessment of dairy buffalo welfare. EU-project Welfare QualityR . Retrieved on July 19, 2012, from <http://www.welfarequality.net>.
- De Rosa G., F. Grasso, C. Winckler, A. Bilancione, C. Pacelli, F. Masucci, and F. Napolitano. 2015. Application of the Welfare Quality protocol to dairy buffalo farms: Prevalence and reliability of selected measures. *J. Dairy Sci.* 98:6886–6896.
- DFC-NFACC (Dairy Farmers of Canada and the National Farm Animal Care Council). 2009. Code of Practices for the Care and Handling of Dairy Cattle. Dairy Farmers of Canada, Ottawa, Ontario, Canada.
- Di Palo R, D. Midea, G. Campanile, N. Rossi and L. Zicarelli. 2001. Influence of management system on reproductive activity of dairy buffaloes during the hot season. In *Proceedings of the 6th World Buffalo Congress*, 21–23 May 2011, Maracaibo, Venezuela, pp. 130–136.
- European Food Safety Authority. Scientific report of EFSA prepared by the Animal Health and Animal Welfare Unit on the effects of farming systems on dairy cow welfare and disease. Annex to the *EFSA Journal*. 2009; 1143:1-38.
- Eigenberg R.A., T.M. Brown-Brandl, J.A. Nienaber and G.L. Hahn. 2005. Dynamic response indicators of heat stress in shaded and non-shaded feedlot cattle, part 2: predictive relationships. *Biosystems Engineering*. 91:111-118.
- Ellis K.A., M. Mihm, G. Innocent, P. Cripps, W.G. McLean, C.V. Howard and D.G. Grove-White. 2006. Assessing the relationship between dairy cow cleanliness and

- bulk milk hygiene on organic and conventional farms. 11th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics.
- Erasmus, W.J. M.B. and Jansen. 1999. Animal identification and monitoring. *Computers and Electronics in Agriculture* 24:91–98.
- Fajt V. R., M. D. Apley, K. A. Brogden, T. L. Skogerboe, V. K. Shostrom and Y. L. Chin. 2004. Effect of danofloxacin and tilmicosin on body temperatures of beef calves with pneumonia experimentally induced by inoculation with *Mannheimia haemolytica*. *Am J Vet Res.* 65: 610-615.
- Flower F.C., M. Sedbauer, E. Carter, M.A.G. von Keyserlingk, D.J. Sanderson and D.M. Weary. 2008. Analgesics improve the gait of lame dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91:3010–3014.
- Fraser D., D. M. Weary, E. A. Pajor, and B. N. Milligan. 1997. A scientific conception of animal welfare that reflects ethical concerns. *Anim. Welf.* 6:187–205.
- Fraser D. 2003. Assessing animal welfare at the farm and group level: The interplay of science and values. *Anim. Welf.* 12:433–443.
- Fregonesi, J.A. and J.D. Leaver. 2001. Behaviour, performance and health indicators of welfare for dairy cows housed in strawyard or cubicle systems. *Livest. Prod. Sci.* 68:205–216.
- González L. A., B. J. Tolcamp, M. P. Coffey, A. Ferret, and I. Kyriazakis. 2008. Changes in feeding behavior as possible indicators for the automatic monitoring of health disorders in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 91:1017–1028.
- Grant R. J. and J. L. Albright. 2000. Feeding behaviour. Page 365-382 *in Farm Animal Metabolism and Nutrition*. J.P.F. D=Mello, ed. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK.
- Guccione, J., A. Pesce, M. Pascale, N. Tommasini, F. Garofalo, A. Di Loria, et al. Short communication: Effects of systemic treatment with penethamate hydriodide on udder health and milk yields in dry primiparous Mediterranean buffaloes (*Bubalus bubalis*). *J. Dairy Sci.* 2014a; 97:2219-25.
- Guccione, J., A. Cosandey, A. Pesce, A. Di Loria, M. Pascale, D. Piantedosi, et al. Clinical outcomes and molecular genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from milk samples of dairy primiparous Mediterranean buffaloes (*Bubalus bubalis*). *J. Dairy Sci.* 2014b; 97:7606-13.

