

ALIMENTAZIONE E METABOLISMO

Introduzione alle malattie metaboliche

Alessandro Fantini*Dairy Production Medicine Specialist, Anguillara Sabazia (RM)***RIASSUNTO**

Il continuo "riassetto ormonale metabolico" indotto dalla selezione genetica e genomica continua ad aumentare la capacità potenziale di produrre più latte, grasso e proteine, soprattutto nella Frisona. La selezione rende metabolicamente prioritario l'afflusso di nutrienti alla mammella nelle bovine non gravide in lattazione e all'utero e ai tessuti di riserva in quelle gravide. Entrambi questi assetti metabolici, se non adeguatamente supportati con la gestione e la nutrizione, possono causare gravi alterazioni del metabolismo. Il bilancio energetico eccessivamente positivo delle bovine gravide può aumentare il rischio di obesità al parto e un bilancio energetico e proteico eccessivamente negativi nella transizione e nel primo terzo di lattazione può essere causa di malattie metaboliche, sindrome della subfertilità e scarsa efficienza del sistema immunitario.

Solo una perfetta conoscenza del metabolismo della bovina e di come la selezione genetica e genomica varia continuamente l'assetto ormonale e metabolico può permettere ai buiatri, agli zootecnici e agli allevatori di prevenire queste patologie e quelle a loro altamente correlate.

Parole chiave: selezione, produzione latte, malattie metaboliche, bovina da latte, Frisona.

SUMMARY**An introduction to metabolic diseases**

The continuous "hormonal metabolic reorganization" induced by genetic selection and genomics keeps increasing the potential to produce more milk, fat and protein, especially in Holstein cows. Selection makes a metabolic priority the afflux of nutrients to breast in non-pregnant cows in lactation and to uterine and storage tissues and in the pregnant ones. Both these metabolic structures, if not adequately supported by management and nutrition, can cause serious metabolic disorders. An overly positive energy balance in pregnant cows can increase the risk of obesity at birth, while a protein and energy balance excessively negative in transition and in the first third of lactation may cause metabolic diseases, syndrome of infertility and low efficiency of the immune system.

Only a perfect knowledge of cow metabolism and the way how genetic and genomic selection continuously varies hormonal and metabolic structure may allow vets, technicians and farmers to prevent these diseases and those highly related to them.

Keywords: selection, milkyield, metabolic diseases, dairy cattle, Holstein.

La bovina da latte ha una vita produttiva piuttosto breve. Tale concetto deve ovviamente essere distinto dalla durata della sua esistenza fisiologica, che si potrebbe determinare se la bovina venisse eliminata dagli allevamenti solo per morte naturale.

L'età media della Frisona, la principale razza da latte allevata nel mondo, è di circa 56 mesi, ossia di 4 anni e 6 mesi; quindi, dato che il suo ingresso in lattazione avviene mediamente a 28 mesi, significa che per soli 28 mesi è in produzione e per poco più di due lattazioni. Le ragioni di questa breve vita produttiva, o longevità funzionale, sono dovute essenzialmente alla subfertilità, alle malattie della mammella e alle patologie podali, considerate le principali cause di riforma volontaria. Solo pochissime bovine "sane" vengono eliminate per bassa produzione su base genetica, anche in considerazione dell'omogeneità genetica positiva raggiunta dopo molti anni di selezione artificiale.

Questa breve vita produttiva ha ristretto molto le patologie che le bovine possono contrarre. Le patologie enteriche e respiratorie e le malattie genetiche dei vitelli operano una selezione a monte, costituendo una pressione selettiva naturale, in quanto si instaurano prima della maturità sessuale. Si tratta di una pressione selettiva piuttosto onerosa, ma efficace.

Le malattie infettive vengono controllate con i sempre più diffusi piani vaccinali e per quelle oggetto di attenzione del SSN, in molti casi, è previsto l'abbattimento. Le malattie parassitarie, se pur spesso sottovalutate, sono tutte facilmente controllabili rispettando le regole igieniche e somministrando antiparassitari.

Le malattie traumatiche sono ormai ridotte a specifiche situazioni causate da ambienti di stalla lontani da quelli considerati ideali.

Per contro, rimangono, e il più delle volte irrisolte e fuori controllo, le malattie metaboliche, ossia quelle condizioni patologiche derivanti dalla difficoltà della bovina di mantenere l'omeostasi a fronte delle richieste metaboliche importanti legate alle ultime fasi della gravidanza e alle prime settimane di lattazione. Alcune malattie metaboliche, se non tutte, hanno, come fattori di rischio ed eziologici, la difficoltà oggettiva

o l'imperizia dell'allevatore, del nutrizionista e del buiatra a sopperire prontamente e correttamente alle attenzioni gestionali e nutrizionali di animali sottoposti a un "sforzo metabolico" a volte imponente e al limite della loro fisiologia. Non causalmente, la vacca da latte è stata definita un "atleta metabolico", con *performances* di gran lunga superiori a ogni altra disciplina umana, sportiva e, quindi, metabolica. Altra caratteristica di questa classe di patologie è il profondo legame che le unisce tra loro e con le altre patologie di allevamento, e non solo metaboliche. Spesso, una malattia metabolica rappresenta un fattore di rischio o eziologico per l'altra, soprattutto per quelle, e sono la maggioranza, che si concentrano nel periodo della transizione [5].

La sequenza e la concatenazione delle principali malattie metaboliche

Le tecniche di allevamento, le razze allevate e i fabbisogni nutritivi sono ormai piuttosto standardizzati nell'allevamento delle bovine da latte e, quindi, le malattie metaboliche hanno andamento e prevalenza molto simili. Tali malattie rappresentano spesso il 75% delle patologie che possono colpire le bovine e importanti fattori di rischio per le mastiti, le zoppie (a causa non infettiva) e l'infertilità.

Generalmente, le malattie metaboliche hanno picchi di prevalenza in determinati momenti del ciclo produttivo della bovina. Durante la fase di asciutta o, meglio, durante le ultime settimane di gravidanza, si possono verificare alterazioni del profilo macrominerali della razione, dovute a carenze specifiche o ad apporti eccessivi di alcuni minerali (elevata presenza negli alimenti o aggiunti con mangimi minerali). I macroelementi spesso in eccesso sono il calcio, il fosforo, il potassio e il sodio, mentre quelli spesso insufficienti sono il magnesio, lo zolfo e il cloro. All'origine di questi alterati apporti minerali vi è sempre il mancato ricorso all'analisi dei macrominerali degli alimenti somministrati in asciutta, oggi eseguibili a basso costo con le tecnologie NIRS e XRF, oppure il mancato rispetto dei fabbisogni di macrominerali, più che noti e consolidati, e dei rapporti tra loro.

Formazione a distanza

Esempio tra tutti è quello del fosforo. È noto ormai da decenni che il miglior equilibrio tra il calcio e il fosforo della razione nelle ultime settimane di gravidanza è pari a circa 2:1. Nelle aree dove si concentra maggiormente l'allevamento della bovina da latte, si fa largo uso di liquami come concime primario, con una conseguente concentrazione di fosforo nei foraggi destinabili anche alle bovine in asciutta. Nonostante questi fatti consolidati e accertabili, in laboratorio si notano ancora mangimi minerali destinati all'asciutta ricchissimi di fosforo, spesso con un rapporto di 1:3 con il calcio. I disordini minerali delle ultime settimane di gravidanza si traducono nella sindrome ipocalcémica del periparto, che rappresenta il fattore eziologico del collasso puerperale e un importante fattore di rischio per l'immunodepressione del periparto, la mastite e la metrite puerperale. A sua volta, la metrite puerperale è un importante fattore di rischio per il complesso endometrite/piometra che, insieme, sono coinvolti nell'eziologia delle patologie ovariche e della bassa produzione di latte. I disordini minerali di fine gravidanza o, meglio, gli eccessivi apporti alimentari di sodio e potassio sono la causa dell'edema mammario patologico, importante fattore di rischio per le nuove infezioni mammarie del periparto e per la precoce eliminazione delle bovine per ridotta mungibilità.

Nella prima fase della transizione, il bilancio energetico e proteico può già essere negativo, per una ridotta capacità di ingestione fisiologica o indotta dall'uso di alimenti e additivi poco

appetibili o per una scarsa gestione della razione. La ridotta ingestione "patologica" è spesso dovuta a episodi di acidosi ruminale subclinica, imputabili a fasi di preparazione al parto troppo brevi (< 15 giorni) e gestite con supplementi di concentrati troppo elevati.

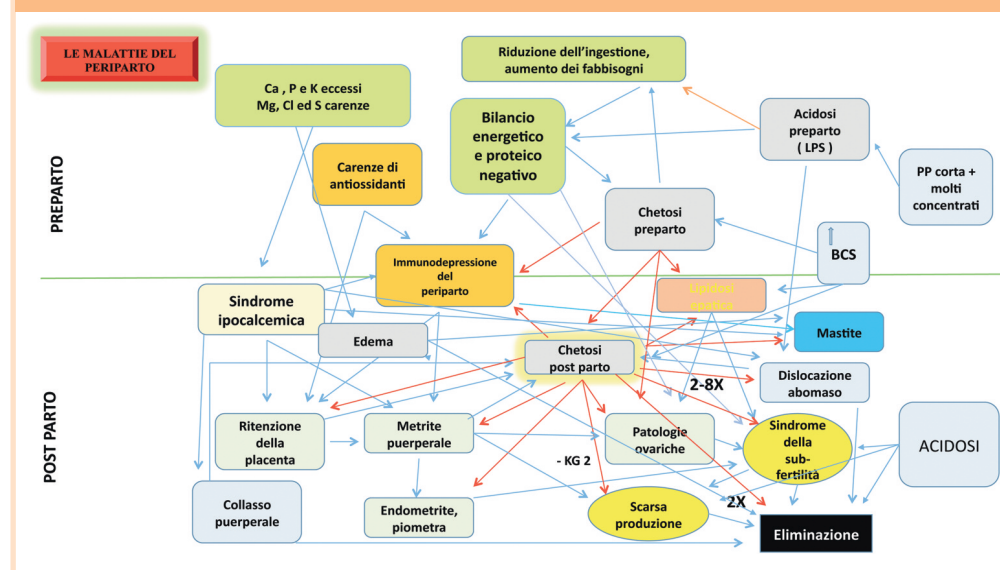
Un bilancio energetico e proteico negativo del preparto aumenta la mobilizzazione di NEFA (*Non-Esterified Fatty Acids*) dal tessuto adiposo e, quindi, rappresenta il fattore eziologico più importante della chetosi subclinica del preparto. Questa rappresenta il primo fattore di rischio della chetosi metabolica, sia clinica sia subclinica della seconda fase della transizione. La chetosi, inoltre, unitamente a tecniche alimentari errate in preparazione al parto, è un importante fattore di rischio per la dislocazione abomasale, che tipicamente ha la massima prevalenza al 10° giorno di lattazione.

Il bilancio energetico e proteico negativo nel preparto e nella seconda fase della transizione, con conseguente dimagrimento, più accentuato nelle bovine grasse, è il fattore eziologico sia della lipidosi epatica sia della liberazione di citochine proinfiammatorie e di progesterone, che sono alla base della ritardata ripresa dell'attività ovarica dopo il parto e quindi dell'allungamento dell'intervallo tra il parto e il concepimento [2] (figura 1 e tabella 1).

La selezione genetica

Le bovine da latte o, meglio, le principali razze sono sottoposte a un intenso programma di selezione, sia genetica sia genomica, finalizzato

Figura 1. Principali fattori di rischio delle malattie metaboliche e loro interferenza con la produzione, la fertilità e l'eliminazione



Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 1

Tabella 1. Fattori di rischio per le principali patologie del *post partum*

PATOLOGIE							
Fattori di rischio Produzione	Ritenzione placenta	Metriti	Cisti ovariche	Collasso puerperale	Chetosi	Dislocazione abomaso	Mastiti
< 8.500	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
8.500-9.600	1,2	1,2	1,3	1,0	0,9	0,8	1,2
9.600-10.600	1,3	1,1	1,2	1,1	1,1	0,9	1,3
10.600-11.700	1,1	1,1	1,2	0,5	1,0	0,8	1,5
> 11.700	1,1	1,0	1,4	0,8	1,0	0,8	1,6
Numero parti							
2	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
> 2	1,4	1,2	1,0	3,7	1,8	1,6	1,5
Stagione di parto							
Sett-nov	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Dic-feb	1,0	1,3	1,3	1,5	1,0	1,2	1,4
Mar-mag	1,2	1,5	1,3	1,2	1,7	1,6	1,2
Giu-ago	1,2	1,7	1,1	1,1	1,7	1,1	1,4
Patologia							
Ritenzione placenta	-	6,2				2,2	
Metriti		-			2,8		
Cisti ovariche			-				1,8
Collasso puerperale				-	2,1		
Chetosi		1,8	1,6		-	4,5	
Dislocazione abomaso					4,0	-	
Mastiti			1,5				-

I valori riportati corrispondono all'odds ratio, ovvero alla stima di quanto è più probabile osservare la patologia con un determinato fattore di rischio. Modificato da [5].

ad aumentare soprattutto la produzione di grasso e proteine del latte, sia in percentuale sia in quantità.

Nel nostro indice di selezione per la Frisone italiana (PFT), i caratteri produttivi hanno un "peso relativo" del 49%, mentre il resto è rappresentato dai cosiddetti caratteri funzionali, ossia i caratteri legati alla salute e alla fertilità e, più in generale, alla longevità funzionale. In particolare, il "peso" maggiore corrisponde ai kg di proteine (36% sul totale) e ai kg di grasso (8% sul totale).

La produzione di latte, in quanto tale, non è più in selezione da molti anni, ma è destinata ad aumentare in funzione della selezione sulla qualità espressa in chilogrammi.

L'impostazione dell'indice di selezione statunitense (TPI) e di quello canadese (LPI) non è molto dissimile. In sostanza, ci troveremo ad allevare Frisone con una sempre maggiore capacità di produrre proteina, grasso e latte.

Nel 2014, la Frisone italiana ha mediamente prodotto 9.472 kg di latte al 3,67% di grasso e

3,29% di proteina. Nello stesso anno, nelle aree particolarmente vocate alla produzione, come la provincia di Cremona, la produzione media di 143.638 Frisone è stata di 9.983 kg al 3,75% di grasso e 3,31% di proteine. Dal 2005 al 2014, la produzione media della Frisone italiana è cresciuta del 6,4%, mentre la percentuale di grasso e proteina del latte è calata rispettivamente di 0,03 e 0,02. Del resto, se si osserva il Profilo Genetico Allevamento dell'ANAFI, si vede che, nel 2014, esiste una differenza di potenziale genetico a produrre latte pari a 1.391 kg, che comunque, dal 2005, non è mai stato inferiore a 1.100 kg.

Stessa considerazione può essere fatta per il grasso e la proteina. All'appello, sempre nel 2014, sono mancati 58 kg e 0,16% di grasso, nonché 60 kg e 0,22% di proteina, rispetto a un potenziale genetico in continua e incessante crescita.

Come leggere queste informazioni in chiave fisiopatologica o, meglio, nel contesto dell'eziologia delle malattie metaboliche? Succes-

Formazione a distanza

sivamente, si vedrà come si alternano le "priorità metaboliche" delle bovine in lattazione.

La selezione genetica altro non ha fatto che premiare le femmine con una più spiccata attitudine materna, ossia le bovine in grado di fornire al vitello la massima quantità di latte possibile e dei suoi principali costituenti, come il grasso e le proteine, anche a scapito della loro integrità fisica, quando ancora non sono nuovamente gravide, per poi privilegiare un elevato flusso di nutrienti ai tessuti di riserva e all'utero una volta gravide in lattazione.

La mammella di una bovina in lattazione non gravida ha una priorità metabolica assoluta, seconda solo al metabolismo basale, alla capacità di muoversi e alle funzioni cerebrali. Questa priorità è stata ed è oggetto della selezione genetica. Inoltre, è noto che la produzione di latte non è lineare tra i due parti. Ha un picco di lattazione nelle prime settimane, per poi scendere progressivamente fino al parto successivo. Questo andamento ha una ragione spiegata dalla biologia evolutiva: accompagnare il vitello nelle prime settimane verso una crescita ottimale, per poi spingerlo a ingerire cibo solido quando il latte non basta più. Solo allora la bovina può permettersi di pensare a una nuova gravidanza.

I genetisti, sapendo che i caratteri produttivi hanno un'ereditabilità piuttosto elevata, hanno di fatto non stravolto ma amplificato quello che la natura ha progettato in milioni di anni grazie alla selezione naturale. Quando si nota che le bovine non esprimono fenotipicamente tutto il loro potenziale genetico nel produrre latte, grasso e proteine, ossia i caratteri ad alto "condizionamento genetico", due possono essere le ragioni: esiste un'impossibilità fisiologica a reperire tutti i nutrienti necessari per sintetizzare il latte oppure, ma ciò non è diverso dalla prima ragione, le tecniche di allevamento e alimentazione non si sono correttamente adeguate alle variazioni degli assetti metabolici impostati dalla selezione genetica.

Le regolazioni omeostatiche e omeoresiche del periparto e dell'inizio della lattazione

La maggiore prevalenza delle malattie metaboliche si concentra nella fase di transizione, a eccezione dell'acidosi ruminale, sia clinica sia subclinica, sia acuta sia cronica, dovuta a errori nella formulazione e nella gestione della razione alimentare, che può colpire le bovine in tutte le fasi del ciclo produttivo. Già nelle ultime settimane di gravidanza, ovvero nella prima fase della transizione, si può osservare acidosi ruminale e chetosi metabolica, quasi sempre a decorso subclinico, ed edema mam-

mario patologico. Nella seconda fase della transizione, vale a dire nelle primissime settimane di lattazione, e soprattutto nel puerperio, possono comparire immunodepressione patologica del periparto, ritenzione placentare, sindrome ipocalcémica e/o ipomagnesémica, chetosi clinica e subclinica e dislocazione dell'abomaso.

Spesso, la metrite puerperale viene classificata tra le malattie metaboliche in quanto non ha un agente o agenti eziologici batterici specifici, ma ha i principali fattori di rischio nelle alterazioni del metabolismo.

Perché le malattie metaboliche hanno questo picco di prevalenza proprio nella fase di transizione? Già durante le ultime settimane di gravidanza si assiste a un progressivo aumento dei fabbisogni nutritivi. Negli ultimi 60 giorni di gravidanza, il feto acquisisce oltre il 60% del peso che avrà al momento della nascita. Inoltre, due settimane prima del parto avviene la "ricostruzione" del parenchima mammario e la produzione di colostro. Una buona parte delle risorse nutritive, se disponibili, vengono utilizzate dalle bovine per il mantenimento, la crescita, lo stoccaggio nei tessuti di riserva come quello epatico (glicogeno), muscolare (proteine labili) e adiposo (grassi). Questo "impegno metabolico" cresce mano a mano che ci si avvicina al parto e ciò deve "convivere" con una riduzione fisiologica della capacità di ingestione delle bovine, a causa dell'ingombro addominale dell'utero e della variazione dell'assetto ormonale propedeutico al parto.

Dopo il parto, l'ingestione di nutrienti aumenterà progressivamente, ma non in modo sincrono all'aumento imponente della domanda dovuta alla lattazione.

Nella bovina in fase avanzata di gravidanza, l'utero, il suo contenuto e i tessuti di riserva hanno la priorità metabolica. Già prima del parto e in modo assoluto in lattazione, la produzione di latte ha la priorità metabolica ed è seconda solo al metabolismo basale, alla termoregolazione e al movimento.

Si considera fisiologico che la bovina nelle prime settimane di lattazione sia in bilancio energetico e proteico negativo. Nella fase di transizione, la bovina cerca di mantenere la sua omeostasi, ossia cerca di tenere in equilibrio e in condizioni costanti l'ambiente interno. Inoltre, proprio per far fronte a queste imponenti variazioni del suo "assetto" ormonale e metabolico, attua regolazioni omeoresiche, vale a dire variazioni "orchestrate" del suo metabolismo per far fronte a specifiche priorità metaboliche [1]. Incidenti nel mantenimento dell'omeostasi e nelle regolazioni dell'omeoresi sono alla base delle malattie metaboliche.

Al fine di trovare soluzioni in allevamento per

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 1

ridurre l'incidenza delle malattie metaboliche ad alta prevalenza nella fase di transizione è bene focalizzare i sistemi ormonali principalmente responsabili delle regolazioni omeostatiche e omeoresiche durante questo periodo. Il lattogeno placentare è un ormone, prodotto dal sinciotrofoblasto dell'embrione e del feto, che ha la capacità di diffondere nel sangue materno. In questo ambiente, diminuisce anche la sensibilità dei tessuti della madre all'insulina; ciò provoca un aumento della glicemia materna e una riduzione dell'uso di glucosio, che diventa così più disponibile per lo sviluppo fetale. Inoltre, questo ormone induce una lipolisi funzionale, al fine di dare ai tessuti materni un'alternativa nutrizionale al glucosio. In più, il lattogeno placentare favorisce, come il GH (*Growth Hormone*), la formazione dei tessuti proteici. Anche gli estrogeni e il progesterone sono coinvolti nel controllo omeoresico della ripartizione dei nutrienti durante la gravidanza. Variazioni nel rapporto estrogeni/progesterone alterano gli apporti di nutrienti all'utero. La concentrazione di progesterone inizia a diminuire gradualmente nelle ultime settimane di gravidanza, per poi precipitare prima del parto. Il progesterone, in gravidanza, inibisce la differenziazione delle cellule epiteliali secernenti della ghiandola mammaria. Si deve considerare che il tessuto adiposo, tra le tante attività endocrine, possiede anche quella di produrre progesterone, che è tanto più elevato quanto più è "imponente" il dimagrimento nella transizione.

Contestualmente alla riduzione della produzione di progesterone aumenta quella degli estrogeni. Questi ormoni stimolano il rilascio ipofisario di prolattina e l'aumento del numero dei suoi recettori nei tessuti mammari. La prolattina rappresenta la spinta decisiva per lo stadio finale della differenziazione cellulare e la sintesi dei componenti del latte. L'ondata di prolattina nel parto corrisponde al cambiamento di *status* di molti tessuti materni. La prolattina coordina il metabolismo lipidico nel tessuto adiposo e nel fegato per aumentare la disponibilità di nutrienti alla mammella. Nei ratti, e ciò non è stato verificato nella bovina da latte, la prolattina aumenta la capacità di assorbimento dei nutrienti nel tratto gastrointestinale durante le prime fasi della lattazione.

Le ghiandole surrenali del feto, ormai vicine al loro massimo sviluppo (ultimi giorni di gravidanza), aumentano la loro produzione di cortisolo, che attiva l'enzima placentare 17- α -idrossilasi; quest'ultimo intensifica la produzione di estrogeno placentare che, a sua volta, stimola la produzione uterina di PGF-2 α .

Il GH sale progressivamente durante la prima fase di transizione, mentre i suoi recettori GHR

(*Growth Hormone Receptor*) e IGF-1 (*Insulin-like Growth Factor-1*) calano, per aumentare nella seconda fase della transizione. Contestualmente a questo profondo riassetto ormonale nelle ultime tre settimane di gravidanza, a fronte di un'aumentata domanda di nutrienti dovuta al feto, ormai nel suo massimo sviluppo, e per l'assetto ormonale finalizzato a rendere disponibili nutrienti per la differenziazione cellulare a livello mammario e la produzione di colostro, si osserva un paradossale e concomitante calo di ingestione di sostanza secca.

La vacca obesa al parto

Per vacca obesa al parto si intende la bovina con un *Body Condition Score* (BCS) superiore a 3,50, attribuito utilizzando il metodo presentato da A.J. Edmonson *et al.* nel 1989. Questa scala va da 1 a 5 e prevede punteggi intermedi di 0,25 [4].

Ma quali sono i fattori di rischio per avere, a fine gravidanza o, meglio, nella prima fase della transizione, bovine obese e, quindi, con un BCS elevato?

Il fattore di rischio più importante risiede nell'alimentazione delle bovine gravide in lattazione, ossia nella mancata predisposizione a una dieta specifica quando il bilancio energetico passa dal negativo al positivo [8]. È noto che la bovina dopo il picco produttivo (60-80 giorni) e con l'instaurarsi di una nuova gravidanza rivede le sue priorità metaboliche, che passano dalla produzione di latte all'utero gravido e al ripristino di quelle riserve lipidiche fondamentali per la successiva lattazione. In questa seconda fase della lattazione, la produzione di latte scende progressivamente e, contestualmente, la capacità di ingestione della bovina è spesso superiore ai fabbisogni. Se le bovine vengono alimentate con la stessa dieta per tutta la lattazione e se l'intervallo tra il parto e il concepimento si allunga oltre i 160 giorni, il rischio di un bilancio energetico troppo positivo aumenta sensibilmente.

Un altro evento rischioso per l'obesità, generalmente sempre per problemi di infertilità, si verifica quando la durata dell'asciutta supera i 60 giorni e la dieta di questo periodo apporta una quantità eccessiva di energia mediante amidi e, soprattutto, fibre molto digeribili. Per questo motivo, ma anche per evitare eccessivi apporti di macrominerali come il fosforo e il potassio, in queste razioni si inserisce la paglia.

Dopo molti anni di ricerche, la comunità scientifica ha condiviso che la durata ideale dell'asciutta non debba più essere di 60, ma di 45 giorni. Tale riduzione non solo consente di raccogliere 15 giorni di latte in più da bovine che,

Formazione a distanza

spesso e per ragioni sia genetiche sia di numero di lattazioni (primipare), arrivano a 220 giorni di gravidanza con produzioni ancora molto elevate (superiori a 20 kg) ma anche di evitare ingrassamenti.

