

Percorso di Formazione a Distanza (FAD)

# La sindrome della sub-fertilità nella vacca da latte

## 15 CREDITI ECM

AUTORE

Alessandro Fantini

Facoltà di Medicina Veterinaria - Università di Perugia

### PRIMA PARTE

#### Metabolismo e fertilità nella vacca da latte

### SECONDA PARTE

#### Nutrizione e fertilità nella vacca da latte

### TERZA PARTE

#### Influenza della nutrizione sulla corretta ripresa dell'attività ovarica

### QUARTA PARTE

#### Importanza di una corretta rilevazione dell'estro e del momento adatto alla fecondazione

### QUINTA PARTE

#### Principali patologie ovariche e uterine in grado di mettere a rischio l'instaurarsi della gravidanza

Sponsor:



RESPONSABILE SCIENTIFICO

Fausto Cremonesi

Professore Ordinario,

Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie

Università degli Studi di Milano

PERCORSO FORMATIVO:

# La sindrome della sub-fertilità nella vacca da latte

QUARTA PARTE

## Importanza di una corretta rilevazione dell'estro e del momento adatto alla fecondazione

AUTORE: Alessandro Fantini  
Facoltà di Medicina Veterinaria - Università di Perugia

RESPONSABILE SCIENTIFICO: Fausto Cremonesi  
Professore Ordinario, Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie - Università degli Studi di Milano

**P**er determinare il buon andamento della fertilità nell'allevamento della vacca da latte, è necessario prendere in considerazione molti fattori, come la genetica, la nutrizione, la sanità, l'ambiente e il *management*. Quest'ultimo aspetto ha un'importanza rilevante e comprende sia le buone pratiche veterinarie, soprattutto nella gestione del *post partum*, sia la corretta rilevazione del calore e del giusto momento per praticare la fecondazione artificiale da parte dell'allevatore. Altro aspetto fondamentale è la gestione del materiale seminale e le tecniche di fecondazione artificiale. Negli allevamenti in cui si pratica ancora la fecondazione naturale, ossia dove è presente un toro costantemente a contatto con le bovine o dove le bovine sono condotte dal toro, la rilevazione del calore e la determinazione del momento idoneo per praticare la fecondazione diventano aspetti marginali. Infatti, come noto, il toro è in grado di riconoscere con notevole precisione il comportamento estrale delle femmine e, quindi, fecondarle nei tempi adeguati. Una bovina difficilmente accetta di essere fecondata dal toro in un periodo diverso dal ciclo estrale e lo accetta solo quando esibisce il comportamento estrale di "ferma alla monta" (FAM). Nella maggior parte degli allevamenti da latte, sia per motivi sanitari sia per ragioni legate alla selezione genetica, si pratica la fecondazione artificiale; quindi, l'efficacia e l'efficienza del-

la corretta rilevazione del calore e del giusto momento per praticare la fecondazione è quanto mai importante e prioritario. L'importanza di questo aspetto nella gestione della fertilità è nota da molto tempo, ma è tornata prepotentemente all'attenzione della comunità scientifica grazie allo studio condotto da Sturman *et al.*, della Cornell University, pubblicato su *Theriogenology* nel 2000, dal titolo provocatorio "Importance of inseminating only cows in estrus". Gli Autori, inizialmente, fanno riferimento a uno studio di Nebel del 1986, in cui si riporta che la rilevazione del calore è un problema che interessa il 30% degli allevamenti analizzati e che più del 46% delle bovine sono inseminate quando la concentrazione di progesterone (P4) è ancora elevata, ossia in fase luteinica o, addirittura, in gravidanza. A supporto di tali osservazioni, Sturman *et al.* riportano i risultati ottenuti dall'esame di 242 bovine nell'allevamento della Cornell University. Sono stati analizzati circa 1.200 campioni di latte, prelevati tre volte alla settimana nei primi 120 giorni dopo il parto e nei primi 75 giorni nei casi di gravidanza accertata, ossia nei periodi in cui la concentrazione di P4 è più alta e significativa. In base ai dati ottenuti, l'estro è stato definito come il periodo in cui il P4 è <1 ng/ml (tabella 1). L'articolo riporta anche i dati raccolti nel periodo 1996-1997 dalla cooperativa che gestisce la fecondazione artificiale in Israele. Il personale adibito a questo servizio è addestrato al ri-

**TABELLA 1. CORRELAZIONE TRA CONCENTRAZIONE DI P4, NUMERO DI INSEMINAZIONI E PERCENTUALE DI CONCEPIMENTO**

P4 (ng/ml)	N° di inseminazioni	Tasso di concepimento
<1	30	60
1-2	120	53,3
3-5	145	42,8
6-10	30	33,3
>10	55	18,2
Media	380	43,2

conoscimento dei segni di calore, ossia del comportamento estrale della vacca da latte, e a verificare, in base ai dati e alla palpazione transrettale, se la vacca in calore è già gravida; inoltre, tramite l'esame del muco (viscosità e trasparenza), gli operatori sono in grado di escludere dalla fecondazione le bovine con patologie uterine. Nel periodo considerato, ben 55.390 bovine in calore non sono state fecondate, in quanto non rispondenti ai requisiti. In conclusione, in base allo studio di Sturman, molte bovine sono sottoposte a FA sebbene non fecondabili, in quanto ancora in fase luteinica. Inoltre, un elevato numero di animali è sottoposto a FA quando già gravidi, con conseguenti aborti (7%) e riassorbimenti embrionali (24%). Queste considerazioni sono confermate anche da altri Autori. Secondo Barr (1995), la percentuale di rilevazione dei calori è pari al 50% e il 24% dei calori è di breve durata e ridotta intensità. Inoltre, una ricerca condotta da Mayne nel 2002 su 19 allevamenti, evidenzia una notevole variabilità nella percentuale di rilevazione dei calori (53-92%). In base a quanto riportato, è evidente che è necessario migliorare la gestione, l'efficienza (qualità dell'osservazione e riconoscimento) e l'accuratezza della rilevazione dei calori, al fine di ridurre al minimo le inseminazioni di bovine non in calore o, comunque, non fecondabili.

