

IZS

T E R A M O

/

ISTITUTO
ZOOPROFILATTICO
SPERIMENTALE
DELL'ABRUZZO
E DEL MOLISE
"G. CAPORALE"

DALL'INTELLIGENZA ARTIFICIALE AL BENESSERE ANIMALE

Applicazione dell'Intelligenza artificiale nel rilievo di condizioni di scarso benessere/malessere nelle fasi di allevamento e di premacellazione degli animali domestici (AppIA-Ben)

Giusy Matteucci, DVM

Il benessere animale come priorità sociale ed economica

- Crescente attenzione dei consumatori europei verso il benessere degli animali d'allevamento, durante il trasporto e al mattatoio.
- Questa sensibilità influenza il mercato alimentare, rendendo cruciale la tutela del benessere animale.
- L'Unione Europea ha una lunga tradizione normativa in materia, con direttive specifiche per diverse specie, ma meno attenzione per gli ovini.
- La Regione Abruzzo, con una significativa tradizione ovina (circa 170.000 capi), rappresenta un contesto rilevante per lo studio del benessere di questa specie.



IZS

T E R A M O

ISTITUTO
ZOOPROFILATTICO
SPERIMENTALE
DELL'ABRUZZO
E DEL MOLISE
"G. CAPORALE"

Unità operative coinvolte

U.O.1 REPARTO DI BENESSERE ANIMALE

U.O. 2 REPARTO DI IMMUNOLOGIA E SIEROLOGIA

U.O. 3 REPARTO BROMATOLOGIA E RESIDUI

U.O. 4 REPARTO SCIENZE STATISTICHE E GIS

U.O. 5 REPARTO FORMAZIONE E PROGETTAZIONE

U.O. 1 EMS (UNIMORE, AIMAGELAB)



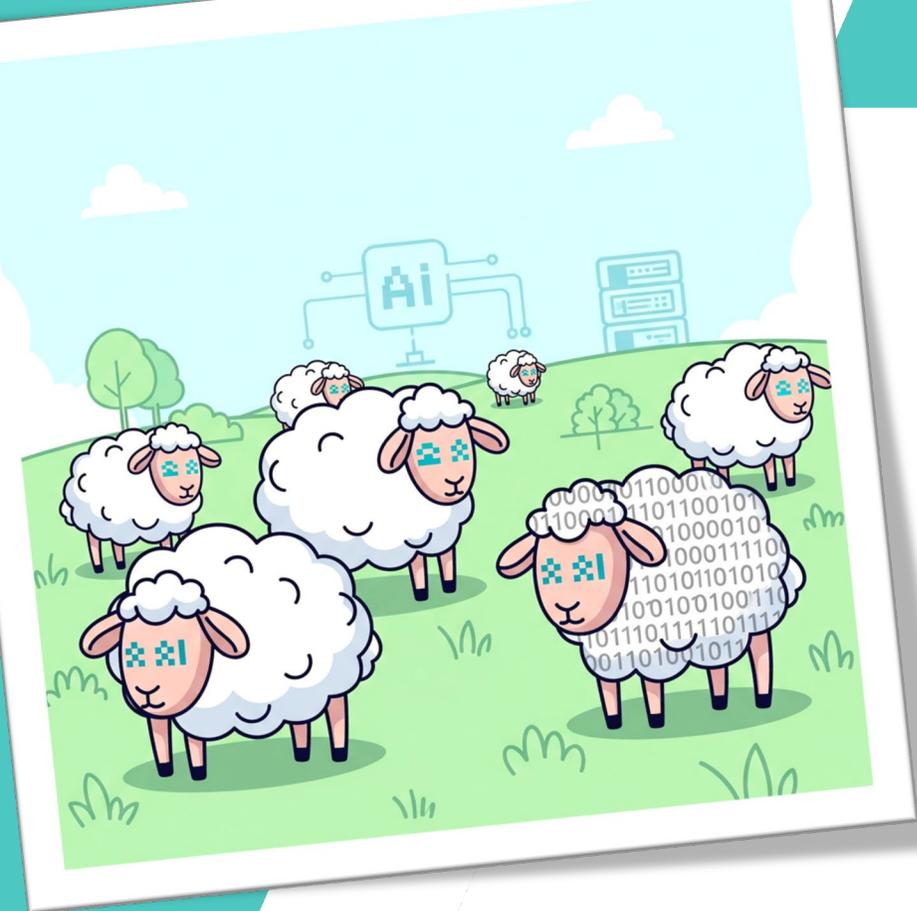
Obiettivi

Obiettivi a breve termine:

- individuare indicatori per l'individuazione automatica di scarse condizioni di salute e benessere negli ovini;
- identificare sensori efficaci nel misurare il comportamento degli ovini;
- rivedere lo stato attuale dell'automazione nell'allevamento ovino in grado di misurare e interpretare i cambiamenti comportamentali in termini di salute e benessere degli animali.