In più, l'asciutta corta consente di ridurre a 2, anziché 3, i cambi di razione. Nelle asciutte corte, si somministra una dieta molto ristretta, ossia priva di concentrati, per far ridurre la produzione di latte; successivamente, una volta asciugata la bovina, si somministra per 35-40 giorni una dieta intermedia tra quella classica dell'asciutta e quella di preparazione al parto. Le bovine che arrivano grasse alle ultime 3 settimane di gravidanza, ossia con un BCS $\geq 3,50$, esibiscono un dimagrimento, già in questo periodo e soprattutto nelle prime settimane di lattazione, proporzionalmente maggiore rispetto alle bovine in buone condizioni di ingrassamento.

Nella prima fase della transizione, per le ragioni esposte in precedenza, aumenta la domanda di glucosio. Dopo il parto e nelle prime settimane di lattazione questa domanda è elevatissima, in quanto la captazione di questa molecola da parte della mammella per la sintesi di lattosio diventa imponente e metabolicamente prioritaria. Basti pensare che una bovina che produce 35 kg di latte ha un fabbisogno giornaliero, solo per tale produzione, di ben 2,9 kg di lattosio. Per tutta la durata della transizione e, quindi, già prima del parto, una riduzione della glicemia induce un calo dell'insulina ematica. Il calo di insulina, quale espressione in *real time* del deficit ematico di glucosio, stimola il ricorso alle riserve lipidiche del tessuto adiposo, al fine di liberare gli acidi grassi che la bovina può utilizzare per la produzione di energia e per la sintesi *ex novo* di glucosio.

I NEFA liberati dal tessuto adiposo altro non sono che acidi grassi non esterificati liberati dalle lipasi del tessuto adiposo a partire dai trigliceridi ivi stoccati. Una parte dei NEFA ematici vengono captati dalla mammella per la sintesi del grasso del latte e una parte considerevole viene utilizzata dal fegato per la produzione di energia. Un'elevata presenza di NEFA nel sangue ha però ripercussioni negative sulla salute, in quanto aumenta il rischio di malattie metaboliche e infettive. L'elevata liberazione di NEFA dal tessuto adiposo causa, dopo il parto, una minore produzione di latte, probabilmente per una minore funzionalità del fegato indotta dalla lipidosi epatica. In caso di dimagrimento eccessivo, aumenta il rischio di chetosi, lipidosi epatica, mastiti e metriti.

Quando avviene il calo di insulina ematica conseguente all'ipoglicemia, condizione che può coinvolgere anche le bovine negli ultimi giorni di gravidanza, non solo si ha la liberazione di

NEFA dal tessuto adiposo ma anche di citochine proinfiammatorie, come il TNF- α (*Tumor Necrosis Factor- α*) e l'IL-6 (*Interleukin-6*), da parte dei macrofagi presenti in questo tessuto.

Queste citochine determinano una condizione di infiammazione cronica e di insulino-resistenza [3]. In particolare, il TNF- α crea la condizione metabolica tipica di un'infezione sistemica o locale da Gram negativi, ossia aumenta la disponibilità delle risorse nutritive utilizzabili dalle cellule del sistema immunitario, come i macrofagi e, soprattutto, i neutrofilo. Queste cellule hanno un fabbisogno nutritivo proprio di glucosio e di aminoacidi e la loro efficienza, misurabile come *killing activity*, è inibita da un'eccessiva concentrazione ematica di corpi chetonici. Il TNF- α agisce a livello dell'asse ipotalamo-ipofisario, inibendo la produzione di GnRH (*Gonadotropin Releasing Hormone*) ed LH (*Luteinizing Hormone*), bloccando, di fatto, la maturazione follicolare e l'ovulazione, stimolando la produzione di CRH (*Corticotropin-Releasing Hormone*), riducendo l'appetito e inducendo ipertermia tramite le prostaglandine. A livello epatico, la gluconeogenesi si riduce, si incrementa l'accumulo di trigliceridi e, soprattutto, si stimola la sintesi di proteine di fase acuta, come la SAA (Siero Amiloide A) e l'aptoglobina. Queste molecole, appartenenti al sistema immunitario innato, esercitano azioni specifiche; ad esempio, l'aptoglobina si lega all'emoglobina per ridurre la disponibilità di ferro indispensabile per la crescita di alcuni patogeni, mentre la SAA favorisce il reclutamento dei leucociti nei siti dove è presente un processo infiammatorio.

Di fondamentale importanza è sapere che le citochine proinfiammatorie inducono, sia nel fegato sia negli altri tessuti, insulino-resistenza. Secondo la definizione di Kahn risalente al 1978, "l'insulino-resistenza (IR) descrive lo stato nel quale un fisiologico livello di insulina produce una minore risposta biologica rispetto a quella attesa" [6].

Nella bovina da latte, l'IR è uno *status* para-fisiologico degli ultimi giorni di gravidanza e delle primissime settimane di lattazione. Questa condizione, unitamente alla minore produzione di insulina in seguito allo stimolo glicemico, è stata "premiata" dalla selezione genetica, in quanto consente alla mammella una maggiore disponibilità di glucosio e acidi grassi per la sintesi di lattosio e, quindi, di latte e grasso. Tale "riassetto" metabolico è stato favorito poiché le cellule dell'epitelio alveolare mammario sono poco condizionate dall'insulina nell'assorbimento del glucosio. La presenza in circolo di citochine proinfiammatorie e, in particolare, di TNF- α , accentua un quadro para-fisiologico già di per sé problematico per la fertilità della

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 1

bovina, per la piena efficienza del sistema immunitario e per il rischio di malattie metaboliche.

Nel fegato e negli altri tessuti, il TNF- α aumenta il catabolismo proteico e lipidico, creando una condizione paradossalmente favorevole sia per la produzione di latte e dei suoi principali costituenti sia per il sistema immunitario cellulo-mediato. L'enorme afflusso di NEFA al fegato, oltre ad aumentare il rischio di lipidosi epatica, dovuta alla loro riesterificazione, aumenta il rischio di abnormi produzione di corpi chetonici, come il BHBA (β -Hydroxybutyric Acid). I corpi chetonici, in ridotte quantità, sono una preziosa fonte energetica per alcuni tessuti, come quello muscolare, ma oltre la soglia ematica di 10-14 mg/dl o 1.000-1.400 μ mol/l sono responsabili di chetosi metabolica.

I NEFA liberati dal tessuto adiposo sono principalmente acidi grassi saturi a lunga catena, come l'acido palmitico (C16:0) e l'acido stearico (C18:0), e insaturi, come l'acido oleico (C18:1). La composizione degli acidi grassi dei leucociti, delle cellule endoteliali, dei follicoli e degli ovociti è in "equilibrio" con quella del sangue. Gli acidi grassi saturi a lunga catena e l'acido oleico stimolano la produzione di eicosanoidi, come le prostaglandine e, in particolare, la PGF₂ α (Prostaglandin F₂ α), che esercita una spiccata attività infiammatoria.

Nella seconda fase della transizione o, meglio, nel puerperio, la produzione di questa classe di prostaglandine F₂ α ha un effetto positivo, mentre negli ultimi giorni di gravidanza e dopo il puerperio ha numerosi effetti negativi, che si sommano a quelli esercitati direttamente dai NEFA sulle cellule follicolari e quelle leucocitarie. Nella pratica di allevamento, è di fatto consigliabile introdurre nella dieta delle ultime settimane di gravidanza e dalla fine del puerperio fino alla nuova gravidanza acidi grassi insaturi a lunga catena omega-3, come l'acido linolenico (C18:3), l'acido docosaesaenoico (*Docosaheptaenoic acid*, DHA; C20:5) e l'acido eicosapentaenoico (*Eicosapentaenoic acid*, EPA; C22:6). Questi acidi, detti PUFA omega-3 (*Polyunsaturated Fatty Acid* omega-3) contrastano gli effetti infiammatori degli acidi grassi omega-6, come l'acido linoleico (C18:2), molto presente nella soia e nel mais integrale e, quindi, nelle normali diete per bovine in lattazione.

I fabbisogni nutritivi della fase di transizione

Il periodo di asciutta, di durata convenzionale (60 giorni) o breve (45 giorni), rappresenta per l'allevatore un investimento economico piuttosto importante, in quanto la bovina produrrebbe latte fino al parto successivo. Questa

produzione, anche se esigua, coprirebbe molte delle spese necessarie al suo mantenimento. Tuttavia, la sospensione del periodo di asciutta è sconsigliabile, in quanto sia le *performances* produttive e riproduttive della lattazione successiva sono inferiori se confrontate a quelle di bovine che hanno fatto un periodo di asciutta variabile da 45 a 60 giorni.

Ma quali sono le motivazioni che giustificano questo investimento economico?

Si utilizza questo "fermo" produttivo essenzialmente per ragioni sanitarie. La mammella delle bovine acquisisce batteri patogeni durante la lattazione, che possono causare mastiti sia cliniche sia subcliniche. Durante la lattazione, le mastiti, in particolare quelle definite "da contagiosi", ossia da *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, sono difficilmente curabili proprio per la rimozione del latte 2-3 volte al giorno. Durante l'asciutta, l'azione combinata degli antimicrobici e dei leucociti aumenta considerevolmente la probabilità di rimozione dei patogeni dalla mammella.

Gli intensi dimagrimenti delle bovine, tipici del periodo di bilancio energetico e proteico negativo, comportano, per molte settimane dopo il parto, elevati afflussi di NEFA dal tessuto adiposo. Il fegato non è quasi mai in grado di utilizzarli tutti e completamente, per cui una quota spesso rilevante si riesterifica nuovamente nelle cellule epatiche sotto forma di trigliceridi. Quando questi accumuli diventano rilevanti, ossia i trigliceridi superano l'1% del peso del fegato, si può parlare di lipidosi epatica (con valori superiori al 10%, molte delle principali funzioni del fegato vengono compromesse). Oltre agli intensi dimagrimenti, anche le alterazioni nel meccanismo di esportazione dei trigliceridi dal fegato sotto forma di lipoproteine (*Very Low Density Lipoprotein*, VLDL) sono coinvolti nell'eziologia della lipidosi epatica. L'asciutta è l'unico momento del ciclo produttivo della bovina adulta durante il quale è possibile curare la lipidosi epatica, dando al fegato la possibilità di "recuperare" mediante opportuni additivi, come i donatori di gruppi metilici (colina e metionina), funzionali alla sintesi delle VLDL o mediante nutrienti, come i carboidrati, capaci di stimolare la produzione di insulina. Questa è la ragione per cui è assolutamente sconsigliabile far dimagrire le bovine grasse che arrivano all'asciutta, a meno di adottare diete particolari. Un'asciutta ben gestita a livello nutrizionale [7] serve anche alle bovine per costruire scorte adeguate di glicogeno epatico e proteine labili a livello muscolare, che sono di fondamentale importanza nella prevenzione di alcune patologie metaboliche, come l'immunodepressione patologica del periparto e la chetosi metabolica. Durante gli ultimi giorni

► Formazione a distanza

di gravidanza e nel puerperio, le bovine hanno una capacità di ingestione ridotta e, sicuramente, una minore capacità di ingerire nutrienti in quantità sufficienti per i loro crescenti fabbisogni. Le scorte di glicogeno e, quindi, di glucosio e di aminoacidi glucogenetici delle proteine labili possono dare un contributo sostanziale a mitigare i rischi del bilancio energetico e proteico negativo. Di particolare importanza è anche la nutrizione minerale e vitaminica in tutto il periodo di asciutta per la prevenzione di diverse patologie: la sindrome ipocalcémica e ipomagnesémica, la ritenzione di placenta, l'immunodepressione e lo stress ossidativo del parto.

Bibliografia

- 1-Bauman D.E., Currie W.B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. *J. Dairy Sci.*, 1980; vol. 63: pp. 1514-1529.
- 2-Chagas L.M. *et al.* Invited review: new perspective on the roles of nutrition and metabolic priorities in sub-fertility of high production dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2007; vol. 90: pp. 4022-4032.
- 3-De Koster J.D., Opsomer G. Insulin resistance in dairy cows. *Vet. Clin. Food Anim.*, 2013; vol. 29: pp. 299-322.
- 4-Edmonson A.J. *et al.* A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1989; vol. 72: pp. 68-72.
- 5-Grohn Y.D. *et al.* Effect of disease on the culling of holstein dairy cows in New York state. *J. Dairy Sci.*, 1988; vol. 81: pp. 966-978.
- 6-Kahn C.R. Insulin resistance, insulin insensitivity, and insulin unresponsiveness: a necessary distinction. *Metabolism*, 1978; vol. 27: pp. 1893-1902.
- 7-National Research Council. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th Edition, National Academic Press, 2001.
- 8-Rukkamsuk T., Kruij T.A.M., Wensing T. Relationship between overfeeding and overconditioning in the dry period and the problems of high producing dairy postparturient period. *Vet. Q.*, 1999; vol. 21: pp. 71-77.

GENETICA

Selezione genetica per le malattie

Fabiola Canavesi

Animal Breeding Consulting, Cernusco sul Naviglio (MI)

RIASSUNTO

L'azione di miglioramento genetico può giocare un ruolo importante nelle strategie di riduzione dell'incidenza delle patologie metaboliche negli allevamenti da latte. Indici genetici per le principali patologie metaboliche sono già una realtà nei Paesi Nordici e lo stanno diventando in molti altri Paesi. L'ereditabilità di questi caratteri varia da un minimo di 0,01 a un massimo di 0,53. Il primo passo per arrivare alla pubblicazione di indici di questo tipo è la creazione di una base dati nazionale che raccoglie i dati di diagnosi e i trattamenti registrati da veterinari, tecnici e allevatori, secondo uno standard internazionale. Utili indicazioni indirette, che possono aumentare l'efficienza dei sistemi di valutazione genetica, sono quelle ricavabili dall'analisi del BHB durante i controlli del latte. In Italia, un indicatore indiretto per la selezione di questi caratteri è la longevità funzionale.

Parole chiave: miglioramento genetico, malattie metaboliche, valutazioni genetiche.

SUMMARY

Genetic evaluation for diseases

Genetic improvement can play an important role in reducing the incidence of metabolic diseases in dairy farms. Genetic evaluation for the main metabolic diseases are routine in Nordic Countries and are progressively made available in many other countries. Heritability of metabolic disease traits vary from 0.01 to 0.53. The first step toward the publication of breeding values for these traits is the creation of a national data base for health traits through the concerted action of veterinarians, technicians and farmers according to international standards. Useful indirect measurement can come from BHBA analysis in milk recording. In Italy an indirect tool to select for metabolic diseases is functional longevity.

Keywords: genetic improvement, metabolic diseases, genetic evaluations.

Negli ultimi 15 anni, il focus degli obiettivi di selezione della Frisone e di tutte le razze da latte si è progressivamente spostato dai caratteri produttivi, prevalentemente quantità di kg prodotti per lattazione ma anche qualità, soprattutto in Europa, ai caratteri morfo-funzionali. Mentre i primi aiutano soprattutto a massimizzare i ricavi per capo, i secondi sono i caratteri che agiscono in misura maggiore sui costi e che, in situazioni economiche in cui il margine economico si assottiglia, possono fare la differenza in termini di reddito aziendale. Animali con una morfologia più funzionale hanno mostrato una maggiore longevità e resistenza alla mastite anche nella Frisone Italiana [1, 13].

Questo cambiamento nella direzione della selezione, unito a nuovi strumenti, quali la genomica, gli strumenti informatici della "zootecnia di precisione" e una generale azione di standardizzazione della raccolta dei dati morfologici e funzionali (tra cui anche le principali patologie metaboliche, da parte del Comitato Internazionale delle Registrazioni Animali - *International Commitee for Animal Recording* - ICAR), rendono oggi possibile avere a disposizione strumenti per migliorare il livello genetico della mandria anche per questi aspetti [16].

L'importanza del miglioramento genetico nei bovini da latte

Prima di approfondire nello specifico la complessità della raccolta dati e le problematiche specifiche del miglioramento genetico per le patologie metaboliche è necessario chiarire alcuni aspetti importanti del miglioramento genetico (finestra 1).

Ciò che viene misurato delle *performances* produttive, morfologiche, funzionali e sanitarie di una bovina da latte è un fenotipo. Questo fenotipo è il risultato della combinazione di due elementi: il genotipo e l'ambiente. Il primo elemento è di importanza strategica per il miglioramento delle *performances* della mandria, in quanto:

- si trasmette da una generazione all'altra e si cumula nel tempo nel patrimonio genetico costituito dalla mandria;

- esiste una variabilità genetica nella popolazione che rende possibile scegliere animali superiori e, quindi, avviare un processo di miglioramento.

La generale definizione di ambiente comprende l'ambiente in senso stretto (strutture, temperatura, umidità ecc.), la gestione aziendale, la sanità e l'alimentazione. Tutti questi fattori condizionano l'espressione del genotipo e si traducono in ciò che è effettivamente possibile osservare e misurare.

L'ereditabilità è il parametro che misura il rapporto fra la variabilità fenotipica e quella genetica e quantifica quanto di quello che si osserva è attribuibile alla componente genetica (figura 1).

Fare miglioramento genetico significa, in un allevamento da latte, scegliere i tori da utilizzare per la Fecondazione Artificiale (FA) in azienda e, per questo, spesso si dice che la selezione si fa con i tori. Le bovine presenti in azienda, che determinano il punto di partenza dell'azione di selezione sono, da un certo punto di vista, il capitale genetico aziendale, il cui livello per i diversi caratteri viene migliorato attraverso l'utilizzo di tori miglioratori.

Gli strumenti che si utilizzano per la scelta sono gli indici genetici. In Italia, è l'Associazione nazionale Allevatori di razza Frisone che si occupa del calcolo degli indici genetici e della definizione degli indirizzi di selezione della razza.

Un indice genetico è la stima del valore del genotipo di un soggetto a partire dal dato fenotipico "ripulito" da tutti gli effetti di origine "non genetica" e che non sono trasmissibili alla progenie. L'attuale indice di selezione, che è quello che indirizza le scelte di padri e madri di toro e determina le classifiche che permettono l'autorizzazione alla FA dei tori, è il PFT (Produzione, Funzionalità e Tipo), un indice che combina fra loro la quantità e la qualità delle produzioni, la correttezza morfologica di mammelle e piedi e la funzionalità che comprende cellule somatiche, longevità e fertilità delle figlie.

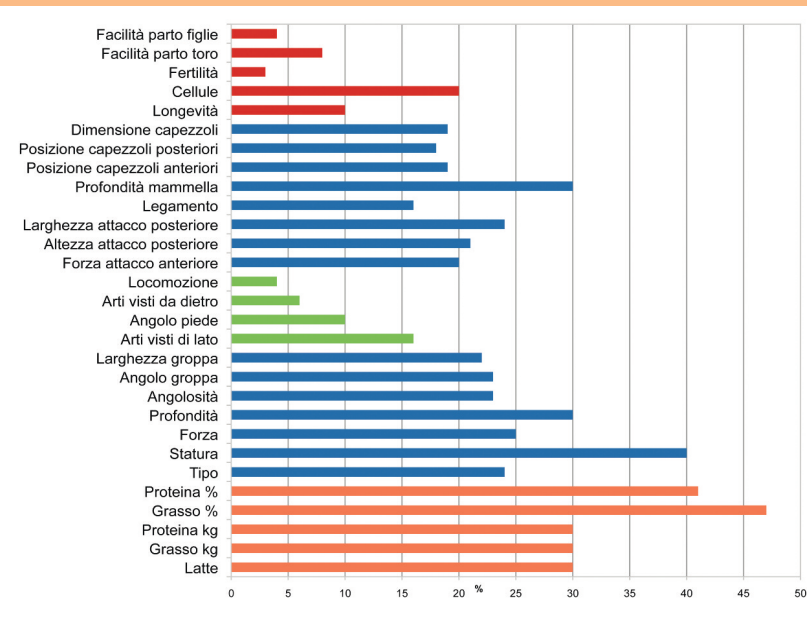
Un altro parametro importante da prendere in considerazione nei programmi di selezione è la correlazione genetica, che misura il grado di associazione che esiste a livello di geni fra caratteristiche diverse. Quando è positiva, se-

Formazione a distanza

Finestra 1. Terminologia genetica

- **Fenotipo:** è il dato misurabile della *performance* di un animale in campo (ad esempio, la facilità di parto o l'assenza o la presenza di una patologia misurata con un test diagnostico).
- **Genotipo:** è il dato che fornisce informazione sul valore genetico di un animale, che può essere espresso da un valore numerico, risultato di un'analisi statistica, o da un set di varianti genetiche, risultanti da un'analisi del DNA.
- **Marcatori genetici:** un marcatore genetico è una variazione misurabile nella sequenza del DNA di una popolazione, come ad esempio per la k-caseina, che può essere di tipo A o B. Quelli presenti sui chip per la genotipizzazione sono variazioni puntiformi del DNA chiamati *Single nucleotide polymorphisms* (SNP).
- **Aplotipo:** viene definito così un blocco di marcatori presenti sul DNA che viene trasmesso tutto insieme da una generazione all'altra.
- **Ereditabilità:** misura la proporzione di variabilità fenotipica dovuta alla variazione individuale genetica che viene trasmessa da una generazione alla successiva. Varia da 0 a 1.
- **Correlazione genetica:** la correlazione genetica misura il grado di associazione lineare esistente fra due caratteri che si influenzano a vicenda a livello genetico. Può variare da -1 a +1.
- **Indice genetico (tradizionale):** è una stima del valore genetico di un soggetto (toro, vacca, torelli e vitelle), effettuata sulla base di un'analisi statistica a partire dai dati fenotipici e anagrafici misurati sulla popolazione. Per torelli e vitelle si parla di indice *pedigree*, in quanto basato sulle sole informazioni anagrafiche.
- **Indice genomico:** è la stima del valore genetico di un individuo (toro, vacca, torelli e vitelle) sulla base del profilo dei marcatori del DNA analizzati tramite chip e degli effetti a questi associati, per ciascun carattere analizzato, derivati dall'analisi di una popolazione di riferimento.

Figura 1. Ereditabilità dei diversi caratteri oggetto di valutazione genetica nella Frisona Italiana



lezionando per un aspetto si migliora anche l'altro, quando è negativa, l'aumento di un carattere è associato a una diminuzione dell'altro (figura 2).

Se l'ereditabilità determina il grado di efficienza della selezione per una specifica caratteristica,

la correlazione determina in che modo i caratteri per cui non si seleziona direttamente vengono influenzati dalle scelte. Questo è molto importante poiché, in alcuni casi, come ad esempio nella selezione per la mastite, un carattere la cui rilevazione è piuttosto complessa, si utilizzano le cellule somatiche come indicatore indiretto, in quanto è stato dimostrato da molte ricerche che la correlazione genetica esistente tra i due aspetti sia molto elevata (minori cellule = maggiore resistenza alla mastite).

Per calcolare gli indici genetici è stato necessario costruire un sistema di raccolta dati che permettesse di misurare le *performances* fenotipiche e i dati anagrafici di tutti i soggetti allevati. Queste due informazioni sono la base essenziale per poter stimare l'ereditabilità e le correlazioni genetiche fra i caratteri e mettere a punto modelli di valutazione genetica.

Fare miglioramento genetico richiede tempo. Se si scelgono oggi i tori per la FA, infatti, per poter veder realizzati i risultati di queste scelte nelle *performances* della mandria occorre attendere che le figlie femmine nate da questi accoppiamenti entrino in produzione, cioè un periodo di almeno 3-4 anni.

Il progresso genetico che si misura in azienda è il risultato combinato della scelta dei tori da parte degli allevatori e della scelta dei padri e delle madri dei tori che verranno avviati alla FA nei centri di fecondazione artificiale.

In linea generale, le scelte a livello di allevamento incidono per circa il 30% sul progresso genetico, mentre il restante 70% è determinato dalle scelte fatte sui padri e sulle madri dei tori.

Gli indici genetici sono una stima del valore del genotipo dei soggetti maschi e femmine della popolazione, basati sull'elaborazione statistica dei dati fenotipici raccolti in allevamento. Il sistema di calcolo degli indici genetici associa a ciascun individuo, oltre a un valore puntuale, anche un'attendibilità, che varia in funzione della quantità e della qualità delle informazioni (i dati misurati) che hanno contribuito a determinarlo.

Nell'attuale sistema di selezione delle razze da latte, che prevede l'utilizzo massiccio della FA, i tori il cui indice è basato sui dati raccolti sulle figlie sono i soggetti che hanno l'indice più accurato (in Italia, da un minimo di 80 a un massimo di 99), mentre le vacche, il cui indice genetico è basato sulla combinazione di informazioni relative agli ascendenti e ai discendenti e alle *performances* produttive, morfologiche e funzionali espresse attraverso produzioni, punteggi, livello di cellule, vita produttiva, tasso di non ritorno e intervallo tra i parti, hanno un indice che varia da 40 a 60. I soggetti che ancora non hanno iniziato la loro carriera produttiva, ossia le vitelle, le manze e i torelli, sono valutati in

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 2

base a informazioni relative al loro *pedigree* e hanno un'attendibilità media del 30% circa.

In questo scenario, si è inserita negli ultimi anni la selezione genomica [11, 14]. Gli sviluppi tecnologici degli ultimi anni, legati allo studio e alla mappatura del DNA, permettono oggi di associare a una serie di marcatori genetici puntuali, equamente distribuiti lungo i cromosomi dei bovini da latte, l'effetto sui caratteri per i quali è disponibile una valutazione genetica su tutta o una parte della popolazione. Questo ha reso possibile stimare con un'accuratezza di oltre il 70% il valore genetico di un soggetto, solo sulla base di un'analisi del DNA e di informazioni anagrafiche.

La tabella 1 riporta il valore medio di accuratezza di stima dell'indice genetico prima della genomica e dopo l'avvento della genomica per diverse categorie di soggetti.

L'applicazione di questi nuovi strumenti ha permesso una maggiore accuratezza nella scelta dei riproduttori da avviare alla FA, consentendo di scegliere, in base agli effetti collegati ai marcatori, solo i soggetti portatori di superiorità all'interno di un gruppo di vitelli figli dello stesso padre e della stessa madre e di ottimizzare gli investimenti dell'industria della FA solo sui soggetti effettivamente portatori di miglioramento.