2

## I COSTI

Quantificare i costi derivanti dalla scarsa efficienza della rilevazione dei calori e del momento giusto per la FA è relativamente facile, in quanto la conseguenza diretta è un allungamento dell'interparto. Ogni fecondazione "saltata" o mal praticata comporta la perdita di 21 giorni. È noto che la produzione di latte in una bovina avviene per fasi, così come descritto dalla funzione matematica detta "curva di Wood", messa a punto dall'omonimo autore nel 1966 (figura 1). Questa funzione matematica descrive la curva di lattazione ed è caratterizzata da un picco produttivo seguito da un declino, più ripido in caso di gravidanza. Quindi, più elevato è il numero di giorni medi di lattazione di una bovina o di un alleva-

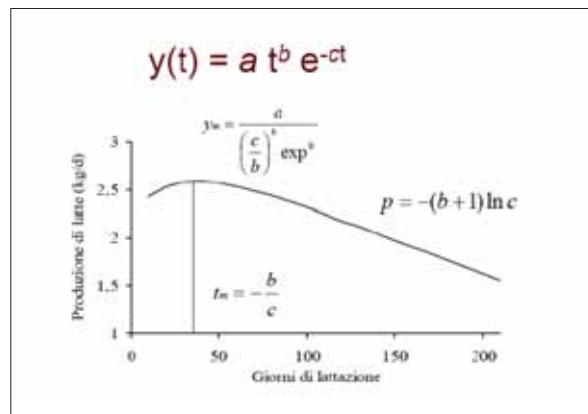


Figura 1. La curva di Wood.

mento, minore è la produzione latte. I giorni medi di lattazione sono essenzialmente influenzati dalla fertilità e, più in particolare, dall'intervallo parto-concepimento o *day open*. Più precoce è la gravidanza, più si riducono i giorni medi di lattazione e più le bovine possono essere munte in prossimità del picco di lattazione. In base alla curva di Wood e conoscendo la produttività media della mandria o della singola bovina, la perdita produttiva è facilmente quantificabile. In una simulazione pubblicata nel 2008 sulla rivista l'Allevatore, elaborando i dati AIA 2007 riguardanti 1.100.401 bovine frisone controllate in Italia, è stato evidenziato che il recupero di 30 giorni medi di lattazione, tramite la semplice riduzione dell'intervallo parto-concepimento, a parità di costi, incrementerebbe la produzione di 4 kg di latte per capo in lattazione. Al contrario, la mancata produzione comporterebbe una perdita economica di circa € 400 per lattazione (prezzo del latte € 35/q). Questa simulazione non tiene conto delle dosi di seme sprecate; infatti, una tecnica di fecondazione artificiale imprecisa, nei modi e nei tempi, comporta un inevitabile incremento del numero di fecondazioni per gravidanza.

## IL CICLO ESTRALE DELLA BOVINA

Propedeutica è la conoscenza delle modificazioni ormonali e strutturali delle formazioni ovariche durante il ciclo estrale, intese come presenza o meno del corpo luteo, taglia e tipo di follicoli (figura 2). Alcuni follicoli sviluppano una cavità piena di fluidi (antro) e solo uno o due follicoli si trasformano in dominanti e, quindi, potenzialmente in grado di ovulare, rilasciando l'ovocita alla fine del calore. Le bovine possono sviluppare, per ogni ciclo estrale, due, tre o quattro gruppi di follicoli, dai quali emerge un solo follicolo destinato a diventare dominante. Quest'ultimo, una volta emerso, inibisce lo sviluppo degli altri follicoli presenti. Quindi, in ogni fase del ciclo estrale possiamo trovare, contemporaneamente presenti sulle ovaie, follicoli di picco-

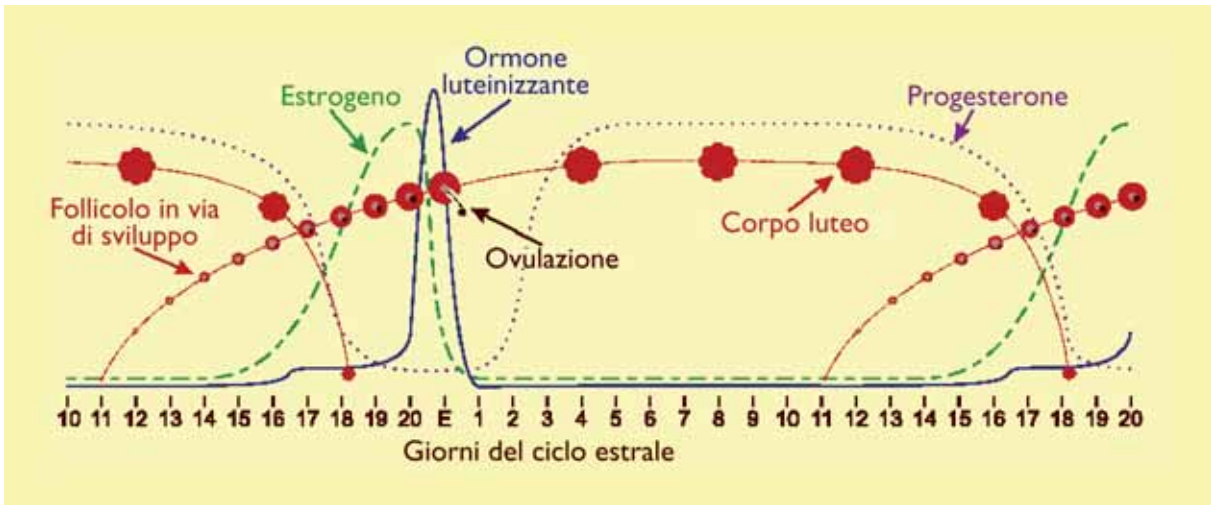


Figura 2. Modificazioni ormonali e strutturali che caratterizzano il ciclo estrale della bovina.

le, medie e grandi dimensioni. Le ondate follicolari hanno come principale fattore di crescita l'ormone ipotalamico FSH. A un certo punto, un follicolo devia e diventa dominante, inibendo la crescita degli altri follicoli della corte, per l'incremento della produzione di estrogeni (17β-estradiolo). Il follicolo dominante è in grado di indurre l'estro e ovulare se il corpo luteo va incontro a lisi per aumento della produzione di prostaglandine (PGF<sub>2α</sub>), prodotte dall'utero in seguito alla mancata inibizione di un'incipiente gravidanza. La ridotta produzione di progesterone (<1 ng/ml) non è in gra-

do di inibire la secrezione di LH. La presenza di cortisolo, ACTH e desametasone, genericamente ascrivibili a situazioni di stress (stressori) sono in grado di ritardare o bloccare la secrezione dell'LH (o meglio, la sua attività pulsatile) e, quindi, di inibire l'estro senza alterare la secrezione pre-estrale di estrogeni. Al 18° giorno del ciclo estrale, che dura mediamente 21 giorni (18-24), il corpo luteo presente come residuo dello scoppio follicolare del ciclo precedente inizia a regredire, con la conseguente riduzione della concentrazione del progesterone circolante (figura 3). Il follicolo dominante, selezio-