Obiettivi a lungo termine:

- creare un protocollo utile per rilevare condizioni di scarso benessere animale;
- promuovere l'adozione dell'IA per incrementare il benessere animale.



Materiali e metodi

Studio bibliografico: possibili applicazioni dell'IA in Medicina veterinaria al fine di identificare:

- eventuali nuovi indicatori di benessere/malessere in allevamento e pre-macellazione degli ovini;
- esempi di applicazione dell'IA nella valutazione del benessere animale negli allevamenti;
- un modello predittivo volto a prevenire i rischi per il benessere animale nella fase di pre-macellazione.



Materiali e metodi

Protocolli per la valutazione del benessere

- ✓ Identificati indicatori chiave e punti critici; create schede di raccolta dati (check-list) specifiche per rilevare gli indicatori più rilevanti in momenti cruciali:
 - in allevamento: per monitorare il benessere quotidiano degli animali.
 - al mattatoio in fase di pre-macellazione

Queste check-list sono state adattate dal protocollo AWIN e confrontate con quelle utilizzate nel sistema ClassyFarm, garantendo la loro utilità e pertinenza per le esigenze del progetto.

Il protocollo AWIN per le pecore (AW-Indicators):

- A. Adeguata alimentazione
- B. Adeguate condizioni di vita
- C. Buona salute
- D. Comportamenti appropriati
- E. Altri indicatori

Il protocollo ClassyFarm per ovini :

- A. Strutture e attrezzature
- B. Biosicurezza
- C. Alimentazione e gestione dell'acqua
- D. Salute e benessere degli animali
- E. Comportamento e benessere psicologico
- F. Indicatori produttivi



Materiali e metodi

Valutazioni comportamentali del benessere mediante IA

- ✓ provare ad individuare un modello per la valutazione del benessere attraverso l'utilizzo dell'IA;
- ✓ predisposte attrezzature da collocare in stalla, al macello o direttamente sugli animali per valutare il comportamento, le variazioni comportamentali ed eventuali indicatori precoci di stress.
- ✓ tutti i dati raccolti utilizzati per sviluppare algoritmi di Machine Learning e AI (training, tuning e test) volti al monitoraggio del comportamento degli animali
- ✓ sperimentati e valutati algoritmi che fanno uso di tecniche differenti, anche in combinazione (come Machine learning, Deep learning e data mining) per risolvere problemi tipici dell'ambito computer vision e robotica ma contestualizzati al benessere animale. In particolare ci si è concentrati sullo sviluppo di un sistema basato sul **Multiple Animal Tracking (MOT)**.

Materiali e metodi

Campionamento e analisi di sangue, siero e urine: tot. 291 soggetti



- ✓ Animali in allevamento (ALL) (213 individui)
- ✓ Animali in allevamento: femmine dopo parto (ALL-P) (13 individui)
- ✓ Animali sottoposti a trasporto per breve distanza (entro i confini della provincia di Teramo) (TBD) (15 individui)
- ✓ Animali sottoposti a trasporto per lunga distanza (Sardegna-Teramo) (TLD) (50 individui)

- Esame emocromocitometrico
- Quantificazione markers di benessere/malessere mediante ELISA
- Quantificazione markers di benessere/malessere mediante analizzatore Vitros XT 7600 (analizzatore automatizzato)
- Elettroforesi capillare sierica (maggiore sensibilità e rapidità di analisi rispetto agli strumenti per elettroforesi sierica tradizionale)
- Analisi statistica
- Campionamento e analisi chimiche di lana e saliva di pecora (LC-HRMS/MS)

Modalità di prelievo dei campioni

Metodi minimamente invasivi



tubicini sterili e monouso applicati al corpo dell'aspiratore salivare portatile



tosatrice



ISTITUTO
ZOOFILATTICO
SPERIMENTALE
DELL'ABRUZZO
E DEL MOLISE
"G. CAPOREALE"