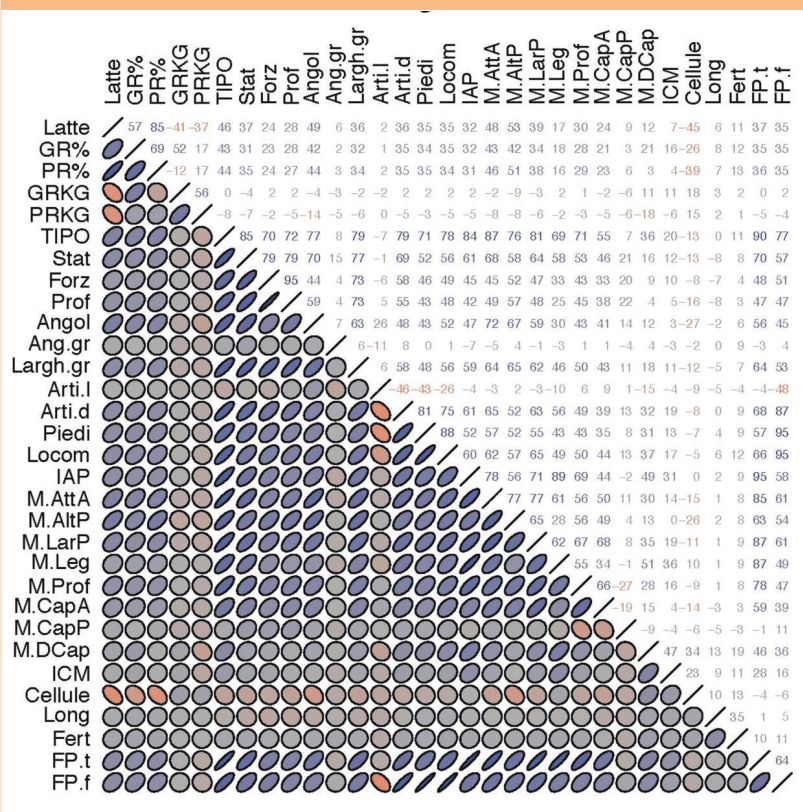
Le madri dei toro e i padri dei tori hanno a loro volta indici più accurati rispetto a prima e questo migliora l'accuratezza complessiva del sistema di selezione.

Dall'ultimo, sono comparsi sul mercato i cosiddetti "tori genomici", tori cioè che non hanno ancora alcuna figlia ma sono commercializzati in base all'indice stimato sulla base dei marcatori. L'impatto che la genomica sta avendo in tutto il mondo sui programmi di selezione è quello di:

- ridurre l'intervallo di generazione: l'età media dei padri di toro e delle madri di toro in Italia, ad esempio, nel periodo che va dal 2009 al 2015, è passata da 80 a 30 mesi per i primi e da 47 a 32 per le seconde;
- velocizzare il miglioramento genetico di circa 5 volte;
- velocizzare il ricambio dei tori utilizzati.

La genomica, inoltre, grazie all'introduzione di chip a bassa densità, cioè con un numero di marcatori inferiore allo standard, ma sufficiente per stimare il set completo che fa da riferimento per la popolazione con un costo ridotto, consente per la prima volta a ogni allevatore di poter selezionare, in combinazione con l'utilizzo di seme sessato, le femmine da utilizzare per la rimonta, scegliendole in base alla superiorità genetica evidenziata dai marcatori. Un progetto di genotipizzazione effettuato nella provincia di Lodi ha permesso di quantificare la correlazione fra l'indice geno-

Figura 2. correlazioni genetiche stimate sulla base degli indici italiani dei tori di FA con una attendibilità minima del 90%



Nella Frisone, le principali correlazioni sfavorevoli (in rosso) sono quelle tra latte e contenuti di grasso e proteina, latte e fertilità.

Tabella 1. Il livello di accuratezza medio degli indici genetici per PFT di alcune categorie di animali prima e dopo l'introduzione della selezione genomica in Italia

Categoria	Accuratezza indici prima della genomica	Accuratezza indici con la genomica
Tori provati	80-99	85-99
Giovani tori	35	75
Vacche in lattazione	45	75
Vitelle/manze	35	75

mico di una manza e il suo indice calcolato sulla base dei dati produttivi; tale correlazione è risultata molto elevata, pari all'80%.

La selezione per la funzionalità

Definiti gli strumenti che rendono possibile oggi il miglioramento genetico, è importante capire quale direzione sta prendendo la selezione della Frisone in Italia e nel mondo e, per capire, si deve partire dagli anni '90. Nel 1999, la maggioranza degli indici di selezione nel mondo

Formazione a distanza

Figura 3. Composizione degli indici di selezione dei Paesi più rappresentativi della Frisona nel 1999

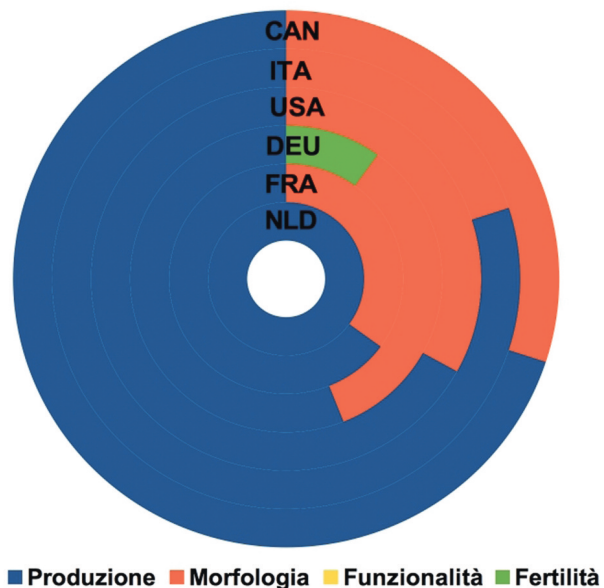
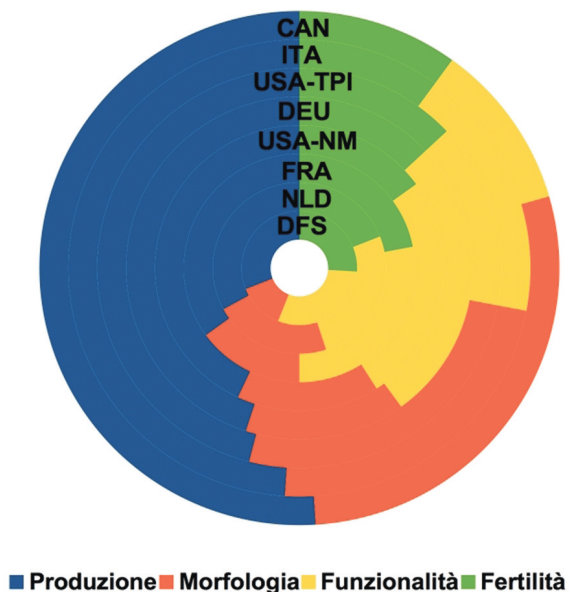


Figura 4. Composizione degli indici di selezione dei Paesi più rappresentativi della Frisona nel 2015



dava priorità soprattutto alla produzione che contava il 100% degli indici nei Paesi Bassi e più del 50% in tutti i più importanti Paesi che definivano la selezione della razza in quegli anni

(Italia, Francia, USA, Canada e Germania) (figura 3). La restante parte dell'indice dava importanza ad alcune caratteristiche morfologiche, soprattutto legate all'apparato mammario. Solo in Germania l'indice di selezione considerava già la fertilità. Oggi, il valore totale dato alla produzione varia da poco più del 30% per i Paesi nordici al 51% in Canada: l'enfasi data a latte, grasso e proteina si è andata riducendo per fare spazio a correttezza funzionale di mammelle e arti, longevità, fertilità, resistenza a patologie (figura 4).

Se si osservano con attenzione i valori di ereditabilità riportati in figura 1, è evidente come i caratteri funzionali, fatta eccezione per le cellule somatiche, hanno un livello di ereditabilità molto basso, in generale pari o inferiori al 10%. Se l'ereditabilità è molto bassa, significa che migliorare questi caratteri è molto più complesso e richiede un maggiore numero di osservazioni fenotipiche per raggiungere un livello sufficiente di accuratezza; questi caratteri, tuttavia, mostrano una variabilità nella popolazione molto ampia. Figlie di tori che hanno livelli genetici diversi manifestano in modo evidente a livello fenotipico una marcata differenza e testimoniano che si può scegliere per il meglio (tabella 2).

Una considerazione a parte merita la longevità. Questo carattere è presente in tutti gli indici di selezione nel mondo e, nei Paesi in cui non sono disponibili indicatori diretti per le specifiche patologie, è uno degli strumenti più semplici da utilizzare per scegliere; linee genetiche che, nel tempo, costruiscono una mandria meno suscettibile a mastiti, chetosi, dislocazioni e collasso puerperale.

Quando una bovina resta per tante lattazioni a produrre in azienda è perché, oltre ad avere buone produzioni, ha una buona fertilità e una salute superiore rispetto a tutte le patologie che possono condurre all'eliminazione dall'allevamento.

I caratteri funzionali sono inoltre cruciali per migliorare il profitto aziendale, poiché una mandria con un livello genetico superiore per la funzionalità produrrà sicuramente a costi inferiori. Anche per questi caratteri, l'introduzione della genomica ha portato a notevoli miglioramenti; da una parte, permettendo di aumentare l'accuratezza delle valutazioni genetiche e, dall'altra, identificando i geni coinvolti nei processi che sono all'origine di disfunzioni collegate alle diverse malattie o ai meccanismi di controllo della risposta immunitaria delle bovine da latte verso le principali patologie. Oggi è possibile pensare di poter scegliere in modo affidabile i tori dal valore genetico superiore anche per i caratteri legati agli aspetti funzionali.

I caratteri specifici inseriti alla voce funzionalità variano da Paese a Paese in funzione degli indici

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 2

genetici disponibili per la selezione, a loro volta condizionati dalla disponibilità dei dati fenotipici.

Un piccolo esempio è rappresentato dalle cellule somatiche, che rappresentano il carattere indiretto che tutti utilizzano per indirizzare la selezione verso animali più resistenti alle infezioni mammarie. Nei Paesi in cui è stato possibile raccogliere i dati sui trattamenti per le mastiti, la selezione per la resistenza alle infezioni mammarie si effettua con l'uso dell'indice per la mastite calcolato sulla base di queste informazioni. È la norma nei Paesi nordici da molti anni e in Canada e in Francia più recentemente.

I caratteri legati alla salute più rappresentati negli indirizzi di selezione di tutto il mondo, attualmente, sono la resistenza alla mastite e la resistenza alle patologie podali, sia che si selezionino attraverso la funzionalità di arti e piedi valutata morfologicamente sia che si utilizzino i dati dei maniscalchi e dei podologi come avviene in Danimarca, Finlandia e Svezia dal 2014.

Nei Paesi nordici, inoltre, la parte funzionale dell'indice dedicata al miglioramento della salute include anche un indice per le patologie metaboliche.

Malattie metaboliche e selezione

Le ragioni per cui sono pochissimi i Paesi nei quali sono disponibili indici che permettono la selezione di soggetti che mostrano una minore incidenza delle patologie metaboliche sono principalmente legati alla difficoltà di raccogliere dati fenotipici che siano codificati secondo uno standard di riferimento univoco.

Fare selezione per i caratteri legati alla salute è molto complicato. I maggiori ostacoli al miglioramento genetico per questi aspetti sono riconducibili a quattro fattori:

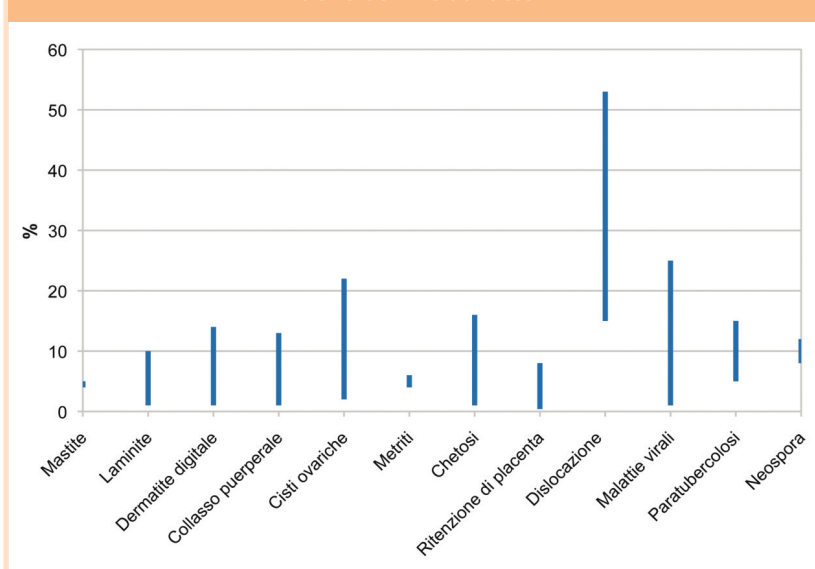
1. la bassa ereditabilità, in generale inferiore al 10%;
2. la sfida della raccolta dati: nei Paesi nordici, il servizio veterinario raccoglie tutti i dati dei trattamenti e delle diagnosi nello stesso *database* dei controlli funzionali e sono state realizzate azioni concertate di raccolta dati a livello nazionale in Canada, Austria e Germania;
3. la scarsa qualità e uniformità dei dati raccolti, soprattutto se la raccolta è gestita in modo autonomo in ciascuna azienda da allevatori, tecnici e personale dedicato attraverso i software gestionali di stalla;
4. la selezione per una specifica patologia può essere controproducente per un'altra, in quanto i meccanismi di risposta sono controllati a livello genetico da aree del genoma non identiche e spesso antagoniste tra loro.

La figura 5 riporta una sintesi dei valori di ereditabilità (minimo e massimo) delle patologie

Tabella 2. Le differenze espresse a livello fenotipico da figlie di tori con livelli di indici genetici per i caratteri funzionali superiori, medi o inferiori alla media (fonte: ANAFI)

Livello di indice	Cellule (x1000)	Longevità		Intervallo parto-concepimento (gg)
		Lattazioni	% elim. 90gg	
< 95	390	2,5	22	165
100	311	2,7	18	155
> 105	252	2,9	14	144

Figura 5. Ereditabilità minima e massima stimata in letteratura per alcune patologie che interessano l'allevamento delle bovine da latte



metaboliche e non metaboliche sulla base delle molte ricerche pubblicate [2].

Le patologie metaboliche che incidono maggiormente sull'economia dell'azienda sono tre: la chetosi, il collasso puerperale e la dislocazione abomasale.

La chetosi è quella a maggiore incidenza e l'introduzione di recente di test per il livello di beta-idrossibutirrato (BHB) nel latte come parte delle analisi di routine dei controlli funzionali rende oggi possibile mettere a punto modelli di stima di indici genetici per la chetosi, per il collasso puerperale e la dislocazione abomasale, a questa geneticamente correlati, e magari in combinazione con i dati sui trattamenti clinici provenienti da *database* per i caratteri della salute creati a livello nazionale. Le ricerche effettuate sul BHB mostrano un'ereditabilità del 10-13% (piuttosto elevata per un carattere legato alla salute) e una correlazione con la chetosi clinica prossima al 75% [8, 9]. Ricerche precedenti su dati americani hanno mostrato che la possibilità di utilizzare i dati raccolti nei sistemi

Formazione a distanza

di gestione informatizzata delle aziende possono essere sufficienti [4, 10, 12] per sviluppare una valutazione genetica e genomica nazionale per le principali patologie.

Appare chiaro che, per poter arrivare a mettere a punto un sistema affidabile di identificazione dei riproduttori portatori di caratteristiche di "maggior robustezza" agli stress fisiologici legati alle alte produzioni di qualità, è fondamentale costruire un piano strategico per la raccolta dei dati necessari. Le tecnologie di analisi a infrarosso utilizzate oggi sui campioni di latte potranno essere di grande aiuto nell'identificazione di caratteri indiretti, come il BHB per la chetosi; tali caratteri indiretti, in combinazione con i dati delle diagnosi e dei trattamenti per le principali patologie, porteranno in breve tempo alla definizione di strumenti di selezione efficaci quanto quelli già in uso per gli altri caratteri.

Considerato il valore strategico del miglioramento genetico e il fatto che ciò che si fa a questo livello rimane per sempre patrimonio della mandria e continua ad accumularsi nel tempo, investire tempo e risorse sia per la raccolta dati sia per la messa a punto di strumenti genetici appare sempre più prioritario. Il tutto per esercitare un'azione di prevenzione e rispondere alle nuove richieste da parte dei consumatori, sempre più alla ricerca di cibi salutari e naturali, e alle preoccupazioni che l'utilizzo eccessivo di farmaci veterinari alimentari l'antibioticoresistenza, con potenziali ricadute sulla salute umana.

La selezione per le malattie metaboliche e non metaboliche nella realtà

Negli ultimi anni, anche grazie ai nuovi strumenti messi a disposizione dalla genomica che rendono possibile avere indici genetici affidabili, anche con una quantità ridotta di dati molto accurati, si è assistito a un grande sforzo a livello internazionale per tradurre i risultati della ricerca in strumenti applicativi per la selezione di tori e vacche.

Dalla fine degli anni 2000 a oggi, molti sono i Paesi che hanno cominciato a riflettere sulle possibili modalità di raccolta dati su diagnosi e trattamenti: in parte sfruttando quanto già fatto in autonomia dagli allevatori attraverso l'uso di software di gestione aziendale e in parte definendo nuovi percorsi di raccolta delle informazioni attraverso la collaborazione di veterinarie e altri consulenti aziendali. Una recente indagine, condotta attraverso un questionario inviato ai Paesi membri di ICAR [15], ha evidenziato che, nella maggior parte dei casi, si raccolgono dati sulla salute attraverso i controlli funzionali o attraverso la collaborazione con i

veterinari e i laboratori di analisi.

Secondo gli standard definiti dalla commissione ICAR, rientrano nei caratteri della sfera funzionale che influenza la salute:

- la longevità;
- la fertilità;
- la facilità e la mortalità al parto;
- funzionalità di arti e piedi;
- i caratteri indiretti della salute (ad esempio, le cellule somatiche per la mastite);
- i caratteri diretti della salute.

La situazione che emerge dall'indagine è molto variegata, ma i primi cinque caratteri della lista sono parte della valutazione genetica della vacche da latte di razza Frisona un po' in tutto il mondo. Il quadro si fa più vario per quanto riguarda i caratteri diretti della salute, cioè quelli legati alla raccolta e all'utilizzo per la valutazione genetica dei dati relativi a diagnosi e trattamenti per le principali patologie riproduttive, metaboliche e infettive.

Nel 2012, i Paesi che avevano valutazioni genetiche ufficiali per almeno uno dei caratteri diretti erano meno di 10, ma attualmente il totale dei Paesi in cui si sta mettendo a punto la raccolta dati o è già stata definita ed è operativa sono 19. Nella maggior parte dei casi, si utilizza più di una fonte di informazione.

Valutazioni ufficiali per la resistenza alla mastite sono state introdotte nel 2010 da Austria e Germania, seguite dalla Francia nel 2012 e dal Canada nel 2014. In quest'ultimo Paese, l'indice per la mastite è stato anche inserito nell'indice di selezione ufficiale LPI.

L'esperienza più ricca è, senza dubbio, quella dei Paesi nordici. Danimarca, Svezia e Finlandia sono i pionieri del miglioramento genetico dei caratteri legati alla salute. Sono stati i primi a intuire l'importanza della raccolta dati anche su questi aspetti e a costruire nel tempo un percorso, che ha coinvolto allevatori e veterinari e ha permesso che tutti i dati di diagnosi e trattamenti fossero inseriti nella stessa base dati dei controlli funzionali e delle valutazioni morfologiche. Questo ha costituito una solida base su cui mettere a punto modelli per la valutazione genetica, e oggi genomica, per i caratteri della salute, che sono inclusi nell'indice di selezione per la razza Frisona con un'importanza pari al 21%, determinata in base alla loro incidenza sui costi di produzione. Questa quota include i caratteri:

- la salute della mammella, con un peso del 14%;
- la salute dei piedi, che incide per un 2%;
- un generico "altri caratteri della salute", con un'importanza del 5%.

Con il termine "altri caratteri della salute" si intendono quattro gruppi di caratteri:

1. le patologie della sfera riproduttiva entro i 40 giorni dal parto (*Early Reproductive Diseases*, ERP);

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 2

2. le patologie della sfera riproduttiva dopo i 40 giorni dal parto (*Late Reproductive Diseases*, LRP);

3. le patologie metaboliche;

4. le patologie podali genericamente definite. Informazioni dettagliate su come questi indici vengono calcolati e quanto miglioramento possono portare a livello fenotipico sono disponibili sul sito della valutazione genetica dei Paesi nordici¹, insieme ai dati dei tori (dati pubblici e consultabili nell'apposita sezione). Per tutti i caratteri considerati è disponibile l'indice per la prima, la seconda e la terza lattazione. Nel documento presente sul sito, che descrive in dettaglio tutti i dati e i modelli utilizzati nella valutazione genetica per i caratteri della salute, si evidenzia una diminuzione dei trattamenti da -0,01% a -1,8%, a seconda del carattere analizzato, per ogni deviazione standard di differenza sull'indice. Un approccio interessante, diventato uno strumento di selezione dei tori in Canada, è quello partito dalle ricerche di Mallard sulle difese immunitarie, che ha come obiettivo quello di sviluppare sistemi efficaci per misurare l'efficienza del sistema immunitario a livello fenotipico utilizzabili per il miglioramento genetico [17]. L'obiettivo della selezione, in questo caso, è quello di potenziare, a livello genetico, la capacità delle bovine di fronteggiare in linea generale le aggressioni di patogeni sui due livelli su cui agisce la risposta adattativa: la risposta mediata da anticorpi e quella cellulosa-mediata, lasciando che sia l'organismo a decidere quale meccanismo utilizzare a seconda della situazione ed eliminando la problematica legata alla risposta genetica specifica per ogni patologia. I dati delle numerose ricerche pubblicate mostrano che questo approccio crea animali più "resistenti" a numerose patologie, soprattutto nei confronti delle mastiti, delle metriti e delle ritenzioni placentari. Il protocollo di misurazione dell'efficienza del sistema immunitario e il relativo sistema di valutazione genetica è stato acquisito dall'industria della FA canadese e applicato ai tori avviati alla FA.

Un altro strumento immesso sul mercato da un famoso centro di FA internazionale è invece un primo tentativo di introdurre, utilizzando i *databases* aziendali per diagnosi e trattamenti, un indice per la salute delle figlie dei tori, con particolare riguardo per il periodo di transizione. Lo strumento ha l'obiettivo di identificare i riproduttori le cui figlie mostrano un'incidenza delle patologie associate al delicato passaggio dall'asciutta alla successiva lattazione, quali mastite, metrite e chetosi. L'indice è stato messo a punto utilizzando i dati di diagnosi e i trattamenti presenti nei *databases* aziendali dei clienti, in combinazione con gli indici genetici e geno-

mici per altri indici importanti per la fase di transizione, come la facilità di parto sia dei tori sia delle figlie.

Nel 2016, il Canada ha in programma di pubblicare un nuovo indice per le patologie metaboliche [8]. Anche in questo Paese, la creazione di un *database* nazionale per tutti i caratteri della salute ha permesso di mettere a punto una valutazione che combina le informazioni relative a chetosi clinica, dislocazione abomasale, collasso puerperale, rapporto grasso/proteina, BHB e *Body Condition Score* (BCS).

La genomica, oltre ad avere un impatto sull'accuratezza degli indici genetici, fornisce indicazioni preziose per l'individuazione dei geni o di aree del genoma che vengono trasmesse in blocco da una generazione alla successiva (aplotipi) e che hanno un effetto significativo su alcune disfunzioni e, in alcuni casi, ne sono la causa al 100%.

Le analisi del DNA permettono di identificare i portatori con un'accuratezza molto elevata e consentono di utilizzare questa informazione nei piani di accoppiamenti offerti sia dalle associazioni di razza sia dai centri di FA.

Sono noti 5 aplotipi che influenzano in modo significativo la fertilità, provocando mortalità embrionale [6], nonché le aree del genoma legate alla predisposizione alla dislocazione abomasale [3]; in più, la scorsa estate, alcuni ricercatori tedeschi hanno individuato un nuovo aplotipo, all'origine di una deficienza di colesterolo, che porta i vitelli alla morte tra 1 e 6 mesi di vita [7]. La frequenza di questo difetto è molto aumentata nelle popolazioni di razza Frisona in quanto legato a una linea genetica molto utilizzata negli ultimi anni.

Gli strumenti disponibili in Italia

Se è vero che in Italia si è ancora piuttosto lontani dall'aver anche solo definito una strategia per la raccolta dati e la successiva analisi al fine di mettere a punto strumenti per la selezione per i caratteri diretti della salute, molti sono gli strumenti disponibili per il miglioramento indiretto di questi aspetti.

L'indice per le cellule è dal 2002 parte dell'indice di selezione nazionale, insieme alla longevità funzionale; entrambi questi indici permettono di identificare in modo piuttosto accurato i tori e le linee genetiche che danno vacche capaci di restare e produrre in azienda a costi inferiori. E la longevità è uno dei caratteri che meglio caratterizza la superiorità di questi tori.

Per tutti i tori sono inoltre disponibili informazioni su diversi aspetti: facilità al parto, fertilità, funzionalità di arti e piedi e salute della mammella.

Per quest'ultima si utilizzano due caratteri in-

¹ www.nordicebv.info

Formazione a distanza

diretti: la conta delle cellule somatiche nel latte (indicatore indiretto della capacità del sistema immunitario dell'animale di difendersi dalle infezioni mammarie) e la forza e la correttezza dell'apparato mammario (prima barriera di difesa fisica all'ingresso dei patogeni).