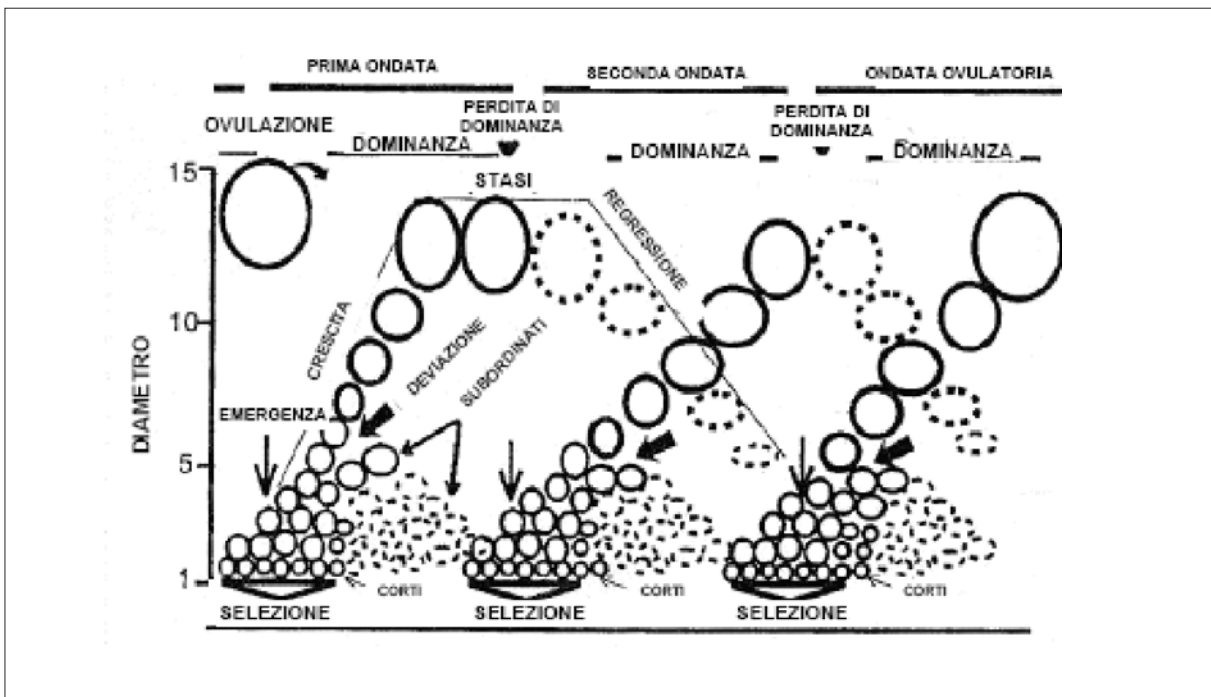


Figura 3. Ondate di maturazione follicolare durante un ciclo estrale.

nato dall'ultima corte follicolare, continua ad aumentare di dimensioni e, conseguentemente, aumenta la concentrazione di estrogeni responsabili degli atteggiamenti della vacca da latte che rientrano nel cosiddetto "comportamento estrale". L'incrementata presenza di estrogeni circolanti, provenienti dal follicolo dominante, esercitano un'azione di stimolo sulla secrezione ipofisaria di LH; in altre parole, aumentano l'ampiezza e la frequenza della sua secrezione. L'LH è l'ormone responsabile dell'ovulazione, ossia della deiscenza del follicolo, che avviene solitamente 25-32 ore dopo l'inizio del sintomo "ferma alla monta". Il follicolo, dopo l'ovulazione, trasformatosi in corpo luteo, aumenta progressivamente le sue dimensioni e inizia la secrezione di progesterone. La concentrazione di progesterone circolante raggiunge il picco e, successivamente, il *plateau*, dal 6° al 18° giorno del ciclo estrale. I follicoli, che continuano a svilupparsi nel periodo centrale del ciclo, producono estrogeni, che raggiungono due picchi, anche se di minima entità. La presenza del corpo luteo e, quindi del progesterone, ne impedisce la piena maturazione e la manifestazione dei segni di calore. Il progesterone, nel frattempo, prepara l'utero per l'eventuale gravidanza, inibendone la contrattilità; se la bovina non resta gravida, il corpo luteo regredisce e il calo della produzione di progesterone consente la piena maturazione del follicolo dominante. Pertanto, il ciclo estrale della bovina può essere suddiviso in quattro periodi distinti: proestro, estro, metaestro e diestro. Gli elementi che contraddistinguono il proestro sono il declino della secrezione di progesterone, l'aumento della secrezione di estrogeni e la comparsa dei segni secondari del calore. In questo periodo, è presente il follicolo dominante e il corpo luteo in piena regressione. La bovina è in proestro verso il 18° giorno del ciclo estrale. L'estro è la fase del calore vero e proprio, durante il quale è possibile osservare il segno di "ferma alla monta" (la bovina accetta di essere cavalcata dal toro o dalle altre bovine). In questa fase, il follicolo dominante raggiunge le sue massime dimensioni e, quindi, si registra la massima produzione di estrogeni e la minima di progesterone. La fase successiva, il metaestro, è quella in cui avviene l'ovulazione e si sviluppa il nuovo corpo luteo. Ha inizio dopo il 21° giorno del ciclo e dura circa 3-5 giorni. In questa fase, la produzione di estrogeni raggiunge il *nadir* e, al contempo, aumenta progressivamente il progesterone. L'ultima fase, il diestro, è quella più lunga: inizia dopo il 3°-5° giorno del ciclo estrale e termina dopo il 18° giorno. In questo lungo periodo, caratterizzato da un'alta produzione di progesterone, si susseguono le varie ondate follicolari e i conseguenti picchi di estrogeni, di piccole dimensioni. Durante le ondate follicolari possono emergere i follicoli dominanti, che non possono raggiungere le dimensioni necessarie per ovulare, in quanto il

progesterone, secreto dal corpo luteo presente, svolge la sua azione inibente.

### Il comportamento estrale

Per migliorare l'accuratezza e l'efficienza della rilevazione dei calori è necessario individuare il momento più indicato per la fecondazione artificiale; quindi, è fondamentale conoscere dettagliatamente il comportamento estrale della bovina e i segni primari e secondari del calore che la bovina manifesta nella fase di proestro ed estro. I comportamenti estrali sono caratterizzati dal fenomeno "all or none", ossia del "tutto o niente"; in altre parole, è possibile osservare tutti i comportamenti o nessuno, parzialmente slegati dalla concentrazione di estrogeni circolanti. Il segno vero e proprio (primario) del calore è quello noto come "ferma alla monta" ed è identico a quello che si osserva nella scrofa (riflesso di immobilità), ma anche in numerosi altri mammiferi. Questo periodo è determinato dalla massima produzione di estrogeni da parte del follicolo ovulatorio. Occasionalmente, a inizio o fine gravidanza, la bovina può esibire questo comportamento, attribuibile alla presenza di cisti follicolari o a eventi di varia natura che portano a un aumento degli estrogeni circolanti. Le bovine possono esprimere questo comportamento per un periodo molto variabile: 15-18 ore o, secondo alcuni Autori, 1-30 ore. I dati disponibili in letteratura indicano che, nel 6% delle bovine, l'estro dura 10 ore e, nel 18%, più di 21 ore. In questo periodo di tempo, la bovina può essere cavalcata da 20 a 55 volte e ciascun episodio può durare 3-7 secondi. Secondo un lavoro pubblicato da Dransfield nel 1998, condotto su 17 allevamenti, il comportamento "ferma alla monta" (FAM) si verifica mediamente 8,5 volte (6,4-12,8) per estro e la durata media effettiva dell'estro è di 7,1 ore (5,5-10,6). Un altro studio, condotto su bovine al pascolo, riporta che la durata media dell'estro è pari a 8,6 ore, con 11,2 eventi FAM. Particolarmente importanti sono i segni secondari che la bovina manifesta prima, durante e dopo il comportamento FAM, in nessun modo correlati con l'ovulazione. Un effetto indiretto dell'elevata produzione di estrogeni è rappresentato dalla produzione di muco da parte della cervice e il suo accumulo in vagina prima, durante e subito dopo l'estro. In condizioni fisiologiche, il muco è trasparente, filante e molto viscoso, e può essere osservato a livello di rima vulvare, regione vulvare e base della coda. In ogni caso, a volte è visibile solo dopo l'esplorazione rettale realizzata in concomitanza con la fecondazione artificiale. La qualità e la quantità di muco possono fornire all'operatore numerose informazioni. La quantità prodotta è direttamente proporzionale agli estrogeni secreti, mentre la presenza di pus o la mancanza di trasparenza possono essere sinonimi di patologie uterine, che potrebbero decretare l'insuccesso della fecondazione. La vulva delle bovine in calore è