- Guccione, J., V. Perreten, A. Steiner, A. Thomann, A. Pesce, P. Ciaramella, et al. Short communication: Role of *Streptococcus pluranimalium* in Mediterranean buffaloes (*Bubalus bubalis*) with different udder health statuses. *J. Dairy Sci.* 2016a; doi: 10.3168/jds.2015-10291.
- Guccione J., C. Carcasole, M. Alsaod, L. D'Andrea, A. Di Loria, A. De Rosa, P. Ciaramella and A. Steiner. 2016b. WBC Abstract Submission Lameness. WBC2016-809 Cross sectional study on prevalence of lameness and foot disorders influencing welfare of Mediterranean buffaloes.
- Gygax L., I. Neuffer, C. Kaufmann, R. Hauser and B. Wechsler. 2007. Comparison of functional aspects in two automatic milking systems and auto-tandem milking parlors. *J. Dairy Sci.* 90:4265–4274.
- Hafez E.S.E., A.L. Badreldin and M.M. Shafie. 1955. Skin structure of Egyptian buffaloes and cattle with particular reference to sweat glands. *Journal of Agricultural Science* 46:19–30.
- Haley D.B., A.M. de Passillé, J. Rushen. 2001. Assessing cow comfort: effects of two floor types and two tie stall designs on the behaviour of lactating dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science.* 71:105-117.
- Huzzey J. M., D. M. Veira, D. M. Weary and M. A. G. von Keyserlingk. 2007. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. *J. Dairy Sci.* 90:3220–3233
- International Dairy Federatioi. 1997. Bovine mastitis definition and guidelines for diagnosis, vol. 211 International Dairy Federatioin, Brussels, Belgium,3-8.
- Italian Ministry of Health. 2015. Banca Dati Nazionale dell'Anagrafe Zootecnica. Accessed Mar. 9, 2015. http://statistiche.izs.it/portal/page?_pageid=73,12918&_dad=portal&_schema=PORTAL&op=view_rep&p_liv=N&p_sigla_liv=&p_report=plet_rep_r1&p_anno=2015.
- Jacobs J. A. and J. M. Siegford. 2012. Lactating dairy cows adapt quickly to being milked by an automatic milking system. *J. Dairy Sci.* 95:1575–1584.
- Knierim U. and C. Winckler. 2009. On-farm welfare assessment in cattle— validity, reliability and feasibility issues and future perspectives with special regard to the Welfare QualityR approach. *Animal Welfare* 18:451–458.

- Koga A. 1991. Effects of high environmental temperatures on some physicochemical parameters of blood and heat production in swamp buffaloes and Holstein cattle. *Animal Science Technology* 62:1022–1028.
- Koga A. 1999. Internal changes of blood compartments and heat distribution in swamp buffaloes in hot condition: comparative study of thermoregulation in buffaloes and Freisian cows. *Asian-Australian Journal of Animal Science* 12:886–890.
- Kumar S., M. Nagarajan, S.J. Sandhu, N. Kumar, V. Behl and G. Nishanth. 2007. Mitochondrial DNA analyses of Indian water buffalo support a distinct genetic origin of river and swamp buffalo. *Animal Genetics* 38:227–232.
- Lowman B.G., N. Scott and S. Sommerville. 1976. Condition scoring of cattle, Revised edition. Bulletin No. 6 East of Scotland College of Agriculture, Edinburgh, UK.
- Markusfeld O., N. Galon and E. Ezra. Body condition score, health, yield and fertility in dairy cows. 1997. *Veterinary Record*;141:67-72.
- Martin P. and P. Bateson. 2007. *Measuring behaviour: An Introductory Guide*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Mattachini, G., E. Riva, C. Bisaglia, J. C. A. M. Pompe and G. Provolo. 2013. Methodology for quantifying the behavioral activity of dairy cows in freestall barns. *J. Anim. Sci.* 91:4899–4907.
- McGowan J. E., C. R. Burke and J. G. Jago. 2007. Validation of a technology for objectively measuring behaviour in dairy cows and its application for oestrous detection. *NZ Soc. Anim. Prod.* 67:136-142.
- Moen R., J. Pastor and Y. Cohen. Interpreting behavior from activity counters in GPS collars on moose. *ALCES*, 1996. 32(1996): p. 101-108.
- Müller R. and L. Schrader. 2003. A new method to measure behavioural activity levels in dairy cows. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 83:247-258.
- Mulligan F.J., L. O’Grady, D.A. Rice and M.L. Doherty. 2006. A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Animal Reproduction Science* 96:331-353.
- Munoz M.A., G.J. Bennett, C. Ahistrom, H.M. Griffiths, Y.H. Schukken and R.N. Zadoks. 2008. Cleanliness scores as indicator of *Klebsiella* exposure in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91:3908–3916.