Fatta eccezione per l'indice per la facilità al parto, tutti questi indici sono inclusi nella formula dell'indice di selezione nazionale, il PFT, con un peso complessivo pari al 47% dell'indice stesso. Per ogni riproduttore con figlie in Italia e per tutti i tori autorizzati all'importazione è disponibile il dato PFT, ma anche i dati dei singoli aspetti.

Conclusioni

Mettere in campo azioni di miglioramento genetico per le patologie metaboliche è ormai una realtà in molti Paesi che, mediante azioni concertate per la definizione di standard di raccolta dati per diagnosi e trattamenti attraverso il servizio veterinario o l'acquisizione dei dati registrati in azienda e l'utilizzo di indicatori indiretti come il BHB misurabile nel latte, hanno portato alla pubblicazione di indici genetici anche per questi caratteri.

Ove questi non fossero presenti, l'utilizzo di caratteri indiretti come la longevità, la fertilità, le cellule, la correttezza di mammelle, arti e piedi possono contribuire alla riduzione progressiva dell'incidenza anche della chetosi, del collasso puerperale e della dislocazione, insieme alle altre patologie che influenzano la redditività di un'azienda da latte.

Bibliografia

1. Bagnato A., Canavesi F., Dadati E., Rognoni G. Longevità e caratteri morfologici nella Frisiana Italiana. Atti XI Congresso nazionale ASPA, Grado, Italia, 1995; pp. 63-164.
2. Berry D.P., Bermingham M.L., Good M., More S.J. Genetics of animal health and disease in cattle. *Irish Vet. J.*, 2011; vol. 64: pp. 5-15.
3. Biffani, S., Morandi N., Locatelli V., Pravettoni D., Boccardo A., Stella A., Nicolazzi E.L., Biscarini F. Adding evidence for a role of the SLITRK gene family in the pathogenesis of left displacement of the abomasum in Holstein-Friesian dairy cows. *Livestock Science*, 2014; vol. 167: pp. 104-109.
4. Cole J.B., Parker Gaddis K.L., Clay J.S., Maltecca C.. Genomic evaluation of health traits in dairy cattle. *ICAR Tech. Ser.*, 2013; vol. 17: pp. 167-175.
5. Egger-Danner C., Cole J.B., Pryce J.E., Gengler N., Heringstad B., Bradley a., Stock. K.F. Invited review: overview of new traits and phenotyping strategies in dairy cattle with a focus on functional traits. *Animal.*, 2015; vol. 9, n. 2: pp. 191-207.
6. Fritz, S., Capitan, A., Djari, A., Rodrigue, S.C.,

Barbat, A., Baur, A., Grohs, C., Weiss, B., Boussaha, M., Esquerré, D., Klopp, C., Rocha, D., Boichard D. Detection of haplotypes associated with pre-natal death in dairy cattle and identification of deleterious mutations in GART, SHBG and SLC37A2. *Plos One*, 2013; vol. 8, n. 6; e65550.

7. Kipp S., Segelke D., Reinhardt F., Reents R., Schierenbeck S., Wurmser C., Pausch H., Fries R., Thaller G., Tetens J., Pott J., Piechotta M., Grünberg W. A new holstein haplotype affecting calf survival. *Interbull Bull.*, 2015; vol. 49: pp. 49-53.

8. Koeck, A., Jamrozik J., Kistemaker G.J., Schenkel F. S., Moore R.K., Lefebvre D.M., Kelton D.F., Miglior F. Development of genetic evaluations for metabolic disease traits for canadian dairy cattle. *Interbull Bull.*, 2015; vol. 49: pp. 76-79.

9. Jamrozik, J., Koeck A., Kistemaker G.J., Miglior F. Multiple-trait estimates of genetic parameters for metabolic disease traits, fertility disorders, and their predictors in canadian Holsteins. *J. Dairy Sci.*, 2016; vol. 99: pp. 1990-1998.

10. Maltecca, C., Parker Gaddis K.L., Clay J.S., Cole J.B. Challenges and opportunities for farmer-recorded data in health and welfare selection. *ICAR Tech. Ser.*, 2013; vol. 17: pp. 87-96.

11. Meuwissen T.H.E, Hayes B.J., Goddard M.E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*, 2001; vol. 157: pp. 1819-1829.

12. Parker Gaddis K.L., Cole J.B., Clay J.S., Maltecca C. Genomic selection for producer-recorded health event data in U.S. dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 2014; vol. 97: pp. 3190-3199.

13. Samoré A.B., Boettcher P.J., Jamrozik J., Bagnato A., Groen A.F. Genetic parameters for production traits and somatic cell scores estimated with a multiple trait random regression model in Italian Holsteins. *Proceedings of the 7th World congress on genetics applied to livestock production, Montpellier*, 2003; vol. 26: pp. 63-66.

14. Shaeffer L.R. Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle. *J. Anim. Breed. Genet.*, 2006; vol. 123: pp. 218-223.

15. Stock K.F., Cole J., Pryce J., Gengler N., Bradley A., Andrews L., Egger-Danner C. Survey on the recording and use of functional traits in dairy management and breeding. *Proceedings ICAR Annual Meeting, Cork/Ireland*, 2012.

16. Stock K.F., Cole J., Pryce J., Gengler N., Bradley A., Andrews L., Heringstad B., Egger-Danner C. Standardization of health data. *ICAR guidelines including health key. ICAR Tech. Ser.*, 2013; vol. 17: pp. 75-81.

17. Thompson-Crispi K.A., Hine B., Quinton M., Miglior F., Mallard B.A. Association of disease incidence and adaptive immune response in Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2012; vol. 95: pp. 3888-3893.



ALTERAZIONI DEL PH RUMINALE

L'acidosi ruminale subacuta nella bovina da latte

Leonardo Armato, Enrico Fiore, Matteo Giancesella

Dipartimento di Medicina animale, Produzioni e Salute - Università degli Studi di Padova (PD)

RIASSUNTO

L'acidosi ruminale è stata a lungo definita e studiata come il principale disturbo fermentativo dei ruminanti. L'acidosi ruminale è nota nella sua forma acuta, meno frequente, e nella sua forma subacuta (*Sub-Acute Ruminant Acidosis*, SARA), a maggior incidenza.

Attualmente, questa malattia rappresenta un serio problema per gli allevamenti di bovine da latte, in quanto è causa di consistenti perdite economiche.

Eziologia, patogenesi, sintomi e diagnostica dell'acidosi ruminale subacuta sono gli argomenti sviluppati in questo dossier.

Parole chiave: acidosi ruminale subacuta, pH ruminale, bovina da latte.

SUMMARY

Subacute ruminal acidosis in dairy cattle

Ruminal acidosis has long been defined and studied as the main fermentation trouble in ruminants. Ruminal acidosis is known in a less frequent acute form and in a subacute form (Sub-acute Ruminant Acidosis, SARA), with higher incidence.

Currently, this disease is a serious problem in dairy herds, as it causes substantial economic losses. Aetiology, pathogenesis, symptoms and diagnosis of subacute ruminal acidosis are discussed in this dossier.

Keywords: subacute ruminal acidosis, ruminal pH, dairy cattle.

L'acidosi ruminale è stata a lungo definita e studiata come il principale disturbo fermentativo dei ruminanti, caratterizzato da un eccessivo abbassamento del pH all'interno del rumine rispetto ai valori fisiologici (6,0-6,5). Se ne riconoscono principalmente due forme: una acuta, caratterizzata da sintomatologia evidente e grave, ma meno frequente dal punto di vista pratico, e una subacuta (*Sub-Acute Ruminant Acidosis*, SARA), caratterizzata da una sintomatologia spesso poco evidente, ma a elevata incidenza.

A oggi, SARA rappresenta una delle principali problematiche nell'allevamento della bovina da latte, in grado di provocare notevoli ripercussioni economiche, sia dirette sia indirette.

Eziologia

1. Cause alimentari...

Negli ultimi anni, molte ricerche hanno stabilito che l'acidosi ruminale subacuta è riconducibile a un insieme di fattori che causano disturbi di fermentazione a livello del rumine, in grado di indurre uno squilibrio della flora microbica e un malassorbimento di Acidi Grassi Volatili (AGV) a livello ruminale, con una conseguente diminuzione del pH (< 5,8).

L'assunzione di alimenti o di razioni a elevato contenuto di carboidrati facilmente fermentescibili, talvolta associate a una carenza di fibra, rappresentano la principale causa di SARA. Inoltre, altri fattori di stress, come cambiamenti della qualità degli alimenti, cambi gestionali, presenza di patologie concomitanti, cambiamenti di gruppo e, soprattutto, il passaggio dal periodo di asciutta alla fase di lattazione, rendono particolarmente elevato il rischio di insorgenza di SARA, soprattutto negli allevamenti intensivi di bovini da latte ad alta produzione [3].

Quindi, sebbene non sia da imputarsi esclusivamente a errori di formulazione della razione, una corretta analisi dell'alimento è fondamentale per prevenire tale problema, ponendo attenzione al contenuto di fibra neutro detersa

(*Neutral Detergent Fiber*, NDF) e, più in particolare, di peNDF (*physically effective NDF*), al contenuto di carboidrati non strutturali (*Non-Structural Carbohydrates*, NSC), di fibra acido detersa (*Acid Detergent Fiber*, ADF), di proteina grezza ed estratti eterei nelle diverse fasi del ciclo produttivo.

2. ...e non alimentari

► *Adattamento dell'ambiente ruminale durante il periodo di transizione*

Il passaggio da uno stato gravidico alla prima fase di lattazione subito dopo il parto costituisce un periodo di forte stress per la bovina, che spesso si concretizza in una diminuita assunzione di alimento. Questo esita in una condizione di Bilancio Energetico Negativo (BEN), con una perdita della condizione corporea, fino ad arrivare a una situazione di chetosi e a una maggiore sensibilità a sviluppare altre patologie (foto 1).

Inoltre, l'animale deve adattare e ripristinare sia le condizioni fisiche del rumine, in termine di ripristino di dimensioni e volume, sia le condizioni fisiologiche della flora ruminale [3, 44]. Infatti, durante i primi giorni di lattazione, le prime fermentazioni dovute a una dieta ricca di amido e carboidrati facilmente fermentescibili favoriscono la proliferazione delle papille ruminanti. Inoltre, a inizio lattazione, le papille ruminanti subiscono diversi cambiamenti anche a livello istologico, morfologico e trascrittomico [56].

► *Fonte di amido dell'alimento e suo trattamento*

I cereali utilizzati come fonte di amido nella dieta differiscono per velocità di degradazione dell'amido in glucosio. Quindi, la fermentescibilità varia in base al tipo di concentrato: ad esempio, l'amido contenuto nell'orzo è degradato a glucosio più rapidamente rispetto a quello presente nel mais o nel sorgo [59] e, di conseguenza, espone a un maggior rischio di SARA. Alimentando gli animali in produzione con elevate quantità di orzo sono stati con-



Formazione a distanza

statati: minore assunzione di cibo e abbassamento del pH ruminale, maggiore quantità di endotossine nel liquido ruminale e stimolazione di una risposta infiammatoria [12].

► Trattamenti dell'alimento

Calore, vapore, pressione e umidità aumentano la superficie dei granuli di amido esposta all'attacco microbico e ne rompono la struttura cristallina, aumentandone la degradabilità ruminale [31, 32]. Anche gli insilati con un elevato tenore di acidi grassi volatili preformati e acido lattico possono favorire l'instaurarsi di disturbi metabolici [37].

► Frequenza di ingestione e tempi di somministrazione dell'alimento

La frequenza dei pasti e il prolungarsi o meno degli stessi influenzano la possibilità di sviluppare SARA. Alcuni studi hanno dimostrato che l'ingestione dell'alimento da parte dell'animale è concentrata in particolari momenti della giornata [58]; oltre a ciò, alla fine delle mungiture, i pasti risultano essere più lunghi e viene ingerita una maggiore quantità di alimento [18].

► Stagionalità

L'aumentare della temperatura ambientale durante la stagione estiva coincide con una riduzione dell'ingestione, soprattutto di foraggi, perché la loro digestione produce più calore rispetto agli amidi [57]. Aumenta inoltre l'optialismo, la frequenza respiratoria e l'eliminazione polmonare di CO₂, fonte di bicarbonati, e si ri-

duce la ruminazione [53]. Uno studio condotto da Ganesella *et al.* ha previsto un monitoraggio stagionale di 6 allevamenti intensivi di bovine da latte del Nord Italia: i risultati hanno evidenziato che solo un allevamento è stato classificato nella stessa classe ("a rischio di acidosi") per tutto l'anno; tutti gli altri, nel periodo estivo, hanno fatto registrare un peggioramento della condizione clinica di acidosi ruminale. Inoltre, nessuna azienda, a fronte di una condizione in indennità da acidosi durante l'inverno, è risultata indenne durante l'estate [24].

► Stabulazione e gestione aziendale

Il tipo di stabulazione e la formazione di gruppi numerosi con limitato accesso all'alimento possono determinare l'instaurarsi di gerarchie e competizioni, in cui gli animali socialmente dominanti assumono una maggiore quantità di alimento e, in particolare, di concentrati [45]; tali animali, quindi, sono quindi più esposti al rischio di sviluppare squilibri metabolico-nutrizionali. Così, anche cambiamenti di stabulazione, modificazioni nella dieta o dei gruppi di animali (frequenti nella fase di transizione) possono ridurre l'assunzione di sostanza secca e indurre un bilancio energetico negativo [43].

Patogenesi

La somministrazione di concentrati, soprattutto di amido, innesca una sequenza di eventi che causa la sovracrescita di specie microbiche ruminanti amilolitiche, che li utilizzano come substrato energetico. Tali condizioni favoriscono la selezione e la crescita di *Streptococcus bovis*, che aumenta la produzione a livello ruminale di acido lattico, in grado di determinare un'acidità 10 volte più forte di quella data dagli altri AGV ruminanti [6]. L'accumulo di AGV causa una riduzione della motilità reticolo-ruminale (azione sui recettori della parete), della ruminazione e della produzione di saliva. Tutto ciò abbassa ulteriormente il pH ruminale e riduce il numero dei protozoi, probabilmente perché la fibra lunga fornisce un substrato d'attacco per questa popolazione batterica e ne consente la permanenza e la replicazione [53].

I protozoi ruminanti, inoltre, concorrono al consumo dell'amido grazie a una forte attività amilasica e lo accumulano in forma di glucosio, ritardando le fermentazioni e stabilizzando il pH del rumine [40]. In corso di SARA il numero di protozoi ruminanti tende a diminuire [38] e la loro lisi porta al rilascio di una gran quantità di amilasi, che accelera la produzione di glucosio; quest'ultimo viene convertito in fruttosio 1,6-difosfato che, a sua volta, esercita un feedback positivo sulla conversione del piruvato a lattato, mediante la lattico-deidrogenasi. Tutto ciò



Foto 1. La prima fase di lattazione subito dopo il parto rappresenta un periodo di stress per la bovina, spesso associato a un calo dell'ingestione. Una condizione di bilancio energetico negativo può essere il punto di partenza della chetosi (foto Icponline).



Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 3

esalta l'osmolarità del contenuto ruminale [53] e l'aumento di acqua all'interno del rumine, causando così la comparsa di idrorumine e, quindi, di disidratazione sistemica.

Inoltre, la diminuzione del pH a valori attorno a 5,5 modifica l'equilibrio tra i batteri produttori e utilizzatori di acido lattico nel rumine [43]. Quando il pH raggiunge valori ancora più bassi (< 5,5), i batteri cellulolitici e larga parte dei lattico-utilizzatori non sopravvivono; al contrario, i batteri come *Streptococcus bovis* e i lattobacilli si moltiplicano e producono due forme di acido lattico: il D(-) lattato e l'L(+) lattato, presenti solo in tracce nel rumine degli animali sani [34].

Con un pH ruminale inferiore a 5, il lattato è assorbito nella forma indissociata, per cui si ha un accumulo nel sangue. L'L-lattato viene metabolizzato dal fegato e dal muscolo cardiaco più rapidamente del D-lattato, che non viene prodotto dai tessuti dei mammiferi; di conseguenza, è il principale responsabile dell'acidosi metabolica [2]. Infatti, l'emivita del D-Lattato è pari a 108 minuti, mentre quella dell'L-Lattato è di 22 minuti.

I batteri lattico-utilizzatori non sono in grado di crescere in tali condizioni, anche per la loro necessità di bicarbonato, che decresce a pH inferiori a 6; ciò compromette la capacità tampone intraruminale, soprattutto quando le successive somministrazioni di concentrati avvengono a ridotta distanza di tempo.

Entro i normali ranges di pH ruminale (6-7) si conserva la funzione dei meccanismi tampone, dati in primo luogo dai bicarbonati rilasciati nella saliva e in secondo luogo dagli AGV deboli, più importanti a pH inferiori a 6. Un meccanismo tampone secondario è dato dai fosfati, anch'essi contenuti nella saliva.

Segni e sintomi

Benchè SARA sia presentata come una patologia "subclinica", si tratta di un disturbo fermentativo in grado di causare numerose conseguenze clinicamente rilevabili, ma poco patognomiche: diarrea, ipocinesia ruminale, appetito capriccioso, stato di nutrizione scadente, chetosi, ruminiti, ascessi epatici, emboli polmonari, patologie podali [45], alterazioni della produzione e della qualità di latte [49], dislocazioni abomasali, mastitis, metriti [13] e diminuzione della fertilità.

1. Alterazione delle feci

Il pH fecale, normalmente, non è collegato a quello ruminale [14], se non quando elevate quantità di amido bypassano il rumine, causando fermentazioni a livello del grosso intestino [11]. Negli animali colpiti da SARA, l'acido lattico

accumulatosi nel rumine raggiunge il tratto intestinale e crea un gradiente osmotico, che richiama fluidi nel lume e determina diarrea e disidratazione [23]. Si possono riscontrare anche frammenti di mucina nelle feci.

2. Ridotta assunzione di cibo

Secondo alcuni autori, il calo di ingestione di sostanza secca è un segno clinico evidente di SARA [23]. I cambiamenti delle abitudini alimentari degli animali colpiti da SARA possono essere collegati anche alle variazioni che subisce l'osmolarità del rumine, in quanto valori maggiori di 300 mOsm/l causano una riduzione dell'assunzione di cibo e delle fermentazioni batteriche di fibra e amido [5]. L'aumentata osmolarità del fluido ruminale, dovuta principalmente alla presenza di glucosio, AGV e lattato, causa un richiamo di fluidi nel rumine e il trasferimento di acido butirrico nel sangue [58].

3. Riduzione della ruminazione e inibizione della motilità reticolo-ruminale

L'accumulo di AGV in corso di SARA [20] riduce la motilità reticolo-ruminale (inibizione dei recettori della parete) e inibisce la ruminazione e la produzione di saliva, imputabile anche alla diminuita assunzione di fibra. Un effetto inibitorio sulla motilità reticolo-ruminale è stato riscontrato anche a causa dell'assorbimento di endotossine batteriche [26]. Calamari *et al.* hanno osservato come vi sia un tempo di ruminazione medio più alto negli animali clinicamente sani rispetto agli animali con stati infiammatori lievi o subclinici [4].

4. Scadente condizione corporea

Diversi autori hanno osservato una diminuzione del BCS (*Body Condition Score*) negli animali affetti da SARA [45, 43, 49]. Le cause di questo calo della condizione corporea si identificano nell'aumentato catabolismo proteico [1], nella produzione di citochine infiammatorie, nella condizione di anoressia [49] e nell'incapacità di ottimizzare l'uso dell'alimento [44].

5. Ruminiti, paracheratosi, ascessi epatici

L'aumento della produzione di AGV, in particolare di butirrico e propionato, l'incremento della concentrazione del lattato e le fluttuazioni dell'osmolalità ruminale sono tutti fattori coinvolti nello sviluppo di ruminiti [33]. L'eccesso di butirrico e propionato promuove la proliferazione dell'epitelio ruminale, rendendolo tuttavia più suscettibile alle lesioni e agli stati infiammatori [29]. In corso di episodi di acidosi acuta, si verifica un incremento repentino dei livelli di lattato, che inducono paracheratosi, condizione che può influenzare l'assorbimento



Formazione a distanza

degli AGV sul lungo termine [33]. I danni subiti dalla mucosa a causa della ruminite possono fungere da porta di ingresso per batteri come *Fusobacterium necrophorum* e, più raramente, *Arcanobacterium pyogenes*, con la successiva colonizzazione della sottomucosa e, attraverso il circolo portale, la formazione di ascessi a livello epatico.

6. Laminiti

Le laminiti cliniche (infiammazioni acute non suppurative della lamina dermica) sono associate a un eccesso di carboidrati prontamente disponibili [9]. Anche se la laminite acuta nei bovini è una malattia relativamente rara, la laminite subclinica insorge come conseguenza di SARA, da tempo considerata una delle principali cause di lesioni distruttive del cheratogeno (*Claw Horn Disruption Lesions*, CHDL). Diversi studi disponibili in letteratura [7, 39], che prevedevano l'induzione dell'acidosi ruminale, hanno evidenziato che le modificazioni delle fermentazioni ruminali legate a SARA rappresentano un fattore di rischio per l'insorgenza di laminite subclinica.

Si ipotizza, inoltre, che i danni causati da SARA alla mucosa ruminale [48] permettono ai lipopolisaccaridi (LPS) (sostanze tossiche intraruminali), la principale componente della membrana esterna dei batteri Gram-negativi [27], di essere rilasciati nel flusso sanguigno, di raggiungere così gli unghioni e di attivare le metalloproteinasi della matrice (*Matrix Metalloproteinases*, MMP), che degradano le fibre di collagene dell'apparato sospensorio. Queste lesioni provocano una rotazione della falange distale e uno spostamento all'interno della

capsula dell'unghione, causando traumi del tessuto molle sotto il tubercolo flessorio della terza falange [37].

7. Variazioni dei parametri del latte

Le percentuali di grasso e proteina del latte sono influenzate da diversi fattori, compresa, a parità di razza e stadio di lattazione, la composizione delle razioni. Inducendo SARA sperimentalmente, alcuni autori hanno osservato che oltre alla riduzione della percentuale di grasso [22] si ottiene principalmente un incremento della percentuale di proteina del latte [29]. Secondo altri ricercatori, per le bovine Holstein, un rapporto grasso/proteina minore di 1,15:1 e una percentuale di grasso inferiore a 3,6 possono rappresentare un indice del rischio di acidosi [16]. Altri studi di campo, effettuati su bovine al di sotto di 30 giorni di lattazione, hanno tuttavia evidenziato l'assenza di un coefficiente di correlazione tra il pH ruminale e la percentuale di grasso del latte, sottolineando il fatto che la percentuale di grasso in questo periodo non dovrebbe essere usata come indicatore di SARA [14].

Diagnosi di campo

Come riportato in precedenza, SARA rappresenta una patologia polifattoriale, con sintomatologia spesso vaga, aspecifica e protratta; la sua insorgenza, inoltre, è differita nel tempo da quella che è la sua manifestazione clinica. Quindi, è evidente che per una diagnosi corretta si devono prendere in considerazione numerosi aspetti, in quanto nessun sintomo è patognomonico [42]. Si devono esaminare allo stesso tempo lo stato di salute globale degli animali (finestra 1), le caratteristiche chimico-fisiche della razione (finestra 2) e le caratteristiche del liquido ruminale (finestra 3).

Supporti diagnostici innovativi

1. Utilizzo di boli endoruminali

Al fine di una determinazione continua e non invasiva del pH ruminale, nel corso degli ultimi anni, sono stati introdotti nell'allevamento del bovino da latte strumenti endoruminali, i cosiddetti "boli endoruminali", dotati di tecnologia *wireless*, che consentono una rilevazione continua dei valori di pH del ruminale o del reticolo. In genere, questi dispositivi hanno una forma sferica o a proiettile, sono costituiti di materiale inerte, sono dotati di "alette" che ne riducono il rischio di rigurgito, sono costituiti da un rilevatore di pH, un processore, una radiotrasmittente e una batteria; alcuni sono dotati di una memoria interna, oltre che di altri sensori (temperatura e pressione). Vengono somministrati oralmente tramite uno "sparaboli".

Finestra 1. Raccolta di dati anamnestici e valutazione clinica dell'allevamento

Ai fini di una corretta diagnosi di SARA, riveste un ruolo importante indagare la presenza dei segni clinici, chiedendo all'allevatore se ha riscontrato, più o meno di recente, diarree, zoppie, scarse condizioni corporee, chetosi, dislocazioni abomasali, ritenzioni di placenta, mastiti, metriti, e aumento dell'intervallo parto concepimento, del tasso di rimonta e della percentuale di eliminazione delle bovine.

Finestra 2. Analisi dell'alimento

La valutazione della composizione quali-quantitativa della dieta somministrata, la modalità di somministrazione e del residuo, che dovrebbe rappresentare circa il 3-5%, rappresentano sicuramente aspetti chiave per determinare e identificare gli eventuali aggiustamenti necessari [18]. Il sospetto della presenza di SARA in allevamento può essere ragionevolmente confermato se, in seguito a opportuni aggiustamenti della razione successivi all'analisi dell'alimento, si verifica un generale miglioramento delle condizioni.

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 3

Le comparazioni tra le misurazioni da essi effettuate e quelle "a spot" delle ruminocentesi hanno dimostrato la loro efficienza per l'uso in campo [15]. Falk *et al.* ha comparato i valori di pH ottenuti dai boli endoruminali con quelli forniti dai boli che si posizionano nel reticolo; i risultati hanno evidenziato valori di pH più elevati per il reticolo, in media di 0,24 unità [17]. A oggi, il loro utilizzo non è molto diffuso, in quanto i costi sono elevati e la durata delle batterie non permette una rilevazione costante durante tutta la vita produttiva della bovina [21, 28, 54].