edematosa e la sua superficie interna rossa e umida. Queste modificazioni, che insorgono prima del calore e permangono, per un breve periodo, anche dopo il calore, pur essendo considerate segni secondari, non sono particolarmente specifiche. Nella fase di proestro, le bovine sono più attive (aumento dell'attività motoria), più inquiete e muggiscono più frequentemente. A seguito dell'attività di cavalcamento si possono osservare escoriazioni alla base della coda o in altri parti del corpo, soprattutto nelle bovine veramente in calore. Inoltre, in questa fase, le bovine appoggiano il mento sulla parte posteriore delle compagne, probabilmente per verificare la presenza del riflesso di ferma alla monta. Altri comportamenti caratteristici, simili a quelli del toro, sono l'annusamento dei genitali e delle urine di altre bovine e il riflesso di Flehmen, che sembrerebbe avere lo scopo di aumentare il flusso d'aria all'organo vomero-nasale per individuare più facilmente i feromoni. La bovina in calore dedica meno tempo all'assunzione di cibo e, quindi, può andare incontro a un calo della produzione lattea. Infine, per 1-3 giorni dopo l'estro, in alcuni individui, è possibile rilevare un scolo di muco e sangue dalla vulva, derivante dalla rottura dei vasi proliferati a livello uterino sotto l'azione degli estrogeni. Per riassumere, possiamo quindi dire che le bovine prima dell'estro annusano, appoggiano il mento sulla groppa delle altre bovine, aumentano la loro attività motoria, cavalcano le altre bovine e presentano una vulva edematosa e arrossata. Durante il calore accettano di essere cavalcate, muggiscono frequentemente, sono nervose ed eccitabili, mangiano meno, producono meno latte e presentano muco trasparente alla rima vulvare. Dopo il calore, la motilità si riduce notevolmente e possono essere presenti perdite vulvari striate di sangue. Nella valutazione visiva del calore, in base al *Detection of Oestrus Score* (DOS), a ognuno di questi segni si assegna un punteggio.

## DETECTION OF OESTRUS SCORE (DOS)

Il DOS considera come livello soglia un punteggio totale pari a 50, derivante da 2-3 osservazioni giornaliere (somma dei punteggi assegnati a ogni segno osservato) (tabella 2). Ovviamente, l'evento FAM ha il massimo punteggio (100) e, quindi, indica che la bovina è sicuramente in calore. Al comportamento "monta di un'altra bovina dalla parte della testa" si devono assegnare 45 punti, mentre alla monta o al tentativo di montare altre bovine per almeno 6 volte al giorno, 35 punti. I segni secondari, osservabili soprattutto nella fase di proestro, come appoggiare il mento su un'altra bovina, lo scolo vaginale di muco viscoso (significativo se lungo più di 50 cm), l'incremento dell'attività motoria, il segno di Fleh-

Segno	Punteggio
<b>Scolo di muco dalla vagina</b> (indicativo quando è visibile un lungo scolo di muco chiaro >50 cm)	3
<b>Segno di Flehmen</b> (è significativo se associato ad altri sintomi)	3
<b>Agitazione</b> (è significativa se associata ad altri sintomi)	5
<b>Montata ma non ferma</b> (può dare falsi positivi)	10
<b>Annusa la vagina di un'altra bovina</b> (può dare falsi positivi)	10
<b>Appoggia il mento su un'altra bovina</b>	15
<b>Monta o cerca di montare altre bovine</b> (è significativo quando si verifica almeno 6 volte al giorno)	35
<b>Monta dal lato della testa altre bovine</b>	45
<b>Ferma alla monta</b> (è significativo quando si verifica almeno 3 volte al giorno)	100
Totale	Il livello soglia, con 2-3 osservazioni al giorno, è pari a 50 punti

men e l'annusare la vagina di altre bovine, ricevono punteggi bassi. Tuttavia, la somma dei punteggi assegnati ai segni secondari può dare un totale di 50 e, quindi, i segni secondari possono indicare che la bovina è in calore. Precedentemente, abbiamo sottolineato l'importanza di individuare il momento più idoneo per praticare la FA e che l'ovulazione avviene  $27,6 \pm 5,4$  ore dall'evento FAM e, comunque, 12 ore prima dalla fine dell'estro. Come riportato da Walzer nel 1996, esiste una correlazione tra durata dell'estro e ovulazione ( $r^2 = 0,68$ ) (figura 4). Lo studio di Block del 2006 evidenzia la grande variabilità dell'intervallo tra inizio dell'estro e ovulazione. Infatti, Block considera normale un intervallo di 26-30 ore, anche se nel 30% delle bovine esaminate l'intervallo è risultato pari a 22-25 ore, men-

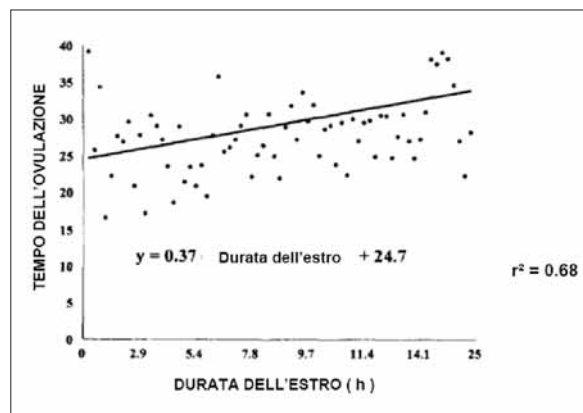


Figura 4. Correlazione tra durata dell'estro e ovulazione.

tre più del 20% dei soggetti hanno fatto registrare un intervallo superiore a 31 ore. Nel 2006, Wilthank ha evidenziato che, nei 10 giorni antecedenti il calore, esiste una correlazione tra la durata dell'estro e la produzione di latte. Si passa da 14 ore di estro in bovine che producono 30 kg di latte, a 6 ore di estro in bovine che producono più di 45 kg di latte. In ogni caso, le incertezze riguardanti la durata dell'estro e l'intervallo che intercorre tra l'inizio dell'estro e l'ovulazione, si sommano alla certezza che il tempo minimo necessario agli spermatozoi per risalire l'utero è di 6 ore e che la loro sopravvivenza non supera le 24-30 ore. La percentuale di successo della fecondazione è notevolmente influenzata da queste variabili. Tuttavia, si è potuto stabilire che il maggior tasso di concepimento (>50%) si raggiunge fecondando la bovina 5-14 ore dopo il primo evento FAM.