Analisi del cortisolo nella lana e nella saliva

- ✓ Preparazione del campione: 25 mg di lana polverizzata per l'estrazione.
- ✓ Estrazione e concentrazione: dopo l'aggiunta di metanolo per l'estrazione, il surnatante è separato e gli estratti vengono evaporati a 40 °C sotto flusso di azoto.
- ✓ Cromatografia: analisi tramite sistema Vanquish UPLC.
- ✓ Il protocollo di preparazione del campione concernente la saliva è il medesimo ad eccezione della prima estrazione;
- ✓ Validazione del metodo: conforme alla ICH guideline M10 (Bioanalytical Method Validation - Step 5)
- ✓ Sostanze target: Cortisone-13C3, Cortisolo-13C3, DHEAS-13C3, DHEA-13C3 (deidroepiandrosterone – DHEA – e la sua forma coniugata con un gruppo solforico – DHEA-S – costituiscono il maggior prodotto androgenico del corticosurrene);
- ✓ Campioni per la validazione: lana di ovini abruzzesi e saliva di ovini residenti nello stabilimento IZSAM.
- ✓ Applicazione del metodo: 13 campioni di lana e 26 campioni di saliva (2 campionamenti per 13 ovini). I campioni di saliva sono stati prelevati durante l'allevamento e prima della macellazione.

L'IA per il benessere animale

Computer vision in crescita: la visione artificiale si è evoluta enormemente, permettendo ai computer di comprendere e interpretare il mondo visivo in modo sempre più sofisticato.

- **Percezione, rilevamento e tracciamento:** grazie al deep learning, siamo in grado di percepire, rilevare e tracciare persone e oggetti con grande precisione, aprendo nuove possibilità in vari settori.
- **Applicazioni cruciali:** queste capacità sono fondamentali per la sicurezza, la mobilità urbana, la conservazione della fauna e, in particolare, per l'analisi del comportamento e del benessere animale.



Rilevamento e tracciamento

Object Detection: individuare e riconoscere persone e oggetti in immagini e video. Gli approcci si dividono in:

- ❖ Two-stage: Più accurati ma lenti (es. Faster R-CNN).
- ❖ One-stage: Più veloci ma leggermente meno precisi (es. la serie YOLO). Architetture Backbone: Componenti chiave che estraggono le caratteristiche dall'immagine (es. EfficientNet), essenziali per l'efficienza e l'accuratezza del modello.



Multiple Object Tracking (MOT): mantenere l'identità di più oggetti in movimento. Studia come le occlusioni possono compromettere il tracciamento, causando scambi di ID o frammentazione delle tracce.



Le sfide del monitoraggio animale (MAT)

- **Multiple Animal Tracking (MAT):** applicazione specifica del MOT per monitorare il movimento e il comportamento degli animali
- Difficoltà Specifiche:
 - ❖ Aspetto uniforme: molti animali si somigliano, rendendo difficile la distinzione.
 - ❖ Pose e movimenti complessi: la loro fluidità e la varietà di posture rendono la modellazione del movimento più ardua.
 - ❖ Mancanza di Benchmark: la scarsità di dataset di riferimento frena lo sviluppo e il confronto degli algoritmi.
- Approcci al tracking: i metodi di tracking-by-detection (es. bytetrack) sono attualmente i più performanti, superando gli approcci basati sull'attenzione nel contesto del MAT.

1. Ricerca bibliografica

L'analisi di oltre 100 pubblicazioni ha rivelato una carenza di dati in letteratura a supporto dell'idea progettuale integrata. Le specie animali più studiate sono bovini, ovi-caprini, suini, cavalli e animali selvatici (es. gazzelle, elefanti).

La maggior parte degli studi sui glucocorticoidi/biomarker dello stress nelle matrici pilifere animali si basa su immunosaggi per la rilevazione e quantificazione (es. Saluti *et al.* 2022, Gupta *et al.* 2023).