2. Ecografia della parete ruminale

Come già discusso in precedenza, l'aumento degli AGV e la conseguente riduzione del pH ruminale provocano cambiamenti morfologici nella mucosa ruminale in risposta a eventi infiammatori, quali ruminiti acute o croniche. Tutto ciò porta a uno stato di ipercheratosi della mucosa della parete ruminale, che rappresenta un meccanismo difensivo nel corso di acidosi ruminale. Uno studio pilota condotto da Mirzazhari-Anwar *et al.* ha dimostrato che la misurazione ecografica dell'ispessimento della parete ruminale in corso di acidosi è possibile [41]. L'indagine ecografica del rumine è una risorsa utile come strumento diagnostico non invasivo nella bovina da latte, al fine di determinare spessore e motilità del rumine stesso [55].

3. Valutazione di alcuni parametri ematici

► Emogasanalisi

Dato il delicato periodo in cui facilmente insorge l'acidosi ruminale, ossia il primo *post partum*, gli elementi minerali (Ca, Na, P, K) sono mantenuti sotto stretto controllo da vari processi omeostatici, senza mostrare quindi grandi variazioni in corso di acidosi ruminale. Tuttavia, a causa della quantità di acidi organici che passano nella circolazione ematica e della quantità di bicarbonato e altri *buffer* che vengono richiamati all'interno del rumine, si può raggiungere una condizione di acidosi metabolica [24], la cui entità dipende dalla durata e dalla gravità dell'insulto acido. A livello ematico, l'acidosi metabolica si rileva con una riduzione del normale *base excess* ematico, ossia della quantità di soluti tampone circolanti, e con un calo del pH ematico, segno del sovraccarico del sistema di *buffering* ematico. Si deve tenere presente, però, che l'omeostasi acido-base, soprattutto a livello ematico, ha la precedenza sulla crescita, sulla lattazione e sulla riproduzione [19] e, quindi, difficilmente si avranno variazioni significative di questi parametri in corso di acidosi ruminale. L'acidosi metabolica si può comunque evidenziare con un'alterazione della quantità di HCO_3^- disciolto nel sangue, che decresce, essendo il

Finestra 3. Determinazione del pH ruminale

L'esame del liquido ruminale è lo strumento diagnostico essenziale per emettere una diagnosi di SARA in allevamento; il campione deve essere prelevato da un gruppo di animali statisticamente rappresentativo della mandria presente in azienda. Inoltre, l'esame deve essere effettuato al momento del picco di acidità, ovvero 4-8 ore dopo la distribuzione dell'unifeed.

La dimensione minima del campione da analizzare in un'azienda è pari a 12 bovini, indipendentemente dal numero totale di animali presenti [44]. Secondo Nordlund e Garrett, se oltre 2/3 degli animali campionati ha un pH > 5,8, l'allevamento è considerato indenne da SARA; per contro, se almeno 1/3 dei bovini presenta valori di pH compresi tra 5,5 e 5,8 l'allevamento è considerabile a rischio SARA, mentre se 1/3 degli animali mostra un pH < 5,5 l'allevamento è interessato da SARA [44]. In merito al prelievo del liquido ruminale esistono fondamentalmente due diverse metodiche di campo: l'utilizzo della sonda ruminale o la centesi a livello ruminale (ruminocentesi). A tal proposito, diversi autori [44, 29, 42, 25] sono concordi nel definire che la ruminocentesi rappresenta la tecnica di elezione per il prelievo del liquido ruminale, al fine di determinarne il pH in modo costante e preciso. La ruminocentesi, infatti, è stata definita come un efficiente e sicuro strumento diagnostico, in quanto consente di registrare valori corretti di pH. Tali valori tendono invece ad essere falsati in eccesso con l'uso della sonda esofagea, per il bicarbonato presente nella saliva deglutita dopo l'inserimento della sonda stessa [47].

Nonostante la ruminocentesi rappresenti un metodo invasivo, Nordlund e Garrett sostengono che l'incidenza di complicazioni è solo dell'1-2%, mentre per Kleen *et al.* è pari al 5,5% [44, 30]. Uno studio condotto da Ganesella *et al.*, in cui sono stati messi a confronto un gruppo di animali sottoposti a ruminocentesi e un gruppo controllo, ha evidenziato che le bovine sottoposte a ruminocentesi non manifestano alcun decremento della produzione di latte e/o aumento della temperatura rettale, così come non sono presenti variazioni dei profili emocromocitometrico e biochimico e delle proteine di fase acuta [25].

più importante *buffer* utilizzato per rialzare il pH ruminale ed ematico; anche i valori di pO_2 (pressione parziale di ossigeno), O_2Hb (emoglobina ossigenata) e O_2 calano in corso di acidosi metabolica, mentre pCO_2 (pressione parziale di CO_2 : aumenta per la riduzione dello ione bicarbonato circolante) e la RHb (emoglobina ridotta) aumentano [35]. Queste modificazioni della disponibilità di ossigeno a livello periferico inducono la caratteristica iperventilazione compensatoria. Secondo Danscher *et al.*, in presenza di SARA si associano cambiamenti del pH fecale e urinario e delle concentrazioni ematiche di calcio e pCO_2 . Questi cambiamenti risultano comunque essere minimi e non possono essere considerati predittivi di SARA se presi singolarmente [10].

► Lipopolisaccaride (LPS)

In corso di acidosi ruminale, lesioni a carico della mucosa del rumine permettono la traslocazione di un certo quantitativo di LPS attraverso la parete del rumine fino al circolo ematico. L'endotossinemia che ne consegue causa uno stato infiammatorio generalizzato [48]. L'LPS circolante nel sangue periferico, però, non aumenta significativamente e questo può dipendere da due fattori: inadeguatezza della sensibilità del sistema di rilevazione e velocità della *clearance* dell'LPS dal circolo ematico a opera della LBP (*LPS Binding Protein*, una proteina

Formazione a distanza

infiammatoria), che lo trasferisce alle cellule di Kupffer a livello epatico e alle lipoproteine [48].

► Risposta di fase acuta

In corso di acidosi ruminale, in qualsiasi forma essa si presenti, si determina uno stato infiammatorio a livello sistemico, sia per l'insulto diretto del pH sul rumine (e quindi per il danno a livello di mucosa) sia per le endotossine rilasciate in circolo. Questa condizione è rilevabile analizzando la produzione delle proteine di fase acuta (*Acute Phase Proteins*, APP). Queste proteine sono prodotte in risposta alla stimolazione infiammatoria esercitata da alcune citochine, in particolare IL-1, IL-6, TNF- α e IFN- γ (nell'ordine: Interleuchina 1, Interleuchina 6, *Tumor Necrosis Factor α* e *Interferon γ*), e sono distinguibili in APP positive e APP negative.

Le APP positive sono caratterizzate da un aumento rapido nella fase infiammatoria acuta e da una riduzione più lenta nella fase di guarigione, mentre quelle negative decrescono in risposta allo stato infiammatorio.

Le APP positive sono ulteriormente suddivisibili in maggiori, moderate e minori.

- **Maggiori:** aumentano di 100-1.000 volte, con un picco 24-48 ore dopo l'insorgenza dello stimolo;
- **moderate:** aumentano di 5-10 volte, con un picco entro 2-3 giorni;
- **minori:** aumentano gradualmente del 50-100% rispetto alla concentrazione normale.

In corso di acidosi ruminale, uno degli stimoli maggiori che riceve l'organismo avviene da parte dell'LPS, insieme ad altri prodotti microbici, quali etanolo, metanolo, istamina e tiramina [52]. Due APP, la sierioamiloide A (*Serum Amyloid A*, SAA) e la proteina legante l'LPS (LBP), sono direttamente coinvolte nella rimozione dell'endotossina dal circolo ematico: la SAA aumenta di circa 1.000 volte, lega i monomeri dell'endotossina e viene rimossa dai macrofagi epatici. Un'altra importante APP è l'aptoglobina (*Haptoglobin*, Hp), che lega l'emoglobina per evitare l'utilizzo del ferro in essa contenuto da parte dei batteri, che ne necessitano per moltiplicarsi. Uno studio del 2015 di Coombe *et al.*, condotto su bovine al pascolo e bovine alimentate con TMR (*Total Mixed Ration*), ha dimostrato che non vi sono significative differenze tra i valori di aptoglobina pur con diversi sistemi di alimentazione [8].

Bibliografia

1-Bailey J.L. Metabolic acidosis and protein catabolism: mechanisms and clinical implication. *Miner. Electrolyte Metab.*, 1998; vol. 24: pp. 13-19.

2-Bolton J.R., Pass D.A. The alimentary tract. *Clinicopathologic principles for veterinary medicine*. Robinson W.F. e Hustable C.R.R. Cambridge, Cambridge University Press. 1988; p: 99-120.

3-Brand A., Warner M. Monitoring reproductive performance execution. In: Brand A., Noordhuizen J.P.T.M., Schukken Y.H. (eds), *Herd health and production management in dairy practice*, 1996: pp. 293-312.

4-Calamari L., Soriani N., Panella G., Petrera F., Minuti A., Trevisi E. Rumination time around calving: An early signal to detect cows at greater risk of disease. *J. Dairy Sci.*, 2014; vol. 97: pp. 3635-3647.

5-Carter R.R., Grovum W.L. A review of the physiological significance of hypertonic body fluids on feed intake and ruminal function: salivation, motility and microbes. *J. Anim. Sci.*, 1990; vol. 68: pp. 2811-2832.

6-Chiquette J., Lagrost J., Girard C.L., Talbot G., Li S., Plaizier J.C., Hindrichsen I.K. Efficacy of the direct-fed microbial *Enterococcus faecium* alone or in combination with *Saccharomyces cerevisiae* or *Lactococcus lactis* during induced subacute ruminal acidosis. *J. Dairy Sci.*, 2015; vol. 98: pp. 190-203.

7-Cook N.B., Nordlund K.V., Oetzel G.R. Environmental influences on claw horn lesions associated with laminitis and subacute ruminal acidosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2004; vol. 87 (Suppl.): E36-E46.

8-Coombe J.E., Pyman M.F., Mansell P.D., Aldist M.J., Anderson G.A., Wales W.J., Conley M.J., Manos S., Hannah M., Fisher A.D. The effects on ruminal pH and serum haptoglobin after feeding a grain-based supplement to grazing dairy cows as a partial mixed ration or during milking. *Vet J.*, 2015; vol. 204, n. 1: pp. 105-109.

9-Danscher A.M., Toelboell T.H., Wattle O. Biomechanics and histology of bovine claw suspensory tissue in early acute laminitis. *J. Dairy Sci.*, 2010; vol. 93: pp. 53-62.

10-Danscher A.M., Li S., Andersen P.H., Khafipour E., Kristensen N.B., Plaizier J.C. Indicators of induced subacute ruminal acidosis (SARA) in Danish Holstein cows. *Acta Vet. Scand.*, 2015; vol. 57: pp. 39.

11-Eastridge M.L. Guidelines for low forage diets. In: *Proceedings of the Tri-state nutrition conference*, Fort Wayne, Indiana, US, 2000; pp. 97-110.

12-Emmanuel D.G.V., Madsen K.L., Churchill T.A., Dunn S.M., Ameta B.N. Acidosis and lipopolysaccharide from *Escherichia coli* B:055 cause hyperpermeability of rumen and colon tissues. *J. Dairy Sci.*, 2008; vol. 90: pp. 5552-5557.

13-Enemark J.M.D., Jørgensen R.S., Enemark P.S. Ruminal acidosis, with special emphasis on

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 3

- diagnostic aspects in subclinical rumen acidosis. A review. *Veterinary Zootechnie*, 2002; vol. 20: pp. 16-29.
- 14-Enemark J.M.D., Jørgensen R.J., Kristensen N.B. An evaluation of parameters for the detection of subclinical rumen acidosis in dairy herds. *Vet. Res. Comm.*, 2004; vol. 28: pp. 687-709.
- 15-Enemark J.M.D. The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): A review. *Vet J.*, 2008; vol. 176: pp. 32-34.
- 16-Fairfield A.M., Plaizier J.C., Duffield T.F., Lindinger M.I., Bagg R., Dick P., McBride B.W. Effects of a prepartum administration of a monensin controlled release capsule on rumen pH, feed intake, and milk production of transition dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2007; vol. 90: pp. 937-945.
- 17-Falk M., Münger A., Dohme-Meier F. Technical note: A comparison of reticular and ruminal pH monitored continuously with 2 measurement systems at different weeks of early lactation. *J. Dairy Sci.*, 2016; vol. 99: pp. 1951-1955.
- 18-Fantini A. Acidosi, linee guida per una diagnosi difficile. In: *Stalle da latte (Suppl). Informatore Agrario*, 1/7 giugno 2007; pp. 33-36.
- 19-Freeden A.H., DePeters E.J., Baldwin R.L. Characterization of acid-base disturbances and effects on calcium and phosphorus balances of dietary fixed ions in pregnant or lactating does. *J. Anim. Sci.*, 1988; vol. 68: pp. 159-173.
- 20-Fürll M., Schäfer M., Dabbagh M.N. Einfluß subakuter buttersäurebelastung auf die pansenfunktion bei rindern unterschiedlichen alters. *Mh. Vet. Med.*, 1993; vol. 48: pp. 189-195.
- 21-Gasteiner J., Guggenberger T., Häusler J., Steinwider A. Continuous and long-term measurement of reticularuminal pH in grazing dairy cows by an indwelling and wireless data transmitting unit. *Vet. Med. Int.*, 2012; 2012:236956.
- 22-Gao X., Oba M. Short communication: non-invasive indicators to identify lactating dairy cows with a greater risk of subacute rumen acidosis. *J Dairy Sci.*, 2015; vol. 98: pp. 5735-5739.
- 23-Garry F.B. Indigestion in ruminants. In: Smith B.P. (ed.), *Large animal internal medicine*, 3rd ed., 2002; pp. 722-747.
- 24-Gianesella M., Cannizzo C., Gatto M., Barberio A., Badan M., Morgante M. Seasonal monitoring of ruminal pH in dairy herds. *Book of proceedings 14th international conference on production diseases in farm animals (ICPD)*, 20-24 June 2010; pp. 47-48.
- 25-Gianesella M., Morgante M., Stelletta C., Ravarotto L., Giudice E., Van Saun R.J. Evaluating the effects of rumenocentesis on health and performance in dairy cows. *Act. Vet. Brno*, 2010; vol. 79: pp. 459-468.
- 26-Gozho G.N., Krause D.O., Plaizier J.C. Rumen lipopolysaccharide and inflammation during grain adaptation and subacute ruminal acidosis in steers. *J. Dairy Sci.*, 2006; vol. 89: pp. 4404-4413.
- 27-Gozho G.N., Krause D.O., Plaizier J.C. Rumen lipopolysaccharide concentration and inflammatory response during grain-induced subacute ruminal acidosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2007; vol. 90: pp. 856-866.
- 28-Kimura A., Sato S., Kato T., Ikuta K., Yamagashi N., Okada K., Mizuguchi H., Ito K. Relationship between pH and temperature in the ruminal fluid of cows, based on a radio-transmission pH-measurement system. *J. Vet. Med. Sci.*, 2012; vol. 74: pp. 1023-1028.
- 29-Kleen J.L., Hooijer G.A., Rehage J., Noordhuizen J.P. Subacute ruminal acidosis (SARA): a review. *J. Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 2003; vol. 50: pp. 406-414.
- 30-Kleen J.L., Hooijer G.A., Rehage J., Noordhuizen J.P. Rumenocentesis (rumen puncture): a viable instrument in herd health diagnosis. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 2004; vol. 111: pp. 458-462.
- 31-Krause K.M., Combs D.K., Beauchemin K.A. Effect of forage particle size and grain fermentability in midlactation cows. 1. Milk production and diet digestibility. *J. Dairy Sci.*, 2002; vol. 85: pp. 1936-1946.
- 32-Krause K.M., Combs D.K., Beauchemin K.A. Effect of forage particle size and grain fermentability in midlactation cows. Ruminal pH and chewing activity. *J. Dairy Sci.*, 2002; vol. 85: pp. 1947-1957.
- 33-Krehbiel C.R., Britton R.A., Harmon D.L., Wester T., Stock R.A. The effect of ruminal acidosis on volatile fatty acid absorption and plasma activities of pancreatic enzymes in lambs. *J. Anim. Sci.*, 1995; vol. 73: pp. 3111-3121.
- 34-Kuncharapu V., Sundar N.S. Dose-response of rumen and plasma glucose and lactate to intraruminally administered wheat flour in sheep. *Proceedings, Western section, American Society of Animal Science*, 2000.
- 35-Jones M.B. Basic interpretation of metabolic acidosis. *Crit. Care Nurse*, 2010; vol. 30: pp. 63-69.
- 36-Lean I. *Nutrition of dairy cattle*. Sydney, The University of Sydney post-graduate foundation in veterinary science, 1987.
- 37-Lischer C.J., Ossent P., Raber M., Geyer H. Suspensory structures and supporting tissues of the third phalanx of cows and their relevance to the development of typical sole ulcers (Rusterholz ulcers). *Vet. Rec.*, 2002; vol. 151: pp. 694-698.
- 38-Malekkhahi M., Tahmasbi A.M., Naserian A.A., Danesh-Mesgaran M., Kleen J.L., AlZahal O., Ghaffari O.M. Effects of supplementation of active dried yeast and malate during sub-acute ruminal acidosis on rumen fermentation,

Formazione a distanza

- microbial population, selected blood metabolites, and milk production in dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2016; vol. 213: pp. 29-43.
- 39-Marchesini G., De Nardi R., Ganesella M., Stefani A., Morgante M., Barberio A., Andrighetto I., Segato S. Effect of induced ruminal acidosis on blood variables in heifers. *BMC Vet. Res.*, 2013; vol. 9: pp. 98-106.
- 40-Mendoza G., Britton R. Ruminal protozoa and urea level affect starch digestion in vitro. *Cattle Feeders Day*, 1991; pp. 64-67.
- 41-Mirmazhari-Anwar V., Sharifi K., Mirshahi A., Mohri M., Grünberg W. Transabdominal ultrasonography of the ruminal mucosa as a tool to diagnose subacute ruminal acidosis in adult dairy bulls: a pilot study. *Vet. Q.* 2013; vol. 33, n. 3: pp.139-147.
- 42-Morgante M., Stelletta C., Berzaghi P., Ganesella M., Andrighetto I. Subacute rumen acidosis in lactating cows: an investigation in intensive Italian dairy herds. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 2007; vol. 91: pp. 226-234.
- 43-Nocek J.E. Bovine acidosis: implications on laminitis. *J. Dairy Sci.*, 1997; vol. 80: pp. 1005-1028.
- 44-Nordlund K.V., Garrett E.F. Rumenocentesis. A technique for collecting rumen fluid for the diagnosis of subacute rumen acidosis in dairy herds. *The Bovine Prac.*, 1994; vol. 28: pp. 109-112.
- 45-Nordlund K.V., Garrett E.F., Oetzel G.R. Herd-based rumenocentesis: a clinical approach to the diagnosis of subacute rumen acidosis. Compendium for continuing education for the practicing veterinarian. *Food Animals*, 1995; vol. 17: s48-s56.
- 46-Nordlund K.V. Herd based diagnosis of subacute ruminal acidosis. Preconvention seminar 8: Dairy herd problem investigations, American association of bovine practitioners 34th annual convention, September 11-12-200, Vancouver, BC.
- 47-Nordlund K.V. Herd-based diagnosis of subacute ruminal acidosis. In: Proceedings of the 36th annual conference of American association of bovine practitioners, Columbus, OH, 2003; pp. 1-6.
- 48-Plaizier J.C., Khafipour E., Li S., Gozho G.N., Krause D.O. Subacute ruminal acidosis (SARA), endotoxins and health consequences. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2012; vol. 172: pp. 9-21.
- 49-Oetzel G.R. Clinical aspects of ruminal acidosis in dairy cattle. Proceedings of the 33rd Annual convention of the American association of bovine practitioner, Rapid City, 2000; pp. 46-53.
- 50-Oetzel G.R. Investigation of nutrition-health problems on dairy farms. Ontario association of bovine practitioners and Ontario agribusiness association spring seminar: "Stuff to chew on", 2001.
- 51-Oetzel G.R., Emery K.M., Krautz W.P., Nocek J.E. Direct-fed microbial supplementation and health and performance of pre- and postpartum dairy cattle: a field trial. *J. Dairy Sci.*, 2007; vol. 90: pp. 2058-2068.
- 52-Owens F.N., Secrist D.S., Hill W.J., Gill D.R. Acidosis in cattle. A review. *J. Anim. Sci.*, 1998; vol. 76: pp. 275-286.
- 53-Rochet B., Mazzia M. Managing heat stress in dairy cows. *Intern. Dairy Topics*, 2008; vol. 7: pp. 11-13.
- 54-Sato S., Mizuguchi H., Ito K., Ikuta K., Kimura A., Okada K. Technical note: development and testing of a radio transmission pH measurement system for continuous monitoring of ruminal pH in cows. *Prev. Vet. Med.*, 2012; vol. 103: pp. 274-279.
- 55-Sheikh I., Adarsh K., Tyagi S.P., Amit K., Shivali S. Ultrasonographic examination of the rumen in healthy cows. *Vet. Med. Int.*, 2011; 2011: 840629.
- 56-Steele M.A., Schiestel C., AlZahal O., Dionisopoulos L., Laarman A.H., Matthews J.C., McBride B.W. The periparturient period is associated with structural and transcriptomic adaptations of rumen papillae in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 2015; vol. 98: pp. 2583-2595.
- 57-Twehues J., Amaral P.D.M. Subacute acidosis. University of Kentucky, 1996; <http://www.edu/Agriculture/AnimalScience/dairy/Extension/nut00034.pdf>
- 58-Van Winden S.C.L., Jorritsma R., Müller K.E., Noordhuizen J.P.T.M. Feed intake, milk yield, and metabolic parameters prior to left displaced abomasum in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2003; vol. 86: pp. 1465-1471.
- 59-Waldo D.R. Extent and partition of cereal grain starch digestion in ruminants. *J. Anim. Sci.*, 1973; vol. 37: pp. 1062-1074.

PATOLOGIE DELLA VACCA DA LATTE

Chetosi metabolica

Alessandro Fantini

Dairy Production Medicine Specialist, Anguillara Sabazia (RM)

RIASSUNTO

La chetosi, a decorso sia clinico sia subclinico, è la malattia metabolica a più alta prevalenza nella vacca da latte, poiché intimamente legata al bilancio energetico e proteico negativo di fine gravidanza e inizio lattazione. Tale condizione può definirsi parafisiologica, in quanto inevitabile, ma modulabile attraverso la gestione e la nutrizione. La chetosi, soprattutto nella sua forma subclinica, è difficilmente diagnosticabile e, quindi, richiede l'adozione di routine della diagnostica strumentale sia da latte sia dal sangue per la quantificazione del BHBA. Una diagnosi precoce della chetosi subclinica permette di adottare terapie semplici e a basso costo. Il monitoraggio costante dell'entità dell'ampiezza del bilancio energetico e proteico negativo attraverso la valutazione del BCS o dei molti *biomarkers* oggi disponibili consente anche di mettere in atto tutte le azioni preventive necessarie.

Parole chiave: chetosi, chetosi subclinica, bilancio energetico, bilancio proteico, diagnosi, BCS, *biomarkers*.

SUMMARY

Metabolic ketosis

Ketosis, both clinical and subclinical, is a metabolic disease with the highest prevalence in dairy cows, as it is intimately linked to negative energy and protein balance at the end of pregnancy and early lactation. This condition can be defined as parafysiological, because it is inevitable, but modulated through management and nutrition. Ketosis, especially in its subclinical form, is difficult to diagnose and, therefore, it requires an instrumental routine diagnosis, both from milk and blood, in order to quantify BHBA. Early detection of subclinical ketosis means adopting simple, low-cost therapies. The constant monitoring of the magnitude of energy and protein negative balance through the evaluation of the BCS or of the several biomarkers available, also allows to put in place the necessary preventive actions.

Keywords: ketosis, subclinical ketosis, energy balance, protein balance, diagnosis, BCS, *biomarkers*.

Produrre latte è un'attività metabolica piuttosto intensa. Basti pensare che i fabbisogni energetici di una bovina al picco produttivo raggiungono e mantengono, per diverso tempo, quattro volte i fabbisogni di mantenimento, livello difficilmente raggiungibile da atleti che esercitano discipline sportive estreme, come la maratona. L'enorme necessità di glucosio per produrre il latte è supportata in gran parte dalla gluconeogenesi epatica e meno dall'assorbimento intestinale di glucosio, come avviene nei monogastrici. Alterazioni del delicato meccanismo biochimico della produzione di energia comportano un'eccessiva produzione epatica di corpi chetonici, responsabili della sintomatologia della chetosi.

Come la bovina da latte produce energia

Per non ingenerare confusioni, è bene precisare cosa si intende per energia. Quando si realizza una dieta per bovine da latte in lattazione, soprattutto nella prima fase, si cerca di combinare gli alimenti disponibili per raggiungere la massima concentrazione energetica della razione, compatibilmente con la necessità di garantire un adeguato apporto di proteine, di minerali e di quella fibra che garantisce, per la sua ruminalità, un pH ruminale stabilmente al di sopra del 5,8. Quest'ultima condizione è propedeutica per evitare i rischi dell'acidosi ruminale e, quindi, per salvaguardare la capacità di ingestione della bovina e la sua salute. Per energia della razione si intende quella "netta", ossia l'energia disponibile, innanzitutto, per la crescita della biomassa ruminale e, in secondo luogo, derivante dalla quota di alimenti energetici, come gli amidi e i grassi assorbiti a livello intestinale. Molti sono stati i sistemi di stima della concentrazione energetica degli alimenti e, quindi, delle diete. Si è passati dalle unità foraggiere latte al TDN (*Total Digestible Nutrients*), per arrivare ad oggi, con l'adozione universale dell'ENL (*Energia Netta Latte*). La serie di equazioni che portano ad esprimere questo valore tengono conto essenzialmente, in negativo, della concentrazione di fibra parzialmente digeribile, come l'ADF (*Acid Detergent*

Fibre) e, in positivo, della quota di grassi e carboidrati non strutturali, come gli amidi, e le proteine. Quella che invece è l'energia biochimica, ossia la quantità di ATP prodotta dalle cellule a partire da molecole energetiche, alle conoscenze attuali, è impossibile da stimare. Pertanto, tra l'energia di una dieta e l'energia biochimica prodotta dalle cellule esiste sicuramente una correlazione positiva, ma che con l'evoluzione genetica della capacità produttiva delle bovine è sempre meno predittiva. È nell'esperienza empirica dei nutrizionisti osservare che diete apparentemente a media concentrazione energetica danno risultati fenotipici, come lo *status* delle riserve corporee di grasso e la produzione di latte, migliori rispetto a diete ad altissima concentrazione di energia netta latte.