## METODI DI RILEVAZIONE DEL COMPORTAMENTO ESTRALE

Per una corretta messa a punto dei metodi di rilevazione del calore e per la scelta del giusto momento in cui praticare la FA, è necessario esaminare nel dettaglio le variazioni comportamentali e fisiologiche che caratterizzano la fase prostrale ed estrale. Nel 1954, Farris ha descritto, per la prima volta, le variazioni comportamentali della bovina in calore, annotando, tra l'altro, che la bovina aumenta di 4 volte la sua normale attività motoria, già 16 ore prima dell'estro. Durante l'estro osserviamo una variazione della concentrazione ematica di estrogeni e progesterone, un aumento del flusso ematico e della frequenza cardiaca e, nel giorno dell'estro, una brusca riduzione dell'assunzione di alimento, mentre il calo della produzione latte si registra già 1-2 giorni prima. Inoltre, si osserva un aumento della temperatura vaginale di 0,6-0,9 °C, un aumento della conducibilità e una riduzione dell'impedenza del muco. Accanto a questi aspetti e sempre nella necessità di mettere a punto sistemi di rilevazione del calore che siano al contempo efficaci ed efficienti, è necessario considerare gli aspetti fisio-patologici e ambientali che possono, in qualche modo, influenzare il comportamento estrale della bovina. La ripresa dell'attività ovarica dopo il parto, auspicabile in 20 giorni, dà luogo, fisiologicamente, a un comportamento estrale in meno del 50% dei soggetti, a causa di una "refrattarietà" ipotalamica agli estrogeni, tanto più marcata quanto più la prima ovulazione è vicina al parto appena avvenuto. L'ampiezza e la gravità del NEBAL (bilancio energetico negativo) nel primo quarto di lattazione hanno un impatto forte e diretto sia sulla ripresa dell'attività ovarica sia sul regolare susseguirsi dei calori dopo il parto, nonché sul comportamento estrale. Lo studio di

Mayne del 2002 riporta che la percentuale di rilevazione del calore è significativamente ridotta dalla perdita di BCS nei primi 100 giorni di lattazione (dall'84,2% al 58,7%). Sappiamo che l'estradiolo è responsabile del comportamento estrale "messo a punto" a livello ipotalamico e che è secreto dal follicolo ovarico nella fase antecedente la sua discesa. La sintesi degli estrogeni da parte delle cellule della granulosa necessita, oltre che di stimolazioni endocrine e paracrine, anche di precursori. Il precursore fondamentale è il colesterolo che, nella bovina, e più in generale in tutti gli erbivori, è di esclusiva produzione epatica (il colesterolo non è presente nei vegetali e, quindi, non può essere apportato dall'alimento). Se l'apporto di grassi alimentari non è sufficiente e, soprattutto, se il fegato non è perfettamente funzionale, la produzione e la concentrazione ematica di colesterolo, sia in forma libera sia esterificata, si riduce. Tale condizione è così vera per la vacca da latte, che il dosaggio del colesterolo ematico è considerato una prova della funzionalità epatica. Se per ragioni alimentari o disfunzioni epatiche, la concentrazione ematica di colesterolo diminuisce, viene a mancare, a livello di granulosa follicolare, il precursore dell'estradiolo e, quindi, l'ormone responsabile del comportamento estrale e del suo vigore. Nelle bovine HMG, il flusso di sangue alla mammella e agli organi addominali è decisamente elevato e, di conseguenza, la *clearance* epatica è superiore rispetto alle bovine LMG. Rispetto alle bovine LMG, nelle bovine HMG, a causa del maggior afflusso di sangue al fegato e in quanto più soggette a lipidosi epatica, la concentrazione di estrogeni può essere particolarmente bassa. Di conseguenza, le bovine HMG necessitano di maggior accuratezza nella rilevazione del comportamento estrale. Lo stress ambientale e sociale, per la maggior produzione di ACTH e cortisolo, possono condizionare i "sintomi" dell'estro. Inoltre, la durata dell'estro e gli eventi FAM sono particolarmente condizionati dal numero di bovine contemporaneamente in estro o proestro. Infatti, uno studio condotto da Hurnick riporta che, quando è in calore una singola bovina, l'estro dura meno di 8 ore e gli episodi FAM sono 11, mentre, se le bovine in calore sono 3, la durata dell'estro supera le 10 ore e si possono osservare più di 40 episodi FAM. Particolarmente importanti sono anche i fattori ambientali, come la pavimentazione e la temperatura. Infatti, un pavimento liscio e sdruciolevole influenza notevolmente molti comportamenti estrali. Come riportato da Britt, per le bovine che vivono su una superficie morbida, il calore è più lungo (13,8 ore) e gli eventi FAM sono più numerosi (7), rispetto alle bovine costrette a vivere su una pavimentazione sdruciolevole (9,4 ore e 3,2 eventi FAM). È noto che in estate, a causa delle elevate temperature e della notevole umidità (THI), le bovine possano contrarre la "sindrome da stress da caldo", o trovarsi nel-

la fase fisiologica di compensazione. In entrambi i casi, la bovina cerca di ridurre al massimo la produzione endogena di calore e di dissipare il più possibile quello prodotto. Dato che il comportamento estrale è caratterizzato da un incremento dell'attività, è inevitabile che i segni secondari di calore siano i primi a ridursi quando il THI supera 75, condizione che può verificarsi già a 25 °C, con un'umidità relativa dell'80%. Le patologie dei piedi della bovina, sia di natura infettiva (dermatiti) sia metabolica (laminiti), possono influenzare più o meno sensibilmente il comportamento estrale, in modo diretto o indiretto, attraverso il NEBAL. In uno studio inglese condotto su 770 vacche per 1.500 lattazioni, è stato riportato che le bovine con specifiche lesioni all'ungliello dovute a laminite hanno, rispetto alle bovine sane, un allungamento di 7 giorni dell'intervallo parto-primario servizio e di 11 giorni dell'intervallo parto-concepimento. La situazione si aggrava nelle bovine con lesioni alla suola sviluppate 36-70 giorni dopo il parto. La superficie della stalla, intesa come metri quadri a disposizione per le interazioni sociali, può ragionevolmente condizionare sia il benessere degli animali sia il comportamento estrale. In un determinato allevamento, prima di stilare un programma per la rilevazione del calore, è necessario sapere quando le bovine esibiscono più volentieri il loro estro. Normalmente, l'estro si manifesta durante le ore notturne o, più in generale, quando le bovine non sono distratte dalle operazioni di stalla e dal personale. Questo è tanto più vero quanto minore è il benessere degli animali. Se gli eventi FAM iniziano nelle prime ore serali, è possibile che siano osservabili anche 12 ore più tardi, falsando completamente la scelta del momento in cui praticare la FA. Quindi, un buon programma di fecondazione non può prescindere dalla considerazione che ogni stalla è diversa dalle altre. Far coincidere il momento d'osservazione dei calori con la somministrazione della razione, l'ingresso degli animali in sala di mungitura o le ore più calde della giornata è un grave errore. Inoltre, oltre ai fattori appena descritti, è necessario prendere in considerazione anche tutte le condizioni patologiche in grado di ridurre o annullare le manifestazioni estrali (patologie ovariche, uterine o mammarie). I metodi di rilevazione dei calori possono essere suddivisi in visivi, assistiti o farmacologici. Negli allevamenti commerciali, si ricorre spesso a più metodi contemporaneamente, al fine di migliorare l'efficienza e l'accuratezza della rilevazione. Per efficienza si intende la percentuale dei possibili periodi estrali individuati durante un determinato periodo e per accuratezza la percentuale dei periodi di calore rilevati nelle vacche realmente in calore.