2. Quantificazione markers di benessere in sangue, siero e urine

- Analisi sierologiche: alcuni animali campionati hanno mostrato positività agli anticorpi per patogeni ovini, ma senza sintomi clinici evidenti durante il periodo di osservazione del progetto.
- Esame emocromocitometrico: sono stati analizzati vari parametri ematici (globuli bianchi/rossi, emoglobina, ecc.) in diversi gruppi di ovini (allevamento, post-parto, trasporto breve e lungo). il rapporto neutrofili/linfociti (N:L) ha mostrato differenze significative tra gli ovini in allevamento (ALL) e quelli sottoposti a lungo trasporto (TLD), e tra ovini post-parto (ALL-P) e TLD, indicando una risposta allo stress.
- Quantificazione biomarker (ELISA): i livelli di IL-6, TNF- α , cortisolo e aptoglobina hanno mostrato differenze significative tra i gruppi, suggerendo una risposta infiammatoria e di stress, in particolare legata al trasporto.
 - il cortisolo (ormone dello stress) e l'aptoglobina (proteina della fase acuta) erano significativamente diversi tra gli animali in allevamento e quelli trasportati (sia breve che lungo tragitto).
 - L'Y-IFN (gamma-interferone) non ha mostrato variazioni significative.

3. Quantificazione dei markers di benessere in saliva e lana

Analisi dei Campioni:

- Lana: rilevati cortisone (metabolita inattivo del cortisolo) in 3 campioni, e DHEA e DHEAS in tutti i campioni. Il rapporto cortisolo/DHEA e cortisolo/DHEAS è considerato un indicatore più affidabile del carico allostatico (stress) rispetto al solo cortisolo. I rapporti più alti sono stati riscontrati negli ovini 10, 3 e 11.
- Saliva: DHEA e DHEAS non rilevati. Il cortisolo era elevato ($> 10 \text{ pg}/\mu\text{L}$ in 9 su 13 ovini) prima della macellazione, indicando un'attivazione della risposta allo stress.

Cortisol

$\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{O}_5$



Implementazione preliminare IA per il benessere animale

Setup e monitoraggio:

- Un sistema hardware e software è stato creato per monitorare le pecore in un recinto tramite una singola telecamera.
- Il video continuo viene diviso in clip di 15 minuti per facilitare l'analisi.

Rilevamento e identificazione:

- YoloX rileva le pecore (trova i rettangoli intorno a loro).
- Segment Anything Model (SAM) delinea precisamente l'area di ogni pecora.
- Un sistema di reidentificazione usa i colori dipinti sugli animali (es. "due righe rosse = pecora 4") per assegnare un'identità univoca.
- L'algoritmo SORT traccia il movimento delle pecore nel tempo, basandosi sulle rilevazioni e prevedendo le loro posizioni.

Analisi comportamentale:

- Il sistema identifica in quale zona del recinto si trova ogni pecora (es. abbeveratoio, zona cibo) e calcola il tempo di permanenza per dedurre l'attività.
- La posizione viene trasformata in una "vista dall'alto" per un'analisi spaziale precisa.

IZS

TERAMO

ISTITUTO
ZOOPROFILATTICO
SPERIMENTALE
DELL'ABRUZZO
E DEL MOLISE
"G. CAPORALE"

Studio del modello sperimentale



IZS

TERAMO

ISTITUTO
ZOOPROFILATTICO
SPERIMENTALE
DELL'ABRUZZO
E DEL MOLISE
"G. CAPORALE"