- Munksgaard L., M.B. Jensen, L.J. Pedersen, S.W. Hansen and L. Matthews. 2005. Quantifying behavioural priorities-effects of time constraints on behaviour of dairy cows, *Bos taurus*. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 92:3–14.
- Munksgaard L., J. Rushen, A.M. de Passillé and C.C. Krohn. 2011. Forced versus free traffic in an automated milking system. *Livest. Sci.* 138:244–250.
- Nagl L, R. Schmitz, S. Warren, T. S. Hildreth, H. Erickson and D. Andresen. 2003. Wearable Sensor System for *Wireless* State-of-Health Determination in Cattle. National Science Foundation (NSF) under grants ITR–0205487, BES–0093916, and EPS– 9874732.
- Napolitano F., F. Grasso, A. Bordi, C. Tripaldi, F. Saltalamacchia, C. Pacelli and G. De Rosa. 2005. On-farm welfare assessment in dairy cattle and buffaloes: evaluation of some animal-based parameters. *Italian Journal of Animal Science* 4:223–231.
- Napolitano F., F. Grasso, F. Saltamacchia, P. Martiniello, A. Bilancione, C. Pacelli and G. De Rosa. 2007. Grazing behaviour of buffalo heifers. *Italian Journal of Animal Science* 6 (Suppl.2), 1256–1259.
- Napolitano F., C. Pacelli, F. Grasso, A. Braghieri and G. De Rosa. 2013. The behaviour and welfare of buffaloes (*Bubalus bubalis*) in modern dairy enterprises. *Animal* 7:10, 1704–1713.
- Ng M.L., K.S. Leong, D. Hall and P. Cole. 2005. A small passive UHF RFID tag for livestock identification. In: *IEEE International Symposium on Microwave, Antenna, Propagation and EMC Technologies for Wireless Communications (MAPE)*, vol. 1, pp. 67–70.
- Nielsen B.H., P.T. Thomsen and J.T. Sørensen. Identifying risk factors for poor hind limb cleanliness in Danish loose-housed dairy cows. *Anim.* 2011; 5(10):1613-19.
- Nydegger F., L. Gygax, and E. Wendelin. 2011. Automatic measurement of jaw movements in ruminants by means of a pressure sensor. *Agrarforschung*, 2. 60-65.
- O’Callaghan K.A., P.J. Cripps, D.Y. Downham and R.D. Murray. 2003. Subjective and objective assessment of pain and discomfort due to lameness in dairy cattle. *Animal Welfare* 12: 605–610.
- O’DriScoll K., L. Boyle and A. Hanlon. 2008. A brief note on the validation of a system for recording lying behaviour in dairy cows. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 111: 195-200.