Il metodo più diffuso è sicuramente la rilevazione visiva. Il primo calore dopo il parto, soprattutto se molto precoce, dà luogo a un comportamento estrale solo nel 50% dei casi e il secondo nel 94% dei ca-

**TABELLA 3. RELAZIONE TRA EVENTO ESTRALE ALL'INSEMINAZIONE ED ERRORE DI RICONOSCIMENTO DELL'ESTRO BASATO SULLA CONCENTRAZIONE DI PROGESTERONE NEL LATTE**

Evento estrale	Evento registrato	Progesterone $\geq 1$ ng/ml
	%	
Ferma	68,7	2,4
Maggiore attività	40,6	4,2
Cavalca altre bovine	38,2	2,5
Muco sulla vulva	25,4	5,2
Scorticatura sulla coda	23,6	3,3
Urla e grida	11,2	4,6
Sangue sulla vulva	0,4	17,6

si. Il rilevamento visivo si basa sull'osservazione dei vari comportamenti estrali che la vacca esibisce e soprattutto sull'individuazione dell'inizio dell'evento FAM. Considerando che il calore vero e proprio può durare anche meno di 12 ore e che in alcuni allevamenti le bovine manifestano i comportamenti estrali nelle ore più tranquille della giornata, qualora si adotti esclusivamente questo metodo, è necessario osservare gli animali con attenzione e per un periodo sufficiente, diverse volte al giorno (almeno 2 volte al giorno, per 20-30 minuti). Più i cicli di osservazione sono frequenti e lunghi, maggiore è l'accuratezza (si riduce il numero di calori che sfuggono alla rilevazione). Secondo quanto riportato in letteratura, l'efficienza di un programma che prevede una sola osservazione al giorno di 10 minuti è pari al 22%, mentre l'efficienza sale al 78% con 4 cicli di osservazione di 60 minuti. Possiamo quindi affermare che esiste una correlazione lineare tra numero di cicli d'osservazione e loro durata ed efficienza. Al contrario, l'accuratezza è legata alla rilevazione dei comportamenti estrali del calore vero e proprio, primo fra tutti l'evento FAM, il cui inizio deve essere individuato con precisione (tabella 3). Secondo uno studio realizzato da Hersche e Nebel nel 1994, ogni singolo comportamento estrale è associato a una precisa concentrazione di progesterone ematico. Gli errori nella valutazione dell'importanza dei singoli comportamenti, al fine di individuare il calore, possono comportare errori nella determinazione del momento in cui praticare la FA, con una conseguente riduzione della percentuale di concepimento, inversamente proporzionale alla concentrazione di progesterone. Negli allevamenti medio-grandi, la determinazione visiva è associata a metodi supplementari o aggiuntivi, definiti assistiti. Tali metodi, che prevedono sempre l'impiego di strumenti o tecnologie elettroniche, sono anche detti HDA (*Heat Detection Aids*). Tra questi, il più diffuso, economico, accurato e interessante, è sicuramente quello definito *Tail paint* o *Tailhead Markings*





Foto 1-5. Metodo *Tail paint*.

o *Tail chalking*, che per brevità indichiamo con l'acronimo TM (foto 1-5). Il TM consiste nell'applicazione di una grossa striscia di colore sulla base della coda della bovina, tramite appositi pastelli colorati, usati anche per marcare il bestiame. Si procede alla colorazione di tutte le bovine dopo la fine del periodo volontario d'attesa e sicuramente non gravide. L'applicazione può essere preceduta o meno dal taglio del pelo e, se ben fatta, può durare anche qualche giorno. Il TM si basa sul principio che, essendo la base della coda il punto più alto della groppa, quando una bovina FAM subisce la monta, il colore si sparge su tutta la groppa. Secondo un lavoro di Stevenson del 1999, l'accuratezza del TM varia dal 38 al 58% e la percentuale migliora se si pratica anche l'osservazione visiva e la palpazione transrettale. L'*Heat Mount Detector* (HMD) è basato sul medesimo principio ma, a differenza del TM, consiste nell'applicare con un collante, sempre sulla base della coda, una vaschetta di colore che si rompe a se-

guito del cavalcamento (foto 6 e 7). L'efficienza degli HMD varia dal 56 al 94% e l'accuratezza dal 36 all'80%. Sono più comodi del gesso perché se ben applicati, durano a lungo. Alcuni allevatori li applicano fin dal 30° giorno dopo il parto, anche se i risultati migliori si ottengono utilizzandoli come il TM. Tra i metodi elettronici, il più diffuso, almeno negli USA, è un sensore di pressione applicato sempre sulla base della coda, che segnala a un computer il cavalcamento subito da una bovina FAM. L'accuratezza e l'efficienza (74% e 99% rispettivamente) sono sicuramente superiori rispetto ai metodi basati sul colore. Uno studio molto importante per qualità e completezza sul comportamento estrale e il giusto momento in cui praticare la FA, condotto da Dransfield nel 1998, si basa sull'uso di un sensore di pressione. Il principale vantaggio è dato dal fatto che il dato è registrato su un computer e, quindi, l'operatore è in grado di determinare con esattezza l'inizio del periodo FAM, quanti eventi di



Foto 6. Materiale per il metodo *Heat Mount Detector*.