Studio del modello sperimentale



Rilevamento e segmentazione degli animali

Reidentificazione degli animali

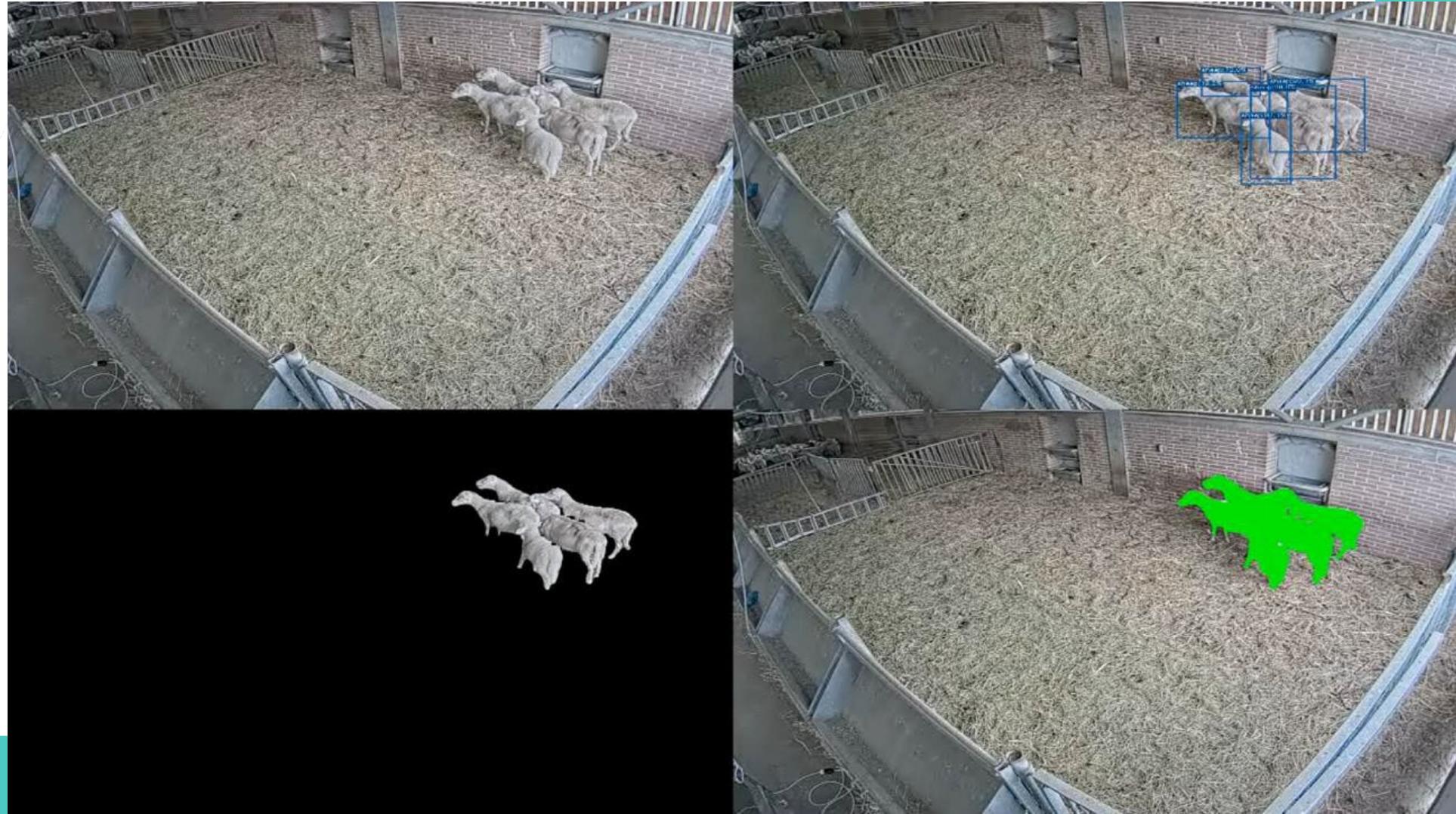


IZS

TERAMO

ISTITUTO
ZOOPROFILATTICO
SPERIMENTALE
DELL'ABRUZZO
E DEL MOLISE
"G. CAPORALE"

Studio del modello sperimentale



Fase di osservazione

- 13 pecore sono state monitorate in stalla per 15 giorni prima della macellazione, osservando riposo, alimentazione e interazioni sociali.
- Gli animali hanno mostrato segni di benessere (coesione del gruppo, buona condivisione degli spazi), suggerendo l'assenza di stress significativo in questa fase.
- Campioni di saliva sono stati prelevati prima del trasporto e alla macellazione per misurare il cortisolo.
- Durante la fase pre-macellazione, sono stati osservati comportamenti di stress (agitazione, tentativi di fuga, tendenza a raggrupparsi), ma non è stato possibile usare l'IA per l'acquisizione di immagini/audio a causa di limitazioni ambientali e privacy.

IZS

T E R A M O

/
ISTITUTO
ZOOFILATTICO
SPERIMENTALE
DELL'ABRUZZO
E DEL MOLISE
"G. CAPORALE"

Discussione

- **Potenziale dell'IA:** l'uso di reti neurali addestrate con video ha dimostrato un notevole potenziale per valutazioni accurate e rapide del benessere animale, superando i limiti della valutazione manuale e aumentando l'obiettività. L'integrazione di AI con le tecniche tradizionali è la principale innovazione.
- **Sfide della raccolta dati:** il progetto ha riscontrato difficoltà nella raccolta di dati visivi durante la fase di pre-macellazione a causa di vincoli legati alla privacy. Questo ha limitato l'applicazione del sistema alla sola fase di allevamento, sebbene la pre-macellazione sia un momento critico per il benessere animale. Saranno necessarie soluzioni future per conciliare tecnologia e normative sulla privacy.