Con il livello genetico ormai raggiunto dalla maggior parte delle bovine presenti in allevamento, seguire "alla lettera" la concentrazione energetica della razione può essere fuorviante nel momento in cui si cerca di fornire alla bovina la massima quantità di precursori per la sintesi di ATP. La comprensione esatta dei meccanismi biochimici che presidono la produzione di energia chimica fornisce gli strumenti pratici per incrementare al massimo la sua produzione, attraverso una più accurata manipolazione della dieta. Nella bovina da latte, l'aumento *tout court* degli amidi e dei grassi della razione per aumentare la concentrazione energetica ha spesso effetti collaterali negativi nettamente superiori ai benefici che si intendevano apportare. Le molecole che vengono coinvolte nella sintesi dell'ATP e, quindi, nella produzione di energia, sono molte. La più importante è sicuramente il glucosio; una sua molecola produce ben 38 molecole di ATP. Non meno importanti sono gli acidi grassi e alcuni aminoacidi. La β -ossidazione degli acidi grassi e la glicolisi del glucosio forniscono al ciclo di Krebs l'acetil-CoA, ossia il substrato primario per la produzione di energia. L'acetil-CoA tornerà a breve, nella parte dedicata alla sintesi epatica dei corpi chetonici.

La bovina in piena lattazione e non solo non ha un "buon rapporto" con il glucosio, in quanto cronicamente carente, a causa dell'*uptake* mam-

Formazione a distanza

mario per la sintesi del lattosio. Si è visto come il glucosio sia il substrato principale per la sintesi dell'energia chimica. Nei ruminanti esso deriva principalmente da due fonti.

La prima e più importante è la gluconeogenesi epatica, a partire da precursori essenzialmente di derivazione ruminale. L'acido propionico prodotto nel rumine dalla fermentazione degli amidi può contribuire fino al 75% alla gluconeogenesi e, comunque, in quota variabile in funzione della distanza dal parto. Gli aminoacidi glucogenetici possono contribuire in misura variabile dal 10 al 30%, anch'essi in funzione della distanza dal parto. L'utilizzo maggiore è progressivo, fino al picco di lattazione.

Gli aminoacidi glucogenetici appartengono sia al gruppo di quelli essenziali, come la metionina, il triptofano, la treonina e la valina, sia a quelli non essenziali, come la glicina, l'acido glutammico, la prolina, la serina, l'acido aspartico, l'idrossiprolina, la cistina, l'alanina e l'istidina. In ogni caso, il più importante è l'alanina. Da 100 g di aminoacidi glucogenetici, l'organismo può ricavare 58 g di glucosio. Due sono le fonti di approvvigionamento di queste molecole. La prima e più importante è la proteina metabolizzabile, ossia il mix tra proteina microbica ruminale e proteina non degradata dal rumine, che giunge all'intestino e può ad esso fornire aminoacidi.

Altra fonte è quella delle proteine labili, ossia quegli aminoacidi utilizzabili e presenti essenzialmente nel tessuto muscolare. Secondo Komaragiri ed Erdman, la bovina metabolizza dal tessuto muscolare, da 2 settimane prima del parto a 5 settimane dopo, ben 21 kg di proteine muscolari. Le proteine labili rappresentano circa il 20% dell'azoto di una bovina e definisce la quantità totale di azoto che può essere rimosso e accumulato in base alle necessità. Questa importante riserva di aminoacidi glucogenetici si ricostruisce, in genere, durante l'asciutta, se la razione fornisce questa possibilità. Gli aminoacidi più importanti sono l'alanina e la glutamina. Esiste la possibilità di quantificare la perdita di tessuto muscolare e, quindi, di aminoacidi attraverso la misurazione ecografica del muscolo *longissimus dorsi* o il dosaggio ematico della 3-metil istidina.

Di pari importanza per la sintesi del glucosio è il lattato, che può contribuire a questa funzione per una quota media del 15%. Esso può essere anche di derivazione ruminale, ma è essenzialmente muscolare (ciclo di Cori).

Infine, anche il glicerolo liberato durante la lipolisi dagli acidi grassi può contribuire per una quota inferiore al 10% alla sintesi epatica di glucosio. Nei monogastrici, la quota di glucosio assorbita direttamente dall'intestino in seguito

all'attività delle amilasi pancreatiche rappresenta la via più importante di approvvigionamento di glucosio. Nella bovina da latte, si mette a disposizione attraverso la dieta una quota di amido resistente alle degradazioni ruminali per questa funzione, anche se la capacità intestinale è piuttosto limitata.

Altro substrato importante utilizzato nel ciclo di Krebs sono gli aminoacidi, che possono intervenire a vari livelli.

Più finalizzato a comprendere l'eziologia della chetosi è capire bene il ruolo che hanno gli acidi grassi nella produzione di energia chimica nella bovina. Nelle bovina dopo il parto, ma può succedere anche prima, la domanda di energia cresce oltre la capacità della stessa di produrla. Il ricorso agli aminoacidi e al glucosio ha limiti fisiologici insuperabili. Il primo è legato alla capacità di ingestione, che limita la possibilità alla bovina di procurarsi dal cibo tutti i nutrienti necessari, e la seconda è che la mammella compete con il ciclo di Krebs per l'utilizzazione del glucosio, avendo una priorità metabolica assoluta, visto che le cellule dell'epitelio alveolare mammario sono prive di recettori dell'insulina.

È noto che la sintesi di lattosio dipende per il 70% dal glucosio ematico. In queste condizioni, l'abbassamento della glicemia stimola la secrezione di glucagone, corticosteroidi e catecolamine, che inducono il rilascio di lipidi dal tessuto adiposo. L'insulina, che è l'ormone più legato alla glicemia, è in grado non di stimolare la lipolisi conseguentemente al calo della glicemia, ma di limitarla quando si ripristina di nuovo il suo livello ematico fisiologico. Durante la lipolisi, non vengono rilasciati dal tessuto adiposo i trigliceridi, ma i loro singoli componenti, come il glicerolo e gli acidi grassi non esterificati (*Non-Esterified Fatty acid*, NEFA). Anche per queste due molecole esiste la competizione con la mammella, poiché una loro quota rilevante viene da essa captata per la sintesi del grasso del latte, unitamente ai butirradi di derivazione ruminale e agli acidi grassi presenti nella dieta e assorbiti dall'intestino. In ogni caso, i NEFA provenienti dal tessuto adiposo e, in quota minoritaria, quelli assorbiti dall'intestino arrivano al fegato per essere utilizzati per la sintesi dell'energia chimica.

Nel periparto, si assiste a una fisiologica riduzione della secrezione di insulina rispetto alla glicemia, tanto da poter assimilare questo *status* a un forma parafisiologica di diabete tipo 1. Contestualmente, i tessuti grandi consumatori di glucosio diventano resistenti all'insulina (diabete tipo 2), proprio per aumentare la disponibilità di glucosio per la sintesi di lattosio e, quindi, di latte.

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 4

Il fegato della bovina da latte è in grado di rimuovere il 15-20% dei NEFA circolanti. Una volta penetrati nel citoplasma della cellula epatica, i NEFA possono seguire due vie metaboliche, anche contemporaneamente, e ciò dipende dall'equilibrio che si instaura tra due importanti enzimi: la carnitina palmitoil-transferasi 1 (*Carnitine palmitoyltransferase 1*, CPT-1) e la glicerolo-3-fosfato aciltransferasi (*mitochondrial Glycerol-3-Phosphate Acyltransferase*, mGPAT). Per entrambi questi enzimi è stata dimostrata una maggiore attività durante il parto.

Di importante ricaduta pratica è l'osservazione sperimentale che la sovranutrizione in asciutta riduce l'attività di questi due enzimi. In ogni caso, i NEFA, una volta captati dalla cellula epatica, possono essere esterificati nuovamente con il glicerolo in trigliceridi (*Triacylglycerol*, TAG) ad opera dell'mGPAT e accumularsi nella cellula epatica. Se la capacità di esportazione del fegato di questi TAG come VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*) è inferiore alla loro sintesi *ex novo*, i TAG si accumulano patologicamente nel fegato, causando una lipidosi epatica (*fatty liver*).

Un'altra parte degli acidi grassi viene trasformata in NEFA acil-CoA e, per azione dell'enzima CPT-1, possono entrare nel mitocondrio e seguire la via della β -ossidazione, in modo da poter essere utilizzati nel circolo di Krebs per la produzione di ATP e, quindi, di energia chimica. Il processo di β -ossidazione degli acidi grassi prevede la trasformazione del NEFA acil-CoA in acetil-CoA, che rappresenta la molecola dalla quale inizia il ciclo di Krebs.

L'acetil-CoA proviene non solo dalla β -ossidazione degli acidi grassi ma anche dalla glicolisi, attraverso la formazione del piruvato, e dal catabolismo degli aminoacidi. L'acetil-CoA, condensandosi con l'ossalacetato, genera il citrato e il ciclo di Krebs può considerarsi avviato.

L'ossalacetato, a sua volta, deriva sia dall'L-malato sia da alcuni aminoacidi, quali acido aspartico e asparagina.

Tuttavia, quando la quantità di molecole di acetil-CoA è eccessiva o quando vi è una minore disponibilità di ossalacetato, due molecole di acetil-CoA si combinano tra di loro, con la conseguente sintesi del primo corpo chetonico, l'acetoacetato (AcAc). L'AcAc viene spontaneamente convertito in acetone e CO₂ oppure metabolizzato come β -idrossibutirrato (*b-Hydroxybutyrate* - BHB - o *b-Hydroxybutyric Acid* - BHBA). L'acetone è in buona parte espulso con l'urina ed è responsabile dell'odore fruttato dell'alito delle bovine in chetosi. Il BHBA e l'AcAc vengono utilizzati dal cuore e dal tessuto muscolare come fonte energetica.

Pertanto, l'accumulo patologico nel sangue di corpi chetonici può essere causato o da un'eccessiva presenza nel fegato di acetil-CoA, derivante da un grande afflusso di NEFA al fegato per il dimagrimento, o dalla carenza di intermedi del ciclo di Krebs, sottratti per la gluconeogenesi o per carenze dirette di ossalacetato.

Nella bovina da latte, una parte del BHBA ematico può originare dall'acido butirrico, derivante dalle fermentazioni ruminali. Di fondamentale importanza è ricordare che, durante il diabete (sia tipo 1 sia tipo 2) e per le ragioni prima esposte, aumenta la produzione epatica di corpi chetonici. Ed è già stato sottolineato che la bovina molto selezionata per la produzione di latte e grasso presenta un "assetto metabolico" riconducibile alle due forme di diabete nel parto e nelle prime settimane di lattazione.

Definizione di chetosi

Da quanto esposto, la chetosi metabolica è un quadro clinico o subclinico derivante da un accumulo eccessivo di corpi chetonici nel sangue oltre i limiti fisiologici e, quindi, è conseguenza di un bilancio energetico e proteico negativo. Nel definire la chetosi si fa maggiormente riferimento al BHBA, poiché è il corpo chetonico più stabile, sintetizzato a partire dall'AcAc e non volatile come l'acetone.

La forma subclinica si instaura quando si verifica un aumento della circolazione del BHBA superiore a 1,2 mmol/l o 1.200 μ mol/l o 12,4 mg/dl, senza che la bovina evidenzii una sintomatologia apparente [16]. Per convertire le mmol/l in mg/dl bisogna moltiplicare il valore per 10,3. La forma clinica, invece, esibisce una sintomatologia specifica e si osserva quando la concentrazione ematica di BHBA è $\geq 3,0$ mmol/l [14].

Incidenza e prevalenza

La chetosi può decorrere in forma sia clinica sia subclinica e può potenzialmente colpire le bovine ogni qual volta si verifichi un bilancio energetico negativo; ciò può avvenire nel corso di tutte le patologie che comportano una riduzione dell'ingestione.

La forma subclinica (*Subclinical Ketosis*, SCK), rispetto a quella clinica (*Clinical Ketosis*, CK), ha sicuramente una prevalenza e un'incidenza più elevata, laddove per incidenza si intende la misurazione di quante volte un soggetto presenta una determinata patologia in un determinato periodo.

Nel caso della SCK, per misurare l'incidenza si effettuano misurazioni settimanali del livello di BHBA. Se si considera che la soglia di 1,2-2,9

Formazione a distanza

mmol/l è quella che identifica una SCK e che la risoluzione avviene in circa 5 giorni, l'incidenza può essere piuttosto elevata. In uno studio presentato da Oetzel nel 2012, si osserva un picco di incidenza di oltre il 20% al 5° giorno dopo il parto, che scende poi progressivamente sotto il 5% al 10° giorno [15]. Secondo Duffield, l'incidenza della SCK è del 40-60% [5].

Per prevalenza si intende l'individuazione di bovine con un livello di BHBA compreso tra 1,2-2,9 mmol/l in un determinato periodo, senza la necessità di misurare di nuovo il valore. McArt, nel 2012, riporta un picco di prevalenza del 28,9% al 5° dopo il parto (figura 1) [12].

Ereditabilità della chetosi

L'ereditabilità della chetosi è pari a 0,14-0,29 e, quindi, moderatamente elevata. In uno studio canadese, è stato osservato che le bovine con una minore concentrazione di BHBA a inizio lattazione hanno una maggiore longevità funzionale. Per contro, il potenziale genetico è positivamente correlato al BHBA. A primo controllo funzionale, esiste una correlazione tra BHBA e:

- rapporto grasso/proteine del latte = 0,49;
- BCS = 0,35;
- chetosi clinica = 0,48;
- dislocazione = quasi 0.

Queste informazioni danno la possibilità di valutare l'inserimento del BHBA in selezione, sia per ridurre l'incidenza della chetosi negli allevamenti sia per intervenire geneticamente sul bilancio energetico negativo di inizio lattazione (tabelle 1 e 2) [10].

Chetosi clinica e subclinica: impatto sulle *performances* produttive, riproduttive e sanitarie

La chetosi clinica è una patologia evidente e facilmente diagnosticabile. Per questa ragione crea relativamente pochi problemi in allevamento. Diverso è il discorso per la SCK che, decorrendo appunto in forma subclinica, viene diagnosticata solo se si dosano nel sangue, nel latte e nelle urine i corpi chetonici e, in particolare, il BHBA. Il numero di allevamenti che ricercano e dosano il BHBA durante il puerperio è in crescita, anche se allo stato attuale non sappiamo esattamente quanti allevamenti e su quanti animali viene attuata questa pratica diagnostica. Si presuppone pertanto che molte bovine con SCK rimangano non diagnosticate; e questo ha un potenziale impatto negativo sulle *performances* produttive, riproduttive e sanitarie delle bovine da latte. La SCK prontamente diagnosticata e altrettanto rapidamente curata crea pochi problemi alle bovine e, quindi, all'allevamento.

1. Produzione di latte

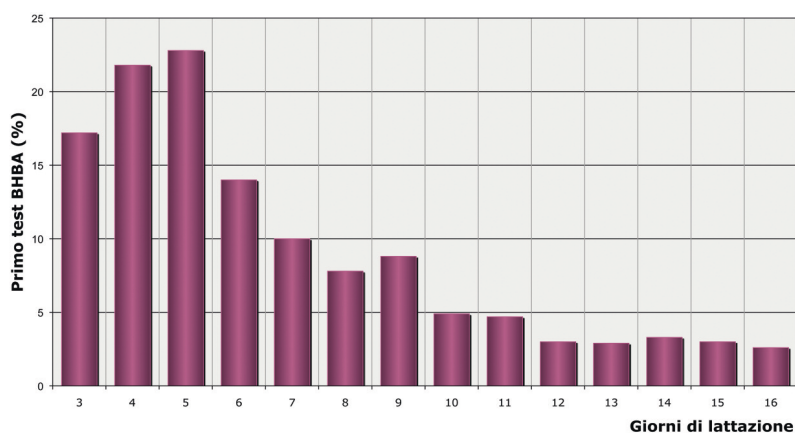
Molti autori hanno pubblicato ricerche sulle perdite produttive di latte in bovine a cui viene diagnosticata la SCK. Secondo Dohoo e Martin le bovine con SCK perdono da 1 a 1,4 kg di latte per tutta la lattazione [3]. Per Duffield, una concentrazione ematica di BHBA $\geq 1,4$ mmol/l durante la prima settimana di lattazione comporta una perdita di 1,8 kg (-5,5%) di latte al primo controllo DHIA (*Dairy Herd Improvement Association*) [2]. In un recente studio [13], le bovine con SCK producono 1,2 kg in meno (-3,4%) nei primi 30 giorni rispetto alle bovine sane. La gravità della perdita di latte è associata con il livello di BHBA alla prima diagnosi di SCK. Per ogni 0,1 mmol/l oltre 1,2 mmol/l si perdono 500 g di latte nei primi 30 giorni di lattazione.

Buona parte del latte perso per SCK dipende dal momento di insorgenza della patologia. Bovine positive al test a 3-7 giorni di lattazione producono 2 kg di latte in meno nei primi 30 giorni dopo il parto rispetto a quelle riconosciute positive a 8-16 giorni (tabella 3) [13].

2. Qualità del latte

La chetosi, anche nella forma subclinica, al-

Figura 1. Istogramma di prevalenza della SCK in 1.717 bovine di razza Frisona. Primo test positivo per il BHBA ripetuto dal 3° al 16° giorno di lattazione. L'incidenza della SCK è risultata pari a 2,2-2,4 x la prevalenza. Modificato da [12].



Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 4

tera significativamente la qualità del latte. In genere, si riscontra un aumento della percentuale di grasso dovuto a una maggiore disponibilità per la mammella di BHBA e acidi grassi per la sintesi del grasso del latte. Questo fenomeno è più marcato nei primi 30 giorni di lattazione e, quindi, rilevabile al primo controllo funzionale. Di converso, a causa della minore disponibilità di glucosio alla mammella, si osserva una riduzione della percentuale di proteina del latte. Tale alterazione del latte si può persistentemente riscontrare durante i primi 3 controlli funzionali e, quindi, nei primi 90 giorni circa di lattazione.

3. Fertilità

L'associazione SCK e subfertilità non è così evidente, in quanto entrambe le patologie sono conseguenze del bilancio energetico e proteico negativo. In ogni caso, esiste una correlazione positiva tra bilancio energetico negativo e intervallo tra parto e prima ovulazione [1].

Bovine con una ritardata ripresa dell'attività ovarica dopo il parto hanno un tasso di concepimento più basso alla prima inseminazione. Si è comunque osservata una riduzione del tasso di concepimento al primo intervento fecondativo con SCK diagnosticata nella seconda settimana dopo il parto. La probabilità di gravidanza si riduce del 20% nelle bovine diagnosticate in SCK nella prima e nella seconda settimana dopo il parto [21]. Bovine con SCK nella prima e seconda settimana dopo il parto hanno il 50% in meno di probabilità di rimanere gravide alla prima inseminazione [21].

4. Salute

La SCK aumenta nelle bovine il rischio di contrarre altre patologie. Il rischio di avere una dislocazione dell'abomaso aumenta da 3 fino a 8 volte nelle bovine con chetosi, già a partire da 1,2 mmol/l di BHBA [4]. Relativamente alla ritenzione di placenta il rischio aumenta di 2 volte [11]. Per il rischio di metrite, Duffield [4] riporta che un livello di 1,2 mmol/l nella prima settimana dopo il parto aumenta il rischio di questa patologia di 3,4 volte, probabilmente per un'interferenza con il funzionamento del sistema immunitario, soprattutto cellulomediato. Per la stessa ragione, esiste una profonda correlazione tra chetosi e mastite. È noto che i meccanismi difensivi della mammella operano a tre livelli. Il primo è il tentativo di eliminazione del patogeno, essenzialmente da parte dei macrofagi. Il secondo è il ri-

Tabella 1. Dati statistici ed ereditabilità del BHBA nel latte

	Giorni di lattazione	Registrazione n°	Media	Deviazione standard	h ²
BHBA1	5-20	20.845	0,016	0,071	0,14 (0,02)
BHBA2	21-40	26.871	0,087	0,066	0,14 (0,01)
BHBA3	41-60	27.404	0,072	0,048	0,17 (0,02)
BHBA4	61-80	27.233	0,065	0,040	0,22 (0,02)
BHBA5	81-100	26.881	0,064	0,037	0,29 (0,02)

h²: ereditabilità.

1 La serie di dati 1 è formata dalle osservazioni di una singola giornata (129.164) per il BHBA in 61.331 vacche alla prima lattazione. I dati sono stati ottenuti da Valacta (Sainte-Anne-de-Bellevue, QC, Canada). Modificato da [10].

Tabella 2. Ereditabilità e correlazioni genetiche del BHBA

	BHBA	Grasso/proteine latte	BCS	Chetosi	Dislocazione abomasale
BHBA	0,12 (0,02)	0,49 (0,12)	-0,35 (0,14)	0,48(0,35)	0,07 (0,21)
Grasso/proteine latte	0,52	0,12 (0,02)	-0,32 (0,14)	0,56 (0,32)	0,25 (0,20)
BCS	-0,13	-0,11	0,23 (0,04)	-0,29	-0,39
Chetosi	0,15	0,14	-0,05	0,02 (0,02)	0,86 (0,52)
Dislocazione abomasale	0,03	0,07	-0,04	0,19	0,04

Modificato da [10].

Tabella 3. Performances produttive e riproduttive in bovine con SCK

Perdita di latte a 305 giorni	251 ± 73 kg
Intervallo parto-primo servizio	+8 giorni
Intervallo parto-concepimento	+16-22 giorni

Modificato da [18].

lascio di sostanze infiammatorie chemioattraenti e il terzo è la migrazione, dal sangue nella mammella, dei polimorfo nucleati, anche detti neutrofili.

In caso di chetosi, vengono ridotte alcune funzioni importanti del sistema immunitario cellulomediato, come la capacità fagocitaria e battericida dei macrofagi e dei neutrofili, la produzione di citochine proinfiammatorie e la chemiotassi. È stata anche osservata una riduzione dei leucociti ematici [20].

Formazione a distanza

Tabella 4. Il BHBA come fattore di rischio

BHBA		Evento	Rischio	Autore
mmol/l	mg/dl			
1.200	12	Dislocazione abomaso	8 volte	LeBlanc
1.400	14	Dislocazione abomaso	3 volte	Gieshauser
1.200	12	Dislocazione abomaso/chetosi	3 volte	Duffield
1.000	10	Dislocazione abomaso/chetosi/metrite	2 volte	Ospina
1.000	10	Tasso concepimento al primo intervento	↓27%	Walsh
1.400	14	Tasso concepimento al primo intervento nel sangue alla seconda settimana dal parto	↓40%	Whitaker
1.000	10	Rischio gravidanza	↓13%	Ospina
1.400	14	Eliminazione	2 volte	Duffield
1.400	14	Perdita di latte	1,9 kg	Duffield
1.000	10	Perdita di latte	1,3 kg	Ospina

Tabella 5. Rischio associato a determinate patologie in caso di SCK (BHBA > 1,4 mmol/l)

Patologia	Rischio	IC 95%
Dislocazione abomaso	3,3	2,60-4,25
Chetosi clinica	5,4	3,27-8,83
Riforma precoce (60 gg)	1,9	1,60-2,30
Morte	1,75	1,54-2,01
Metrite puerperale	1,52	1,20-1,93
Ritenzione placentare	1,61	1,24-2,09
Mastite clinica	2,01	1,64-2,44
Zoppia	2,0	1,6-2,5
Endometrite subclinica	1,4	1,1-2,0
Raddoppio SCC	1,4	1,3-1,6

IC: intervallo di confidenza. Modificato da [18].

5. Longevità produttiva

In alcuni studi, viene riportato che le bovine con SCK hanno un rischio 3 volte maggiore di uscire dall'allevamento nei primi 30 giorni di lattazione rispetto alle bovine non in chetosi. Per ogni 0,1 mmol/l di aumento di BHBA rispetto a 1,2 mmol/l il rischio di rimonta aumenta di 1,4 volte. Quindi, ad esempio, se il valore di BHBA è pari a 2,4 mmol/l, il rischio di eliminazione nei primi 30 giorni di lattazione aumenta di 56,7 volte (tabelle 4 e 5).

Gli indicatori del rischio "chetosi"

La diagnostica buiattrica è impegnata nella continua ricerca di *biomarkers* o indicatori, anche aspecifici, che rafforzino la capacità di individuare il più precocemente possibile condizioni

metaboliche che rappresentano fattori eziologici o di rischio delle malattie della produzione.

Il bilancio energetico e proteico negativo di fine gravidanza e inizio lattazione è il più importante fattore di rischio, non solo per la chetosi ma anche per l'immunodepressione del periparto e per la sindrome della subfertilità. Molte sono le valutazioni soggettive da eseguire sull'animale, come la valutazione del *Body Condition Score* (BCS); tuttavia, esistono anche importanti *biomarkers*, non ancora tutti utilizzabili nella diagnostica di routine, quantificabili sia nel latte sia nel sangue.

Il BCS viene principalmente valutato con una scala proposta da Edmonson nel 1989 [6], per verificare se si sono verificate variazioni positive o negative delle riserve adipose durante l'asciutta e 40-50 giorni dopo il parto. Si considera ideale un BCS all'asciutta e al momento del parto di 3,5 per le pluripare e 3,75 per le manze di primo parto. Ideale sarebbe che una bovina nelle prime 8 settimane di lattazione non perdesse più di 0,5 punti di BCS. I limiti di questo sistema di valutazione del bilancio energetico sono la soggettività e il tempo eccessivo necessario per la sua valutazione.