Foto 7. Metodo *Heat Mount Detector*.

questo tipo si sono verificati e decidere il momento giusto per praticare la FA. Con l'uso di questi sensori, l'allevatore può sapere quando le bovine, nell'arco della giornata, esibiscono preferibilmente il FAM, quanti eventi di questo tipo sono esibiti da ogni bovina e il tasso di gravidanza ottenuto in funzione dell'inizio del FAM e della FA. Sempre per quanto riguarda gli HDA, sono sicuramente di grande interesse i dispositivi elettronici che rilevano in continuo l'attività motoria della bovina, basandosi sul principio che una vacca in calore aumenta la sua attività motoria, non in senso assoluto o a un valore "tabellare", ma rispetto alla normalità. Alcuni ricercatori dell'USDA hanno osservato che una bovina in calore passa più tempo camminando o rimanendo in stazione, piuttosto che sdraiarsi. Per le vacche che vivono in stalle aperte, questa attività può aumentare anche del 400%. Inizialmente, l'accuratezza e l'efficienza di questi metodi erano scarse, in quanto alcuni eventi generici potevano dare molti falsi positivi. Gli strumenti oggi disponibili sono basati su un rilevatore di movimento applicato a un piede (pedometro) o al collo (attivometro) della bovina. Quando questi *transponders* si avvicinano ad apposite antenne, in genere installate all'ingresso o sulle poste di mungitura o anche in prossimità degli abbeveratoi, scaricano i dati registrati per ogni singola bovina su un computer. Gli apparecchi moderni, o meglio gli impianti più completi, registrano anche la produzione di latte giornaliera, essendo collegati all'impianto di mungitura. Quindi, se una bovina aumenta la sua attività motoria rispetto alla media degli ultimi giorni e se la produzione di latte cala bruscamente, la probabilità che sia in calore è molto elevata. Come noto, per poter iniziare il conteggio delle ore in cui praticare la FA, si parte dal primo evento FAM e non dall'inizio della maggiore attività motoria. Infatti, i sistemi che rilevano il movimento, per determinare il giusto momento in cui fecondare, si basano sulle ore che devono passare non dall'inizio dell'incremento dell'attività motoria, ma dal suo picco. Essendo molto difficile decidere quando fecondare esattamente dopo il picco dell'attività motoria, la verifica del crollo della produzione di latte, tipico della fase di calore vero, è molto importante, come molto importante è la visita accurata della bovina e la verifica che non sia già gravida. Accanto a questi sistemi più moderni, esistono metodi impiegati o verificati nel passato, che potrebbero in futuro riacquistare un certo ruolo. Antico, ma non privo di senso, è l'uso di tori vasectomizzati o con il pene deviato chirurgicamente o vacche androgenizzate con iniezioni di testosterone. Le iniezioni di testosterone propionato sono praticate ogni giorno per tre settimane, alla dose di 200 mg o un volta a settimana alla dose di 600 mg. È possibile effettuare anche un singolo trattamento con apposito adiuvante, somministrando 2 g in più punti di inoculo. In tutti i casi, il mantenimento si basa

sulla somministrazione di 500 mg di testosterone ogni 10-14 giorni. Questi animali hanno il compito di individuare facilmente e inequivocabilmente la bovina in calore, per poterla fecondare artificialmente. La presenza del maschio libero tra le bovine, utilizzato per la fecondazione naturale o, come visto in precedenza, per quella artificiale, è sempre in grado di migliorare la fertilità in allevamento, in base a meccanismi ancora non ben noti. Abbiamo già visto quale importanza ha il progesterone nel successo di una gravidanza e quanto sia importante che al momento dell'inseminazione la sua concentrazione nel sangue sia la più bassa possibile, ad espressione della totale lisi del corpo luteo, e che la produzione di estrogeni e LH sia massima. Quindi, nella scelta del momento giusto per fecondare artificialmente una vacca da latte, questa informazione aumenterebbe enormemente la probabilità che si instauri una gravidanza. Da tempo, sono disponibili sul mercato kit per la misurazione del progesterone dell'ultimo latte della bovina. Inoltre, è anche possibile inviare al laboratorio campioni di latte per verificare l'idoneità della metodica impiegata, che deve portare alla fecondazione delle sole bovine fecondabili (progesterone <1 ng/ml). A breve saranno disponibili metodi *online* di misurazione della concentrazione di progesterone nel latte individuale, mungitura per mungitura. Se tale tecnologia, compatibilmente con l'inevitabile aumento dei costi, fosse impiegata su larga scala, potrebbe eliminare l'incertezza riguardante il momento in cui realizzare la FA.

## METODI FARMACOLOGICI

Come supporto o in alternativa ai metodi di rilevazione visiva o assistita, esistono i cosiddetti metodi farmacologici, basati sulla somministrazione di ormoni. Questi metodi possono altresì essere definiti di sincronizzazione, in quanto sono basati su una crescita "guidata" del follicolo dominante fino allo scoppio follicolare e quindi all'ovulazione, seguita dalla fecondazione, indipendentemente dall'esibizione di un comportamento estrale. È necessario precisare che le varie tecniche di sincronizzazione hanno il solo obiettivo di migliorare la percentuale di rilevazione del calore e del giusto momento in cui praticare la FA, qualora questo sia il problema individuato in un determinato allevamento. L'uso delle varie sequenze ormonali non ha l'obiettivo di migliorare la fertilità attraverso il miglioramento delle condizioni del follicolo e della sua capacità di produrre più o meno estrogeni e, quindi, LH. Tra i metodi farmacologici quello sicuramente più diffuso è il noto **OvSynch**, messo a punto e presentato da J. R. Pursley, M. R. Kosorak e M. C. Wiltbank nel 1997, sulla rivista *Journal of Dairy Science*. Tale metodica consiste nel sin-

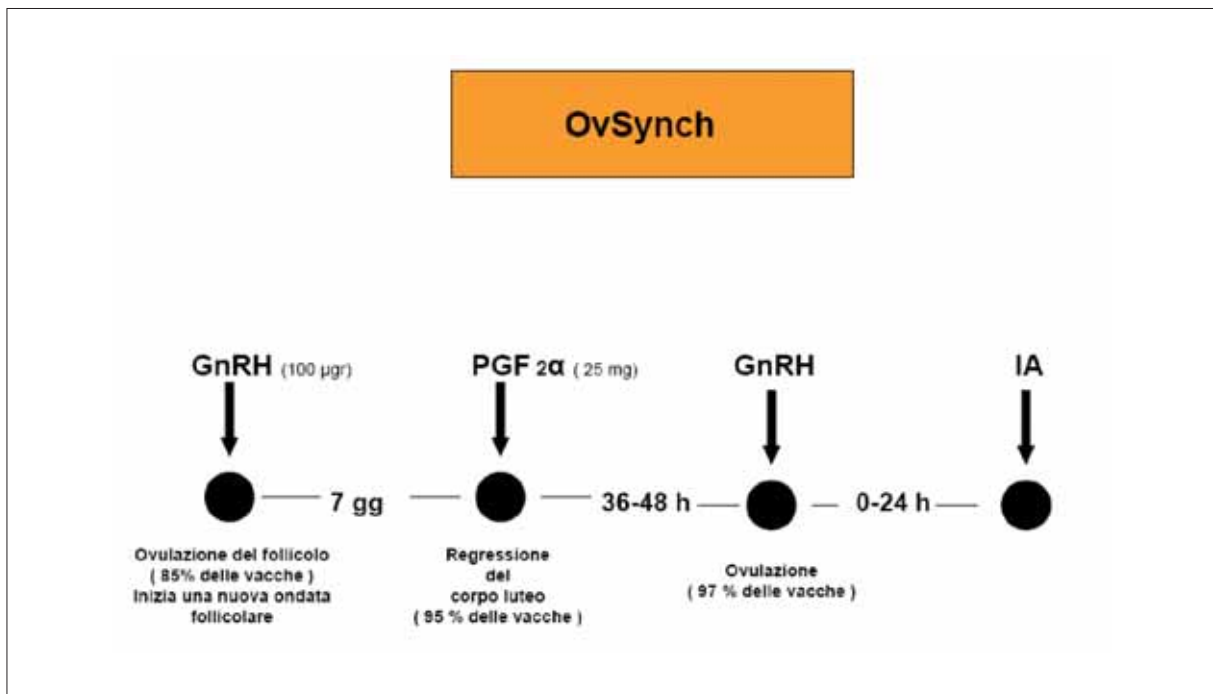


Figura 5. Il metodo OvSynch.