Discussione

Monitoraggio automatizzato del comportamento animale:

- Efficacia e non invasività: L'analisi del comportamento tramite telecamere e IA è un metodo non invasivo ed efficace per il monitoraggio in tempo reale, offrendo vantaggi rispetto ai metodi manuali (monitoraggio continuo, meno errori).
- Sfide tecniche: L'addestramento delle reti neurali richiede dati ampi e diversificati. Variabilità ambientale (es. illuminazione) può influire sulla precisione. Il Multiple Animal Tracking (MAT) è promettente ma complesso per i movimenti animali.

Biomarcatori di Stress:

- **Cortisolo e DHEA:** l'analisi di questi biomarcatori ha fornito informazioni cruciali. Il cortisolo nella lana indica stress cronico, mentre quello nella saliva indica stress acuto (es. da trasporto).
- **Impatto del trasporto:** il trasporto, in particolare quello lungo, è una fonte significativa di stress per gli ovini, come confermato dai livelli alterati di cortisolo e altri biomarcatori. Ciò sottolinea l'importanza di migliorare le pratiche di trasporto.
- **Altri biomarcatori:** sono stati analizzati anche parametri ematologici (es. globuli bianchi), il rapporto neutrofili/linfociti (N:L), proteine della fase acuta (aptoglobina, CRP - proteina C reattiva) e citochine (IL-6, TNF- α , IFN- γ). N:L è un buon marker di stress a medio/lungo termine. Aptoglobina e CRP sono indicatori di stress/infiammazione a breve termine. IFN- γ non ha mostrato differenze significative.
- **Elettroforesi capillare sierica:** ha permesso di definire intervalli di normalità per le frazioni proteiche del siero ovino. Anomalie nei tracciati (es. aumento gamma-globuline, diminuzione albumina) sono state associate alla presenza di anticorpi verso patogeni, indicando stati infiammatori o patologici. Questa metodica può supportare l'individuazione di stress/malattie.
- **Conferma dei dati:** le analisi hanno confermato che IL-6, TNF- α , cortisolo e aptoglobina sono validi marcatori di benessere/malessere negli ovini, influenzati in particolare dal trasporto. Sono necessarie ulteriori ricerche su gruppi diversi per confermare la loro idoneità.

IZS

T E R A M O

/

ISTITUTO
ZOOPROFILATTICO
SPERIMENTALE
DELL'ABRUZZO
E DEL MOLISE
"G. CAPORALE"

Conclusioni

- L'IA trasforma l'allevamento, rivoluzionando la zootecnia, migliorando la salute, l'alimentazione e il benessere degli animali. sebbene finora si sia concentrata su bovini e suini, l'interesse per ovini e pollame è in crescita.
- Monitoraggio potenziato: integrare l'IA con sensori e machine learning permette un monitoraggio continuo e oggettivo del benessere animale, superando i limiti della valutazione manuale.
- Vantaggi dell'automazione: l'IA aiuta gli allevatori a interpretare la grande quantità di dati generati, supportando decisioni più mirate per la produttività e la sostenibilità.
- La necessità di collaborazione: per un'adozione più ampia dell'IA in diversi contesti di allevamento, è cruciale la collaborazione tra allevatori, tecnologi e ricercatori.

Conclusioni

- **Biomarcatori affidabili:** questo studio ha sviluppato metodi avanzati (LC-HRMS/MS) per misurare accuratamente cortisolo, cortisone, DHEA e DHEAS nella lana e nella saliva. Questi metodi sono più precisi degli immunosaggi e permettono di valutare sia lo stress acuto (saliva) che quello cronico (lana).
- **Stress da trasporto confermato:** i dati mostrano che il trasporto attiva le risposte fisiologiche allo stress negli ovini, sottolineando l'importanza di pratiche migliorative.
- **Prossimi passi:** ulteriore ricerca per comprendere meglio lo stress cronico nella lana, data la mancanza di dati di riferimento; sviluppare sistemi pratici e accessibili anche per i piccoli allevamenti, affrontando i costi e la scalabilità; superare le sfide legate alla privacy per monitorare gli animali in tutte le fasi della loro vita, inclusa la macellazione.

IZS

T E R A M O

/

**ISTITUTO
ZOOPROFILATTICO
SPERIMENTALE
DELL'ABRUZZO
E DEL MOLISE
"G. CAPORALE"**

Grazie per l'attenzione