Più immediati e interessanti sono invece alcuni *biomarkers*. Diretta e precisa è la valutazione della lipomobilizzazione attraverso il dosaggio ematico degli acidi grassi non esterificati (NEFA) nel sangue delle bovine, sia prima del parto sia dopo. Si ritiene non rischioso un valore < 0,27 mEq/l o mmol/l durante la preparazione al parto e < 0,6 mmol/l dopo il parto. Per un'applicazione pratica si consiglia di testare almeno 7 bovine (altrimenti tutte) tra il 2° e il 7° giorno prima del parto e altrettante tra il 7° e il 14°, sempre prima del parto. Se oltre il 25% dei soggetti ha valori superiori a 0,27 mmol/l a 7-14 giorni prima del parto e il 25% ha valori superiori a 0,3 mmol/l, esiste un fattore di rischio collettivo in allevamento.

Dopo il parto, è consigliabile testare almeno 7 bovine tra il 2° e il 14° giorno di lattazione. Se si riscontra più del 25% di bovine con NEFA ematici superiori a 0,7 mmol/l esiste un fattore di rischio collettivo.

La misurazione dei NEFA ematici è la diagnostica più precisa per verificare il bilancio energetico delle bovine, ma è una tecnica di laboratorio difficilmente inseribile nella routine di allevamento.

Di grande interesse è ciò che si può fare utilizzando il latte individuale. Molto utile è la valutazione della percentuale di grasso e proteine e il loro rapporto nel latte individuale raccolto nel corso del primo controllo funzionale, cosa che avviene sicuramente entro i 30 giorni di

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 4

lattazione, per la valutazione del bilancio energetico e proteico negativo. Un rapporto grasso/proteine > 1,5 al primo controllo funzionale aumenta il rischio di malattie metaboliche [7]. La correlazione tra rapporto grasso/proteine e bilancio energetico è pari a -0,36-0,74. Da come si evidenzia in tabella 6, la sensibilità e specificità dei *biomarkers* del latte è molto variabile, ma utile nella valutazione del bilancio energetico e proteico negativo [8].

È possibile utilizzare anche l'informazione della concentrazione di lattosio nel latte individuale con un *cut off* di 4,5, sebbene questo parametro sia fortemente condizionato anche dal livello di infiammazione della mammella. La concentrazione di lattosio nel latte di massa non fornisce alcuna indicazione sullo *status* energetico dell'allevamento, ma solo della funzionalità delle mammelle.

Di grande interesse sono anche i singoli acidi grassi del latte individuale, analizzabili di routine grazie alla tecnica FTIR (*Fourier Transform Infrared*). Il concetto generale di questi promettenti *biomarkers* deriva dal fatto che una quota degli acidi grassi del latte viene sintetizzato *ex novo* nella mammella a partire dagli acidi grassi a corta catena provenienti dalle fermentazioni ruminali e che quelli a lunga catena derivano direttamente dai NEFA del tessuto adiposo o dall'assorbimento intestinale. In particolare, è interessante valutare il rapporto tra il C18:1 cis-9 e il C15:0 con il BHBA. Secondo Jorjong, esisterebbe una correlazione di 0,47 [9]. Negli allevamenti italiani di bovine da latte che partecipano alla selezione genetica, queste informazioni

Tabella 6. Sensibilità e specificità dei test per diagnosticare un bilancio energetico negativo

	Cut off	N°	NEBAL	
			Sensibilità/specificità %	
			Inferiore al 10%	Superiore al 25%
Grasso %	> 4,8	771	39/87	28/89
Proteina %	< 2,9	771	17/85	18/86
Lattosio %	< 4,5	771	27/87	22/88
Rapporto grasso/proteine	> 1,4	771	66/68	61/73
	> 1,5	771	51/87	41/91
	> 1,6	771	29/96	19/98
Ketolac µmol/l	> 100	726	29/91	24/93
	> 200	726	14/98	10/99
Nitroprusside	Doubtful + pos.	733	31/94	24/97
	Clarey pos.	733	18/98	12/99
BCS	≥ 3,5	759	23/77	23/77
BHBA mmol/l	> 1,0	376	28/93	19/96
	> 1,2	376	25/97	14/98

Risultati ottenuti da 72 bovine, nel periodo 2-12 settimane post partum, misurate settimanalmente per 9-11 volte [8].

sono disponibili nel "sintetico collettivo", un documento elaborato dall'Associazione Italiana Allevatori (AIA) al termine di ogni controllo funzionale. In questo elaborato, sono quantificate le bovine Frisone che, nei primi due controlli funzionali, hanno una percentuale di grasso del latte > 4,8%, di proteina < 2,9, un rapporto grasso/proteina

Tabella 7. Sintetico collettivo per la razza Frisone

	Ultimo controllo	Controllo precedente	Med. anno precedente	Media prov. mese	Media Italia mese	Valore soglia top 10%	Target
Sanità (capi al 1°/2° controllo)	% capi grasso > 4,80%	13,3	20,0	27,8	13,9	10,2	< 10%
	% capi grasso < 2,50%	0	6,7	1,2	4,4	5,0	< 10%
	% capi proteine < 2,90%	33,3	33,3	23,1	35,7	37,1	< 10%
	% capi grasso/proteina > 1,40	33,3	40,0	45,6	28,3	20,8	< 10%
	% capi grasso/proteina > 1,10	40,0	20,0	30,2	30,0	36,8	< 10%
	% capi lattosio < 4,50%	20,0	6,7	12,4	6,9	8,5	< 10%
	% capi urea > 36,00 mg/dl	0	0	0	0	4,1	< 10%
	% capi urea < 20,00 mg/dl	0	0	0	0	43,1	< 10%
	% capi cellule > 200.000 (su tutti i capi)	32,5	32,0	53,0	31,7	34,2	19,8 < 10%

Dati AIA.

Formazione a distanza

Tabella 8. Azione preventiva/terapeutica di alcuni principi attivi sulla chetosi e la lipidosi epatica

Prevenzione/trattamento	Effetti ¹
Prevenzione della chetosi o della lipidosi epatica	
Propionato d'ammonio	+
Calcio propionato	+
Colina	0
Glucagone	++
Glicocorticoidi	++
Glicerolo	+/0
GH	0
Insulina ²	+/0
Lisina-metionina ³	+/0
Monensin	++
Niacina	+/0
Glicole propilenico (bolo)	++
Borato di sodio	+
Trattamento per forme non gravi di chetosi e lipidosi epatica	
Glucagone	+/0
Glicocorticoidi	+
Glucosio	+/0
Glucosio + fruttosio	+/0
Glucosio + glicocorticoidi	++
Glicerolo	++
Propionato di magnesio	+/0
Acido nicotinico (bolo)	+/0
Clorato di potassio	+
Glicole propilenico	++
Propionato di sodio	+
Xilitolo	+
Trattamento per le forme gravi di chetosi e lipidosi epatica	
Glucagone (infusione continua)	++
Glucosio (infusione continua)	++
Glucosio + glicocorticoidi	+++
Glucosio + insulina	++
Glicole propilenico + glicocorticoidi	+/0

¹ Il numero dei + indica il livello di efficacia della prevenzione o del trattamento della lipidosi epatica o della chetosi. Lo zero indica l'assenza di effetti.

² I risultati sono dose dipendente.

³ Solo studi con risultati positivi.

> 1,4 e lattosio < 4,5% (tabella 7). Per le altre razze da latte vengono utilizzati *cut off* differenti.

Terapia

Quando si parla di chetosi è difficile tracciare un confine netto tra terapia e prevenzione, poiché i principi attivi utilizzabili sono solitamente gli stessi (tabella 8).

La molecola di prima scelta e dotata della maggiore efficacia è il glicole propilenico, suggerito già dal 1954 come specifico per la terapia e la prevenzione della chetosi. Si tratta di un liquido inodore e incolore, dal sapore dolciastro, ma poco o per nulla appetibile. Il motivo della sua efficacia è dovuta alla sua capacità di fornire al fegato una quota molto elevata di propionato per la gluconeogenesi e a ingresso diretto nel ciclo di Krebs. Il glicole propilenico viene assorbito in buona parte direttamente dalle pareti ruminali o convertito prima nel rumine a propionato. Questa molecola induce un innalzamento dell'insulina dopo 15 minuti dalla somministrazione e rimane a livelli elevati per 2 ore. La terapia consigliata prevede la somministrazione di 300 g per 5 giorni. Tale dose può essere innalzata a 500 g nei casi più gravi.

Sempre nell'ambito del difficile confine tra terapia e prevenzione rientra il monensin, oggi utilizzabile in Europa come farmaco prescrivibile per la prevenzione della chetosi. Il meccanismo di azione di questa molecola, scoperta nel 1960, è quello di modulare la biomassa ruminale dando un vantaggio ai batteri produttori di propionato, senza arrecare danni a buona parte dei Gram negativi del rumine e, quindi, impedendo la temibile produzione ruminale di endotossine.

Controverso è l'effetto dei glucocorticoidi, anche se il loro meccanismo di azione consiste nell'aumentare la glicemia e incrementare il catabolismo dei grassi e delle proteine. Un'ipotesi di azione è quella secondo la quale queste molecole contribuirebbero alla riduzione dell'uso del glucosio da parte di tessuti periferici, come quello mammario. Infatti, dopo la somministrazione di glucocorticoidi, si nota una riduzione della produzione di latte.

Molto interessanti sono i pool di aminoacidi gluconeogenetici iniettabili, che forniscono alla bovina un supporto importante per il ciclo di Krebs [19].

Bibliografia

1-Buttler W.R., Smith R.D. Interrelationship between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 1989; vol. 72: pp. 767-783.

2-Chapinal N., Carson M.E., LeBlanc S.J., Leslie K.E., Godden S., Capel M., Santos J.E., Ovhitakerrton M.W., Duffield T.F. The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *J. Dairy Sci.*, 2012; vol. 95: pp. 1301-1309.

3-Dohoo I.R., Martin S.W. Subclinical ketosis: prevalence and associations with production

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 4

and disease. *Can. J. Comp. Med.*, 1984; vol. 48: pp. 1-5.

4-Duffield T.F., Lissemore K.D., McBride B.W., Leslie K.E. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *J. Dairy Sci.*, 2009; vol. 92: pp. 571-580.

5-Duffield T.F., Sandals D., Leslie K.E., Lissemore K., McBride B.W., Lumsden J.H., Dick P., Bagg R. Efficacy of monensin for the prevention of subclinical ketosis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1998; vol. 81: pp. 2866-2873.

6-Edmonson A.J., Lean I.L., Weaver L.D., Farver T., Webster G. A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1989; vol. 72: pp. 68-78.

7-Heuer C., Schukken Y.H., Dobbelaar P. Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. *J. Dairy Sci.*, 1999; vol. 82: pp. 295-304.

8-Heuer C., Van Straalen W.M., Schukken Y.H., Dirkwager A., Noordhuizen J.P.T.M. Prediction of energy balance in a high yielding dairy herd in early lactation: model development and precision. *Livestock Prod. Sci.*, 2000; vol. 65: pp. 91-105.

9-Jorjong S., van Knegsel A.T.M., Verwaeren J., Brukmaier R.M., De Baets B., Kemp B. Milk fatty acid as possible biomarkers to diagnose hyperketonemia in early lactation. *J. Dairy Sci.*, 2015; vol. 98: pp. 5211-5221.

10-Koeck A., Jamrozik J., Schenkel F.S., Moore R.K., Lefebvre D.M., Kelton D.F., Miglior F. Genetic analysis of milk beta-hydroxybutyrate and its association with fat-to-protein ratio, body condition score, clinical ketosis and displaced abomasus in early first lactation of Canadian Holsteins. *J. Dairy Sci.*, 2014; vol. 97: pp. 7286-7292.

11-LeBlanc S.J., Herdt T.H., Seymour W.M., Duffield T.F., Leslie K.E. Peripartum serum vitamin E, retinol and beta-carotene in dairy cattle and their association with disease. *J. Dairy Sci.*, 2004; vol. 87: pp. 609-619.

12-McArt J.A., Nydam D.V., Oetzel G.R. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation

dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 2012; vol. 95: pp. 5056-5066.

13-McArt J.A., Nydam D.V., Ospina P.A., Oetzel G.R. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 2012; vol. 95: pp. 5056-5066.

14-Oetzel G.R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 2004; vol. 20: pp. 651-674.

15-Oetzel G.R. Understanding the impact of subclinical ketosis. *Cornell nutrition conference proceeding*, 2012; pp. 12-21.

16-Ospina P.A., Nydam D.V., Stokol T., Overton T.R. Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the Northeastern United States: critical thresholds for prediction of clinical diseases. *J. Dairy Sci.*, 2010; vol. 93: pp. 546-554.

17-Ospina P.A., Nydam D.V., Stokol T., Overton T.R. Association between the proportion of sampled transition cows with increased non-esterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate and milk production at the herd level. *J. Dairy Sci.*, 2010; vol. 93: pp. 3595-3601.

18-Rabboison D., Mounié M., Maigné E. Disease reproductive performance and changes in milk production associated with subclinical ketosis in dairy cows: a meta-analysis and review. *J. Dairy Sci.*, 2014; vol. 97: pp. 7547-7563.

19-Seifi H.A., LeBlanc S.J., Vernoooy E. Effect of isoflupredone acetate with or without insulin on energy metabolism, reproduction, milk production and health in dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.*, 2007; vol. 90: pp. 4181-4191.

20-Suriyasathaporn W., Heuer C., Noordhuizen-Stassen E.N., Schukken Y. Hyperketonemia and impairment of udder defense: a review. *Vet. Res.*, 2000; vol. 31: pp. 397-412.

21-Walsh R.B., Walton J.S., Kelton D.F., LeBlanc S.J., Leslie K.E., Duffield T.F. The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2007; vol. 90: pp. 2788-2796.

MALATTIE METABOLICHE E AMBIENTE

Lo stress da caldo

Umberto Bernabucci, Nicola Lacetera

Dipartimento di Scienze agrarie e forestali, Università degli Studi della Tuscia (VT)

RIASSUNTO

Lo stress da caldo può essere definito come una condizione fisiologica in cui la temperatura corporea di una data specie supera l'intervallo considerato ottimale per la normale attività. Le razze da latte sono, in genere, più sensibili allo stress da caldo rispetto alle razze da carne, e soggetti più produttivi sono più sensibili perché generano più calore metabolico endogeno. La risposta allo stress da caldo altera diversi aspetti del metabolismo, compromette la funzionalità di organi (ad esempio, epatica), è causa di stress ossidativo, mette a repentaglio la risposta immunitaria e diminuisce la capacità riproduttiva.

Parole chiave: vacca da latte, stress da caldo, salute, riproduzione, produzione di latte.

SUMMARY

Heat Stress

Heat stress may be defined as a physiological condition in which the body temperature of a given species exceeds the optimal interval for a normal activity. Dairy breeds are generally more sensitive to heat stress than beef breeds, and more productive animals are more susceptible because they generate more endogenous metabolic heat. The answer to heat stress alters several aspects of metabolism, impairs organ function (e.g., liver function), causes oxidative stress, endangers the immune response and decreases reproductive capacity.

Keywords: dairy cow, heat stress, health, reproduction, dairy production.

Il cambiamento climatico, definito come l'alterazione di lungo termine delle condizioni climatiche usuali quali temperatura, vento e pioggia, caratteristico di una regione specifica, è probabile che sia una delle principali sfide di questo secolo. Il clima della Terra si è riscaldato nel secolo scorso ($0,74 \pm 0,18$ °C), con il periodo dal 1990 al 2000 che è risultato il più caldo mai registrato strumentalmente [23]. Inoltre, il clima della Terra si prevede che cambi continuamente a ritmi senza precedenti [23]. Gli attuali modelli climatici indicano uno $0,2$ °C di aumento per decade nei prossimi due decenni e prevedono che l'aumento della temperatura superficiale media globale entro il 2100 potrebbe essere compreso tra $1,8$ e $4,0$ °C [23].

La crescente preoccupazione per il *comfort* termico degli animali zootecnici è giustificabile, non solo per i Paesi che occupano le zone tropicali ma anche per le Nazioni in zone temperate, dove le alte temperature ambientali stanno diventando un problema [36, 41].

Lo stress da caldo influenza negativamente la produttività degli animali da allevamento e, quindi, può compromettere la catena di approvvigionamento alimentare e l'economia del settore zootecnico. Si sono ottenuti progressi nelle strategie di gestione per alleviare in parte l'impatto dello stress termico sulle prestazioni degli animali durante le stagioni calde. Tuttavia, gli effetti negativi dello stress termico saranno più evidenti in futuro se i cambiamenti climatici continuano e, come previsto, se la popolazione e la necessità di alimenti aumenterà a livello mondiale. Inoltre, i programmi di miglioramento genetico che esaltano le caratteristiche di produzione degli animali possono aumentarne la suscettibilità alle alte temperature ambientali, a causa della stretta relazione tra la generazione di calore metabolico e livello di produzione [26].

Gli animali omeotermi (secondo il loro stato fisiologico) hanno una zona termica, in cui il dispendio energetico per mantenere la temperatura corporea normale è minimo,

costante e indipendente dalla temperatura ambientale. Quando variabili ambientali, quali la temperatura ambiente, l'umidità, la circolazione dell'aria e la radiazione solare si combinano per raggiungere valori che superano il limite superiore della zona termica, gli animali entrano in una condizione nota come stress termico. Lo stress da caldo si verifica quando la temperatura corporea di una data specie supera il *range* per la normale attività; questo è dovuto a un aumento di carico termico totale (produzione interna e ambiente) superiore alla capacità di dissipazione del calore stesso. Ciò induce risposte fisiologiche e comportamentali per ridurre lo stress. Risposte comportamentali e fisiologiche sono inizialmente quelle di aumentare la perdita di calore e ridurre la produzione di calore interna, nel tentativo di mantenere la temperatura corporea nell'intervallo di normalità. Le risposte iniziali sono considerate meccanismi omeostatici e comprendono una maggiore assunzione di acqua, un aumento della sudorazione e della respirazione, una frequenza cardiaca ridotta e una riduzione dell'assunzione di alimenti [5]. Se l'esposizione è prolungata, la risposta di acclimatazione è ottenuta attraverso processi di omeostasi [22]. Queste risposte sono parzialmente caratterizzate da una diminuzione dell'ormone della crescita (GH), delle catecolamine e dei livelli di glucocorticoidi. Questo stato endocrino alterato agisce per abbassare i livelli circolanti di tiroxina (T4) e triiodotironina (T3) e questo riduce il metabolismo basale e, quindi, la produzione di calore [5]. Queste risposte portano a modificazioni del metabolismo e delle *performances* (produttive e riproduttive) degli animali.

L'indice bioclimatico o THI
(Temperature-Humidity Index)

Gli animali di interesse zootecnico esposti a condizioni di clima caldo attivano una serie di funzioni che tendono ad aumentare la dispersione di calore (aumento della frequenza respiratoria, sudorazione, aumento della ingestione di acqua ecc.) e a ridurre la produ-

Formazione a distanza

zione di calore endogeno (riduzione del consumo di alimento, riduzione dell'attività metabolica ecc.), al fine di limitare l'aumento della temperatura corporea che tende a verificarsi in tali condizioni [5]. L'attivazione delle suddette funzioni e/o l'ipertermia corporea sono alla base degli effetti negativi che il caldo esercita sullo stato metabolico e nutrizionale, sull'efficienza riproduttiva, sulla *performance* produttiva, sullo stato di benessere e di salute e sul rischio di morte degli animali allevati [35]. A tale ultimo proposito, in uno studio di recente pubblicazione, condotto su bovine da latte allevate in Pianura Padana, è emerso che il rischio di morte risulta significativamente più elevato durante i mesi estivi e si modifica in modo direttamente proporzionale all'aumento dei valori del *Temperature Humidity Index* (THI) quando questi supera un valore soglia [44]. Il livello di stress termico subito dagli animali di allevamento nel corso della stagione estiva può essere valutato mediante l'utilizzo di indici bioclimatici, il più utilizzato dei quali è il THI che permette di valutare la temperatura ambientale percepita dagli animali in relazione ai valori dell'umidità relativa dell'aria [5]. Il livello dello stress dipende sia dall'entità del superamento del valore critico superiore del THI (variabile in relazione alla specie, all'età, alla razza ecc.) sia dalla durata temporale di tale superamento. Altri elementi di criticità sono rappresentati dalle modalità di passaggio dalla condizione di termo-neutralità alla condizione di caldo e dalla possibilità di recupero che viene offerta agli animali dai valori del THI registrati nelle ore più fresche della giornata (ore notturne).

Le ondate di calore

Un'attenzione particolare meritano i fenomeni estremi, quali le ondate di calore. Queste sono caratterizzate dal verificarsi di temperature massime al di sopra di determinati valori soglia che si registrano per un certo numero di giorni consecutivi. Di recente, risultati ottenuti da analisi dei dati termometrici relativamente alle ondate di calore, definite come sequenze di almeno 6 giorni consecutivi con temperature massime giornaliere superiori al 90 percentile della distribuzione storica giornaliera, hanno consentito di avere una panoramica del quadro climatico italiano degli ultimi anni. In particolare, nel trentennio 1977-2006 gli episodi di ondate di calore sono aumentati maggiormente nelle zone centro-settentrionali rispetto al trentennio 1971-2000, ma soprattutto il dato che è emer-

so in modo più rilevante è l'allungamento di circa 10-15 giorni della durata media dei fenomeni. Inoltre, le ondate di caldo verificatesi in Italia dal 1961 al 2006 mostrano che la maggior parte dei fenomeni durante i mesi da maggio a settembre risultano più frequenti a partire dal 2000 [45].

Impatto sulla salute

1. Immunodepressione

Una serie di studi realizzati nelle vacche da latte ha indicato una maggiore frequenza di mastiti durante i periodi più caldi dell'anno [47]. Comunque, i meccanismi responsabili di tale situazione non sono stati chiariti. Le ipotesi per spiegare il fenomeno includono la possibilità che le alte temperature possano facilitare la sopravvivenza e la moltiplicazione dei patogeni [21] o dei loro vettori [14] e che lo stress termico da caldo impatti negativamente sulla risposta immunitaria.

Numerosi studi hanno descritto le relazioni tra stress termico nei bovini e in altre specie animali di interesse zootecnico. In ogni caso, i risultati di questi studi risultano almeno in parte conflittuali. La grande varietà di condizioni sperimentali, soprattutto in termini di intensità e durata dello stress, può certamente contribuire a spiegare la discordanza tra i risultati dei diversi studi. In particolare, alcuni autori hanno riportato un miglioramento [42], altri un peggioramento [27] e altri ancora nessun effetto [29] delle alte temperature sulla risposta immunitaria. In uno studio di campo, realizzato in Italia in un allevamento di vacche da latte nel corso dell'estate 2003, anno caratterizzato da almeno tre ondate di calore intense e prolungate, è stata messa in evidenza un'alterazione profonda della risposta immunitaria cellulo-mediata [30]. In ogni caso, l'esame attento della letteratura consente di poter affermare che quando lo stress da caldo è intenso e prolungato genera immunodepressione e maggior rischio di contrarre infezioni.

2. Insorgenza/diffusione di malattie trasmesse da vettori

Nel corso degli ultimi decenni, è stato descritto un numero elevato di emergenze sanitarie riguardanti malattie trasmesse da vettori e, in tale contesto, il cambiamento climatico è stato spesso citato come uno dei fattori coinvolti per spiegare le emergenze [37]. Effettivamente, gli artropodi vettori sono molto sensibili all'azione dei fattori ambientali, che incidono sulla loro presenza, densità e comportamento. In particolare, i

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 5

fattori meteorologici, quali la temperatura, la piovosità e l'umidità, possono incidere fortemente sulla distribuzione spaziale dei vettori e delle malattie che trasmettono.

Tra le suddette emergenze sanitarie, un ruolo di primo piano è quello occupato dalla *bluetongue*, che ha interessato il continente europeo. Il virus della *bluetongue* (BTV) viene trasmesso da alcune specie di moscerini pungenti, appartenenti al genere *Culicoides* (ditteri: *Ceratopogonidae*). Il BTV infetta tutte le specie ruminanti, ma solo le razze selezionate appartenenti alle specie ovina e bovina e ad alcune specie di cervidi sviluppano la malattia in forma clinica. Fino a tempi molto recenti, l'Europa non era interessata dalla malattia, che risultava confinata nel continente africano. L'anno 1998 è stato l'anno in cui la malattia ha fatto la sua comparsa in Europa, con un numero molto elevato di focolai, che hanno causato la morte di più di 1,5 milioni di ovini [18]. Si ritiene che la comparsa della malattia nel bacino del Mediterraneo sia legata fondamentalmente all'espansione passiva (attraverso il vento) verso nord del principale vettore africano della malattia, *Culicoides imicola* [39] e al fatto che l'innalzamento delle temperature abbia favorito la sopravvivenza e la moltiplicazione del moscerino. Molte mappe predittive sulla presenza e abbondanza di *C. imicola* sono state e potranno ancora essere prodotte dall'analisi dei dati entomologici e meteorologici e, in particolare, di quelli relativi a temperatura e precipitazioni [13].

3. Mortalità

Una serie di studi ha documentato un maggiore rischio di morte negli animali di allevamento durante i mesi più caldi dell'anno [15] e un incremento delle morti durante eventi climatici estremi, quali le ondate di calore [19]. I meccanismi alla base della mortalità più elevata durante i mesi più caldi non sono stati chiariti del tutto. In ogni caso, le temperature ambientali elevate, soprattutto quando associate a valori elevati di umidità, molto probabilmente rappresentano il fattore chiave.