- Plesch G., N. Broerkensa, S. Laister, C. Winckler and U. Knierim. 2010. Reliability and feasibility of selected measures concerning resting behaviour for the on-farm welfare assessment in dairy cows. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 126:19–26.
- Robert B., B. J. White, D. G. Renter and R. L. Larson. 2009. Evaluation of three-dimensional accelerometers to monitor and classify behavior patterns in cattle. *Comp. Electr. Agric.* 67:80-84.
- Roche J.R., N.C. Friggens, J.K. Kay, M.W. Fisher, K.J. Stafford and D.P. Berry. 2009. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *J Dairy Sci.*;92:5769-801.
- Rosenberger G, G. Sali and G. Dirksen. 1993. Esame del rumine in L'esame clinico del bovino. Ed. Ediagricole Terz.Ed. p:258-263
- Rushen J., D. Haley, and A. M. de Passillé. 2007. Effect of softer flooring in tie stalls on resting behavior and leg injuries of lactating cows. *J. Dairy Sci.* 90:3647–3651.
- Sato S., S. Sako and A. Maeda. 1991. Social licking patterns in cattle (*Bos taurus*): influence of environmental and social factors. *Applied Animal Behaviour Science* 32:3–12.
- Schlecht E., P. Hiernaux, I. Kadaoure, C. Hulsebusch and F. Mahler. 2006. A spatiotemporal analysis of forage availability and grazing and excretion behaviour of herded and free grazing cattle, sheep and goats in Western Niger. *Ecosystems and Environment* 113:226–242.
- Schreiner D. A. and P. L. Ruegg. 2002. Effects of Tail Docking on Milk Quality and Cow Cleanliness. *J. Dairy Sci.* 85:2503–2511.
- Shanahana C., B. Kernanb, G. Ayalewa, K. McDonnella, F. Butlera and S. Warda Shan. 2009. A framework for beef traceability from farm to slaughter using global standards: an Irish perspective. *Computers and Electronics in Agriculture* 66:62–69.
- Sprecher D.J., D.E. Hostetler and J.B. Kaneene. 1997. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. *Theriogenology* 47:1179–1187.
- Taylor, T. 1990. Interpretation of the correlation coefficient: a basic review. *J. Diagn. Med. Sonogr.* 1:35–39.

- Terramoccia S., S. Bartocci and A. Borghese. 2005. Nutritional requirements in buffalo cows and heifers. In Buffalo production and research (ed. A Borghese), pp. REU 67, 145–160. FAO, Rome, Italy.
- Thomas C.S., J. Nordstrom, K. Svennersten-Sjaunja and H. Wiktorsson. 2005. Maintenance and milking behaviours of Murrah buffaloes during two feeding regimes. *Applied Animal Behaviour Science* 91:261–276.
- Treaty on the Functioning of the European Union (consolidated version C115/47) of 9/5/2008. First part, Title II, Article 13).
- Trebeschi G. 2008. Robot di mungitura un'innovazione pro e contro; http://www.aia.it/tecnico/SCM_doc/robot%20mungitura.
- Trenel P., M. B. Jensen, E. L. Decker and F. Skjoth. 2009. Technical note: Quantifying and characterizing behavior in dairy calves using the IceTag automatic recording device. *J. Dairy Sci.* 92:3397–3401.
- Trevharten, A. and K. Michael. 2008. The RFID-enabled dairy farm: towards total farm management. In: 7th International Conference on Mobile Business, Barcelona, Spain.
- Tripaldi C., G. De Rosa, F. Grasso, G.M. Terzano and F. Napolitano. 2004. Housing system and welfare of buffalo (*Bubalus bubalis*) cows. *Animal Science* 78:477–483.
- Urton G., M. A. G. von Keyserlingk and D. M. Weary. 2005. Feeding behavior identifies dairy cows at risk for metritis. *J. Dairy Sci.* 88:2843–2849.
- Vecchio D., G. Neglia, R. Di Palo, A. Prandi, B. Gasparrini, A. Balestrieri, M. J. et al. Is a Delayed Treatment with GnRH, hCG or Progesterone Beneficial for Reducing Embryonic Mortality in Buffaloes? *Reprod. Domest. Anim.* 2008; 45:614-8.
- Viazzi S., C. Bahr, A. Schlageter-Tello, T. Van Hertem, C. E. Romanini, A. Pluk, I. Halachmi, C. Lokhorst and D. Berckmans. 2013. Analysis of individual classification of lameness using automatic measurement of back posture in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 96:257–266.
- Vidu L., C. Diaconescu, A. Udriou, V. Bacila, D. Popa, R. Popa and M. Stanciu. 2014. The Buffalo -Part Of Animal Biodiversity In Romania And The Importance For The Bioeconomy. In 14th International Multidisciplinary Scientific Geoconference Surveying Geology and Mining Ecology Management, SGEM, 2014; 5:665-72.