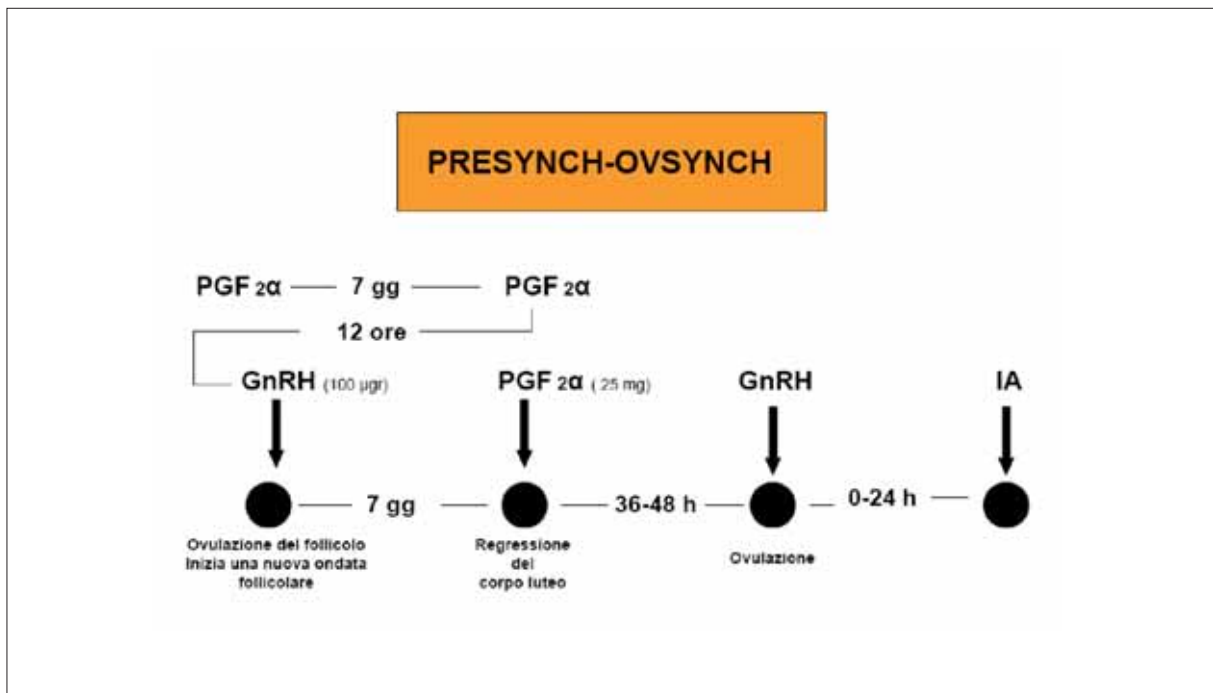


Figura 6. Il metodo PreSynch-OvSynch.

cronizzare farmacologicamente la maturazione del follicolo con la regressione del corpo luteo, prima dell'ovulazione indotta da un'inoculazione di GnRH. Il trattamento è praticato su bovine alla fine del periodo volontario d'attesa e inizia con una inoculazione di 100 µg di GnRH. Lo scopo, è indurre l'ovulazione dell'eventuale follicolo dominante pre-

sente e iniziare una nuova ondata follicolare. Dalle sperimentazioni condotte, questo primo intervento è efficace nell'85% delle bovine trattate. Dopo 7 giorni, si procede alla somministrazione di PGF<sub>2α</sub>, alla dose di 25 mg, per indurre la lisi del corpo luteo presente. Tale condizione si verifica, in genere, nel 95% delle bovine. Dopo 48 ore, si pra-

tica una iniezione di GnRH che, in genere, induce l'ovulazione nel 97% delle vacche trattate (figura 5). Dopo 16-25 ore, le bovine sono sottoposte a FA, indipendentemente dalla presenza del riflesso FAM. La variante di OvSynch, la cui finalità è quella di migliorare anche il tasso di concepimento alla FA, è **PreSynch-OvSynch** che prevede una doppia inoculazione di prostaglandine, a distanza di una settimana, 12 ore prima della somministrazione di GnRH (figura 6). Un'altra variante di OvSynch è rappresentata dal CoSynch, che prevede la fecondazione artificiale contestualmente con la seconda iniezione di GnRH.

La **doppia inoculazione di PGF<sub>2α</sub>**, descritta da numerosi autori in alternativa a metodo OvSynch, prevede l'inoculazione di prostaglandine all'11° e al 14° giorno del ciclo estrale, con la FA praticata sul comportamento estrale. Rispetto alle altre tecniche è meno costosa, ma anche meno efficace. Il **Select Synch** è la tecnica presentata da Burke *et al.* nel 1996. È una semplificazione di OvSynch e consiste in una sequenza di somministrazioni di GnRH e PGF<sub>2α</sub>, a distanza di una settimana. **Heat-Synch** è una tecnica più complessa rispetto a quelle precedentemente descritte e può essere applicata se compatibile con le leggi vigenti in tema di utilizzazione degli ormoni. Prevede, 24 ore dopo la prima inoculazione di prostaglandine, praticata come sempre una settimana dopo il GnRH, un'iniezione di estra-

diolo cipionato (ECP). In un'interessante meta-analisi realizzata da Rabiee *et al.*, pubblicata nel 2005, ogni metodo è confrontato agli altri e alla rilevazione visiva dei calori. Gli autori riportano poche variazioni significative tra i vari metodi in termini di tasso di concepimento, sia per il singolo animale sia per l'intero allevamento.

## CONCLUSIONI

La rilevazione del calore e del giusto momento in cui praticare la fecondazione artificiale è l'aspetto del *management* riproduttivo che più condiziona la fertilità della vacca da latte. L'accuratezza e l'efficacia tendono a diminuire con l'aumentare del numero degli animali allevati, in quanto diminuisce il tempo che l'allevatore può dedicare al singolo individuo. La rilevazione visiva dei calori richiede personale molto qualificato, presente in allevamento anche in ore inusuali (fine e inizio giornata). La corretta adozione di ausili tecnologici o farmaceutici migliora sensibilmente la percentuale di rilevazione dei calori e, quindi, la fertilità dell'allevamento. La tecnica che si intende impiegare deve essere preventivamente analizzata e verificata, con una precisa analisi dei dati. Tutte le tecniche descritte sono caratterizzate da vantaggi e svantaggi, sia tecnici sia economici.