- Von Keyserlingk M. A. G., J. Rushen, A. M. de Passille and D. M. Weary. 2009. Invited review: The welfare of dairy cattle-key concepts and the role of science. *J. Dairy Sci.* 92:4101-4111
- Voulodimos A. S., C. Z. Patrikakis, A. B. Sideridis, V.A. Ntafis and E.M. Xylouri, 2010. A complete farm management system based on animal identification using RFID technology. *Computers and Electronics in Agriculture* 70:380–388.
- Wagner J. J., K. S. Lusby, J. W. Oltjen, J. Rakestraw, R. P., Wettemann and L. E. Walters. 1988. Carcass composition in mature Hereford cows: Estimation and effect on daily metabolizable energy requirement during winter. *J. Anim. Sci.* 66:603.–612.
- Weiss, D., S. Helmreich, E. Möstl, A. Dzidic, and R. M. Bruckmaier. 2004. Coping capacity of dairy cows during the change from conventional to automatic milking. *J. Anim. Sci.* 82:563–570.
- Welfare Quality. 2009. Welfare Quality Assessment Protocol for Cattle. Welfare Quality Consortium, Lelystad, the Netherlands.
- Westin R., A. Vaughan, A.M. de Passillé, T. J. DeVries, E.A. Pajor, D. Pellerin, J.M. Siegford, E. Vasseur and J. Rushen. 2016. Lying times of lactating cows on dairy farms with automatic milking systems and the relation to lameness, leg lesions, and body condition score. *J. Dairy Sci.* 99:551–561.
- Whay H.R., A.E. Waterman and A.J.F. Webster. 1997. Associations between locomotion, claw lesion and nociceptive threshold in dairy heifers during the peri-partum period. *The Veterinary Journal* 154:155–161.
- Whay H.R., A.E. Waterman, A.J.F. Webster and J.K. O'Brien. The influence of lesion type on the duration of hyperalgesia associated with hind limb lameness in dairy cattle. *Vet. J.* 1998; 156:23-9.
- Winckler C., J. Brinkman and J. Glatz. 2007. Long-term consistency of selected animal-related welfare parameters in dairy farms. *Anim. Welf.* 16:197–199.
- Windschnurer I., C. Schmied, X. Boivin and S. Waiblinger. 2008. Reliability and inter-test relationships of tests for on-farm assessment of dairy cows' relationship to humans. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 114:37–53.
- Zehner N, Niederhauser J J, Nydegger F, Grothmann A, Keller M, Hoch M, Haeussermann A, Schick M. 2012. Validation of a new health monitoring system (RumiWatch) for combined automatic measurement of rumination, feed intake,

water intake and locomotion in dairy cows. Information Technology, Automation AND Precision Farming. International Conference of Agricultural Engineering - CIGR-AgEng 2012: Agriculture AND Engineering for a Healthier Life, Valencia, Spain, 8-12 July 2012.

Ringraziamenti

Desidero ringraziare:

la Prof.ssa Natascia Cocchia, relatrice di questa tesi per la sua disponibilità e cortesia;

il Prof. Paolo Ciaramella, per le opportunità che mi ha concesso e la fiducia che ha riposto in me;

il Prof. Adrian Steiner, per l'ospitalità a Berna e per avermi dato la possibilità di partecipare a questo progetto;

il Dott. Jacopo Guccione, per la sua inesauribile pazienza e i preziosi consigli;

il Dott. Maher Alsaad per l'aiuto tecnico datomi durante la validazione del dispositivo;

mio padre per avere ispirato la mia scelta, osservando con discrezione il mio percorso di crescita;

mamma, Pasquale, Paolo, Silvia e Tutta la mia Famiglia per aver sempre creduto in me.

Barbara per aver sempre perdonato i miei sbagli e compreso che il tempo sottratto a lei ha permesso questo lavoro.