Il colpo di calore si verifica quando la temperatura corporea risulta di 3-4 °C superiore alla temperatura corporea normale, con conseguente alterazioni a carico della funzionalità di numerosi organi. Il colpo di calore si associa a un tasso elevato di mortalità. Nei soggetti che sopravvivono, i danni subiti dagli organi possono alterarne così tanto la funzionalità che la sopravvivenza nel breve medio periodo può essere considerata a ri-

schio. In condizioni di allevamento estensivo, che possono includere l'allevamento brado/semibrado con utilizzo del pascolamento, le variazioni stagionali della mortalità possono anche dipendere dall'azione di altri fattori meteorologici (ad esempio, radiazione solare e precipitazioni atmosferiche) e/o dagli effetti che i fattori meteorologici esercitano sulla disponibilità quanti-qualitativa di pascolo e/o sulla sopravvivenza e moltiplicazione di parassiti, batteri o virus [26]. In uno studio di campo su larga scala, condotto di recente in allevamenti di bovine da latte allevate in modo intensivo, è emerso che 80 e 70 devono essere considerati il valore massimo e minimo del THI, al di sopra dei quali il rischio di morte inizia a salire significativamente [44]. Lo stesso studio ha anche evidenziato che 87 e 77 rappresentano i valori massimo e minimo del THI, al di sopra dei quali il rischio di morte diviene massimo.

4. Rumine

Le alte temperature ambientali influiscono negativamente sulla salute del ruminante, a causa di una serie di motivi biologici e di gestione [1, 4, 26]. Le vacche da latte esposte a condizioni di stress da caldo ingeriscono meno alimento e, di conseguenza, ruminano meno. Questo si traduce in una riduzione di sostanze tampone (ruminare è la stimolazione primaria per la produzione di saliva) che arrivano nel ruminante. Inoltre, a causa della ridistribuzione del flusso sanguigno verso la periferia (nel tentativo di aumentare la dissipazione di calore) e della successiva riduzione del flusso ematico nel tratto gastrointestinale, i prodotti finali della digestione (acidi grassi volatili, AGV) vengono assorbiti meno efficientemente e, in tal modo, il contenuto totale di AGV nel ruminante aumenta (e il pH diminuisce). Inoltre, l'aumento della frequenza respiratoria contribuisce all'acidosi ruminale e incrementa l'eliminazione della CO₂.

Per mantenere un sistema tampone del sangue efficace, l'organismo deve mantenere un rapporto 20:1 tra HCO₃⁻ (bicarbonato) e CO₂. A causa della diminuzione di CO₂ nel sangue, dovuta all'iperventilazione, il rene elimina HCO₃⁻ per mantenere tale rapporto. Questo riduce la quantità di HCO₃⁻ che può essere utilizzato (tramite saliva) per tamponare e mantenere un pH ruminale ottimale. Inoltre, l'iperventilazione induce una perdita di saliva, riducendo ulteriormente la quantità di saliva disponibile per il ruminante. La riduzione del contenuto di HCO₃⁻ nella saliva e la minore

Formazione a distanza

quantità di saliva che entra nel rumine rendono la vacca molto più suscettibile all'acidosi ruminale subclinica e acuta [26].

Anche i cambiamenti nel comportamento alimentare, probabilmente, contribuiscono all'acidosi ruminale. Le vacche in condizioni di termoneutralità, in genere, consumano da 12 a 15 pasti al giorno, che si riducono a 3-5 durante lo stress termico. La ridotta frequenza è accompagnata da pasti più voluminosi, con un conseguente picco di produzione di AGV.

Un altro possibile problema può derivare dal fatto che, per compensare il calo di ingestione di nutrienti (energia) causato dallo stress termico, i nutrizionisti tendono tipicamente ad aumentare la densità di energia della razione, usando spesso i cereali (amido). Questa pratica deve essere condotta con cura, poiché questo tipo di dieta può essere associato a un abbassamento ulteriore del pH ruminale. La combinazione di una razione "calda" e la capacità ridotta della vacca di neutralizzare la produzione di AGV nel rumine aumentano il rischio di acidosi ruminale e, indirettamente, aumentano il rischio di sviluppare effetti collaterali negativi associati all'alterazione della funzionalità ruminale (laminite, problemi infiammatori, riduzione del grasso del latte ecc.).

In sintesi, nei periodi di stress termico, si possono avere maggiori rischi di acidosi. Ciò è dovuto a: diminuzione dell'assunzione di sostanza secca, con una minore presenza di foraggio e più elevati livelli di carboidrati fermentescibili; diminuzione della rumina-zione, e quindi diminuzione della saliva, con riduzione del suo potere tampone a causa di un aumento della eliminazione della CO₂ (iperventilazione). Inoltre, la riduzione del pH ruminale compromette l'efficienza di digestione delle fibre: i fibrolitici sono batteri più sensibili al calo del pH ruminale (sotto 6,0). Tutti questi fattori possono contribuire a diminuire l'efficienza di utilizzazione della dieta, ad aumentare il rischio di acidosi e a influenzare lo stato di salute degli animali, la fertilità e longevità.

5. Intestino

L'integrità delle giunzioni tra le cellule epiteliali dell'intestino (*Tight Junctions*, TJ) è condizione essenziale per evitare infiltrazioni di batteri patogeni e di antigeni tossici, incluse le endotossine [16]. La rottura della barriera TJ intestinale può comportare la permeazione di sostanze tossiche dal lume intestinale al sangue. Vari tipi di sollecitazioni, tra cui lo stress da caldo, possono causare

aumento della permeabilità intestinale e comportare un passaggio di endotossine e una traslocazione batterica [32]. Il passaggio delle endotossine intestinali e dei batteri patogeni è stato proposto come il responsabile della maggiore incidenza dei problemi di salute, quali il colpo di calore, l'ischemia ecc.

L'effetto dello stress termico sulla permeabilità intestinale è stato studiato in modelli di ratto. Hall *et al.* hanno osservato un significativo aumento della concentrazione di lipopolisaccaridi nel sangue portale in ratti esposti a 41,5 °C [20]. Lambert *et al.* hanno riportato un aumento significativo della permeabilità intestinale a temperature di 42,5 °C nei ratti e a 41,5-42 °C in prove *ex-vivo* utilizzando epitelio intestinale [31]. Dokladny *et al.* hanno riportato che le linee cellulari Caco-2, mantenute a 41 °C per oltre 24 ore, hanno notevolmente aumentato la permeabilità e ridotto la resistenza epiteliale [16]. Recentemente, Pearce *et al.* hanno dimostrato come lo stress da caldo sia direttamente responsabile nell'alterare l'integrità intestinale nei suini [38].

I meccanismi alla base degli effetti dello stress da caldo sulla funzione della barriera intestinale sono descritti da Lambert [32] e da Pearce *et al.* [38]. Questi autori hanno mostrato che la combinazione della riduzione del flusso sanguigno intestinale (ipossia) con l'ipertermia può causare la perdita di integrità delle giunzioni, con probabili danni alla membrana degli enterociti. Il ridotto afflusso di sangue intestinale si verifica con l'acclimatamento alle condizioni di stress da caldo, poiché il sangue viene deviato dalle regioni interne alla cute (vasodilatazione) per la dissipazione del calore [43]. Questo può portare a ipossia intestinale, che probabilmente si traduce in una ridotta vitalità cellulare e in un aumento della permeabilità paracellulare.

Il flusso di sangue ridotto può provocare anche stress ossidativo e nitrosativo [20, 38], che può danneggiare le membrane cellulari e aprire le TJ. Inoltre, l'ipertermia, da sola, produce specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto [3], che portano al danneggiamento delle membrane cellulari e, quindi, a un allargamento delle TJ. Il duplice effetto "riduzione del flusso sanguigno intestinale e ipertermia" promuove rilevanti danni alla mucosa intestinale [31], che porta al passaggio di sostanze, quali lipopolisaccaridi, nell'ambiente interno, con conseguente risposta infiammatoria [32].

Come riportato in precedenza, l'esposizione

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 5

al calore è responsabile dell'alterazione della funzionalità ruminale e dei cambiamenti nella dieta ingerita, con aumento dell'apporto di amido. Questi fattori sono riconosciuti essere responsabili di una maggiore concentrazione nel ruminale [48] e nel siero [17] di lipopolisaccaridi.

L'alterazione della salute gastrointestinale, insieme ai cambiamenti della funzionalità ruminale e all'aumento del rischio di acidosi ruminale in soggetti esposti a condizioni di stress da caldo, lo rende più suscettibile all'infiammazione e agli stress ossidativi. Ciò impone, da un lato, di considerare l'approccio alimentare per ridurre il rischio di problemi seri che questi effetti possono produrre e, dall'altro, di aumentare i nutrienti come gli antiossidanti, che possono contrastare alcuni fenomeni negativi.

Impatto sulla riproduzione

In funzione della loro intensità e durata, le condizioni di clima caldo possono essere responsabili di una riduzione significativa dell'efficienza riproduttiva [40]. Gli effetti dello stress termico variano in funzione della fase del ciclo produttivo e sono il risultato di alterazioni della secrezioni degli ormoni regolatori della funzione riproduttiva e/o di modificazioni dell'ambiente fisico (in particolare, della temperatura) interno all'animale. Tra gli effetti più importanti dello stress termico vanno annoverati una maggiore incidenza di cisti ovariche e calori silenti, una minore durata dell'estro, una ridotta sopravvivenza embrionale e difetti riguardanti la

placentazione e l'espulsione della placenta dopo il parto, con conseguente rallentamento del processo di involuzione uterina. Tutto ciò contribuisce a determinare un aumento del numero di interventi di inseminazione per concepimento e dell'incidenza di riassorbimenti embrionali e aborti, ad allungare il periodo di interparto, ad anticipare l'epoca della riforma e ad aumentare la quota annua di avvicendamento.

Impatto sulla produzione di colostro

Anche se è stato stabilito il ruolo del colostro come alimento indispensabile per i mammiferi neonati, l'influenza delle temperature ambientali elevate (*High Ambient Temperature*, HAT) sulla produzione di colostro non è stata esaminata a fondo. Sono stati intrapresi solo pochi studi per verificare la variazione stagionale di Ig nel colostro bovino [6]. In letteratura, sono riportati dati discordanti: nessun cambiamento stagionale del contenuto di Ig nel colostro, aumento delle Ig durante i mesi estivi o riduzione delle Ig sempre durante i mesi caldi.

In uno studio degli Autori, condotto in condizioni controllate, è stato evidenziato un significativo effetto delle alte temperature sulla composizione del colostro e sul contenuto in Ig (G, A e M) (tabella 1). Vacche da latte esposte a condizioni di stress da caldo durante l'asciutta hanno minori percentuali medie di proteine totali, caseina, colostro, lattoalbumina e concentrazioni di IgG e IgA. Nella bovina, circa il 90% delle Ig plasmatiche totali è costituito da IgG e il contenuto di

Tabella 1. Frazioni proteiche nel colostro prodotto da manze esposte a condizioni di comfort termico (CT) o stress termico da caldo (ST)

	Tempo dopo il parto (ore)									Medie delle 4 mungiture		
	1		12		24		36		ES	CT	ST	ES
	CT	ST	CT	ST	CT	ST	CT	ST				
Caseina, %	5,3	4,3	3,5	1,1	1,6	1,4	1,9	1,7	0,8	3,5 ^a	2,3 ^b	0,5
α-Lattoalbumina, %	0,9	0,9	0,6	0,4	0,4	0,2	0,5	0,4	0,1	0,7 ^a	0,5 ^b	0,1
β-Lattoglobulina, %	1,4	1,2	1,0	0,8	0,7	0,3	0,8	0,5	0,2	1,2	0,8	0,1
IgG, mg/dl	7925 ^a	6400 ^b	5100	4615	3357	2437	1586	1260	473	4496 ^a	3677 ^b	230
IgM, mg/dl	733	755	525	406	270	273	191	208	74	420	412	36
IgA, mg/dl	400 ^c	210 ^d	238	150	131	107	94	77	37	216 ^c	136 ^d	19

CT: Comfort Termico; ST: Stress da Caldo; ES: Errore Standard; Ig: Immunoglobuline.

a,b Medie entro le righe ed entro ora dal parto; P<0,05.

c,d Medie entro le righe ed entro ora dal parto; P<0,01.

1 Comfort termico: 18,0 °C e 72% umidità relativa = 65 Temperature-Humidity Index (THI).

2 Stress termico da caldo: 31,5 °C e 72% umidità relativa = 82 THI dalle 09:00 alle 20:00; 26,0 °C e 72% umidità relativa = 76 THI dalle 21:00 alle 08:00.

Modificata da [34].

Formazione a distanza

IgG nel colostro dipende dalla quantità trasferita dal flusso ematico attraverso la barriera mammaria da un meccanismo di trasporto specifico. Il declino preparto delle Ig plasmatiche e il minor contenuto di Ig nel colostro (tabella 1), osservato nello studio di Nardone *et al.* in vacche esposte a condizioni di stress da caldo, indicano che lo stress termico ha compromesso il trasferimento di IgG dal flusso sanguigno alla mammella [34]. Viceversa, le IgA del colostro dipendono dalla quantità sintetizzata dalle cellule immunitarie della mammella. Pertanto, i dati indicano che lo stress da caldo altera la reattività immunitaria della ghiandola mammaria. La ridotta quantità di Ig nel colostro prodotto dai soggetti esposti a stress da caldo può compromettere il trasferimento passivo di Ig dal colostro al neonato, poiché il trasferimento passivo è associato con la massa di Ig ingerita e con l'efficienza di assorbimento.

Impatto sulla produzione di latte

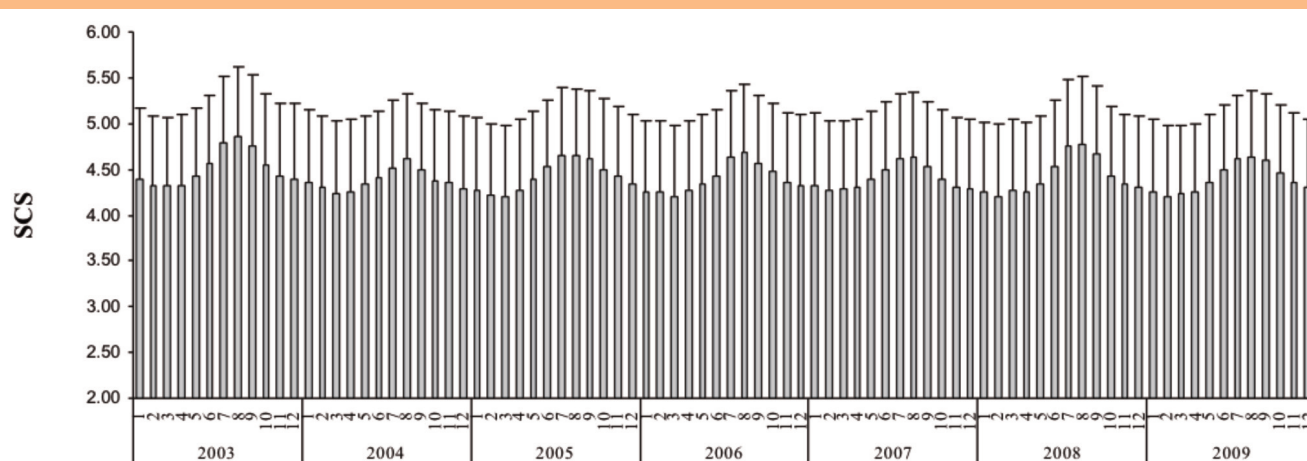
Johnson *et al.* hanno mostrato una riduzione lineare tra l'assunzione di sostanza secca (-0,23 kg/die) e la produzione di latte (-0,26 kg/die) quando THI superava il valore di 70 [24]. In uno studio di due anni condotto in condizioni di campo, gli Autori hanno riscontrato una diminuzione di 0,27 kg di latte per unità THI quando le vacche da latte sono esposte a THI superiore a 68. Bouraoui *et al.*, in uno studio di due anni, ha trovato una cor-

relazione negativa tra la produzione di latte e THI ($r = -0,76$) [11]. In particolare, la produzione di latte è diminuita di 0,41 kg/vacca/giorno per ogni unità di aumento THI sopra 69. Bohmanova *et al.* hanno riportato diversi tassi di riduzione della produzione di latte per unità di THI, che vanno da -0,40 a -0,27 e da -0,59 a -0,23 kg rispettivamente in Georgia e Arizona [10]. Recentemente, gli Autori riportano un calo di produzione di latte pari 0,27 litri per unità di THI in vacche di razza Frisona [7].

La riduzione di ingestione di alimento causata dallo stress da caldo è tradizionalmente considerata la principale responsabile della diminuzione della produzione di latte [46]. Tuttavia, è stato dimostrato che la riduzione dell'assunzione di nutrienti (effetto indiretto dello stress da caldo) rappresenta solo circa il 35% della diminuzione indotta da stress sulla sintesi del latte [5]. Studi condotti dagli Autori, condotti in camere climatiche, hanno dimostrato un calo della produzione di latte del 35% in vacche a metà lattazione [33] e del 14% nei primi mesi di lattazione [28].

L'entità del declino della produzione di latte osservato dipende da diversi fattori, che interagiscono con la temperatura elevata dell'aria. Le perdite di produzione di latte durante il periodo caldo sono correlate positivamente con i livelli di produzione precedenti allo stress da calore. La fase di lattazione è un altro un fattore importante. Johnson *et al.* hanno osservato che bovine a metà lattazione erano più sensibili allo stress da caldo rispetto

Figura 1. Variazione del contenuto di cellule somatiche del latte (SCS) in relazione all'anno e al mese di produzione



Da [9].

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 5

alle vacche in prima fase di lattazione [25]. Le bovine a metà lattazione hanno mostrato un calo più elevato della produzione di latte (-38%) a seguito di esposizione al calore. Gli stessi risultati sono stati ottenuti in uno studio di campo da Calamari *et al.*, che hanno osservato un calo della produzione di latte, dell'11-14%, 22-26% e 15-18%, rispettivamente nei primi mesi (dopo il 1° mese), a metà e fine lattazione.

Le condizioni nutrizionali e metaboliche delle vacche da latte durante le diverse fasi di lattazione potrebbero spiegare la sensibilità diversa alle condizioni stressanti. Infatti, la produzione di latte nelle vacche in prima fase di lattazione è fortemente sostenuta dai tessuti di deposito (mobilitazione dei grassi, in particolare) e meno dall'assunzione di alimenti, mentre la produzione di latte nelle vacche a metà lattazione è in gran parte sostenuta dall'assunzione di alimenti, che raggiunge il picco in questa fase. Poiché l'utilizzazione metabolica dei tessuti ha una maggiore efficienza rispetto all'utilizzazione metabolica degli alimenti, le vacche in prima fase di lattazione dovrebbero produrre meno calore metabolico per kg di latte prodotto rispetto alle vacche a metà lattazione.

Il caldo influisce negativamente sulla qualità del latte [7, 8]. Per valori di THI superiori a 72, si osservano cali del contenuto proteico del latte, mentre la risposta del tenore in grasso del latte sembra in ritardo e i risultati sono spesso contraddittori. Confrontando la produzione di latte durante l'estate e la primavera in un allevamento situato nel centro Italia, gli Autori hanno rilevato una riduzione della produzione di latte (-10%), della percentuale di caseina e dell'indice di caseina (caseina/rapporto di proteine totali) in estate (2,18 vs 2,58% e 72,4 vs 77,7%, rispettivamente) [2]. In uno studio più recente, gli Autori hanno confermato l'effetto negativo della stagione estiva sul contenuto proteico del latte [8]. In entrambi gli studi, la diminuzione della caseina è dovuta principalmente alla riduzione della α_s -caseina e della β -caseina. La stretta relazione tra il contenuto di caseina e il comportamento del latte durante i processi tecnologici può spiegare la perdita di resa in formaggio e l'alterazione delle proprietà casearie del latte durante l'estate in Italia [8].

Recenti risultati mostrano, inoltre, che la stagione calda è responsabile dell'aumento del contenuto in cellule somatiche (figura 1) [9]. Questo, naturalmente, contribuisce a spiegare le alterazioni delle caratteristiche casearie del latte prodotto durante il periodo estivo.

Bibliografia

- 1-Bernabucci U., Bani P., Ronchi B., Lacetera N., Nardone A. Influence of short-and long-term exposure to hot environment on rumen passage rate and diet digestibility by Friesian heifers. *J. Dairy Sci.*, 1999; vol. 82: pp. 967-973.
- 2-Bernabucci U., Lacetera N., Ronchi B., Nardone A. Effects of the hot season on milk protein fractions in Holstein cows. *Anim. Res.*, 2002; vol. 51: pp. 25-33.
- 3-Bernabucci U., Lacetera N., Ronchi B., Nardone A. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. *J. Dairy Sci.*, 2002; vol. 85: pp. 2173-2179.
- 4-Bernabucci U., Lacetera N., Danieli P.P., Bani P., Nardone A., Ronchi B. Influence of different periods of exposure to hot environment on rumen function and diet digestibility in sheep. *Int. J. Biometeorol.*, 2009; vol. 53: pp. 387-395.
- 5-Bernabucci U., Lacetera N., Baumgard L.H., Rhoads R.P., Ronchi B., Nardone A. Metabolic and hormonal acclimation to heat stress in domesticated ruminants. *Animal*, 2010; vol. 4: pp. 1167-1183.
- 6-Bernabucci U., Basiricò L., Morera P. Impact of hot environment of colostrum and milk composition. *Cell. Mol. Biol.*, 2013; vol. 59, n. 1: pp. 67-83.
- 7-Bernabucci U., Biffani S., Buggiotti L., Vitali A., Lacetera N., Nardone A. The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 2014; vol. 97: pp. 471-486.
- 8-Bernabucci U., Basiricò L., Morera P., Di-pasquale D., Vitali A., Piccioli Cappelli F., Calamari L. Effects of summer season on milk protein fractions in Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, 2015; vol. 98: pp. 1815-1827.
- 9-Bertocchi L., Vitali A., Lacetera N., Varisco G., Nardone A., Bernabucci U. Seasonal variation in the composition of Holstein cow's milk and temperature-humidity index relationships. *Animal*, 2014; vol. 8, n. 4: pp. 667-674.
- 10-Bohmanova J., Misztal I., Cole J.B. Temperature humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *J. Dairy Sci.*, 2007; vol. 90: pp. 1947-1956.
- 11-Bouraoui R., Lahmar M., Majdoub A., Djemali M., Belyea R. The relationship of temperature-humidity index with milk production of dairy cows in a Mediterranean climate. *Anim. Res.*, 2002; vol. 51: pp. 479-491.
- 12-Calamari L., Maianti M.G., Calegari F., Abeni F., Stefanini L. Variazioni dei parametri lattodinamografici nel periodo estivo in bo-

Formazione a distanza

- vine in fasi diverse di lattazione. Proceeding del Congresso nazionale S.I.S.Vet., 1997; vol. LI: pp. 203-204.
- 13-Calvete C., Estrada R., Miranda M.A., Borrás D., Calvo J.H., Lucientes J. Modelling the distributions and spatial coincidence of blue-tongue vectors *Culicoides imicola* and the *culicoides* *obsoletus* group throughout the Iberian peninsula. *Med. Vet. Entomol.*, 2008; vol. 22: pp. 124-134.
- 14-Chirico J., Jonsson P., Kjellberg S., Thomas G. Summer mastitis experimentally induced by *Hydrotaea irritans* exposed to bacteria. *Med. Vet. Entomol.*, 1997; vol. 11: pp. 187-92.
- 15-Dechow C.D., Goodling R.C. Mortality, culling by sixty days in milk, and production profiles in high and low-survival Pennsylvania herds. *J. Dairy Sci.*, 2008; vol. 91: pp. 4630-4639.
- 16-Dokladny K., Moseley P.L., Ma T.Y. Physiologically relevant increase in temperature causes an increase in intestinal epithelial tight junction permeability. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2006; vol. 290: pp. G204-G212.
- 17-Emmanuel D.G.V., Dunn S.M., Ametaj B.N. Feeding high proportions of barley grains stimulates an inflammatory response in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2008; vol. 91: pp. 606-614.
- 18-FAO (2006) EMPRES fact sheet on blue-tongue in Europe. www.fao.org/docs/eims/upload/213041/EW_europe_sept06.pdf
- 19-Hahn G.L., Mader T.L. Heat waves in relation to thermoregulation, feeding behavior and mortality of feedlot cattle. In: Proceedings of the 5th International Symposium of the American Society of Agricultural Engineer, St Joseph, MI, 1997: pp. 563-571.
- 20-Hall D.M., Buettner G.R., Oberley L.W., Xu L., Matthes R.D., Gisolfi C.V. Mechanisms of circulatory and intestinal barrier dysfunction during whole body hyperthermia. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, 2001; vol. 280: pp. H509-H521.
- 21-Hogan J.S., Smith K.L., Hoblet K.H., Schoenberger P.S., Todhunter D.A., Hueston W.D., Pritchard D.E., Bowman G.L., Heider L.E., Brockett B.L. Field survey of clinical mastitis in low somatic cell count herds. *J. Dairy Sci.*, 1989; vol. 72: pp. 1547-1556.
- 22-Horowitz M. From molecular and cellular to integrative heat defence during exposure to chronic heat. *Comp. Biochem. Physiol. Part A*, 2002; vol. 131: pp. 475-483.
- 23-IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change: AR4), 2007. The intergovernmental panel on climate change 4th assessment report, www.ipcc.ch/publications_and_data/publications_and_data_reports.htm#2.24
- 24-Johnson H.D., Ragsdale A.C., Berry I.L., Shanklin M.D. Effects of various temperature-humidity combinations on milk production of Holstein cattle. *Research bulletin n° 791*, 1962; University of Missouri, College of Agriculture, Agricultural Experimental Station, USA.
- 25-Johnson H.D., Shanklin M.D., Hahn L. Productive adaptability of Holstein cows to environmental heat. *Research bulletin n° 1060*, 1988; University of Missouri, College of Agriculture, Agricultural Experimental Station, USA.
- 26-Kadzere C.T., Murphy MR, Silanikove N, Maltz E. Heat stress in lactating dairy cows: A review. *Livest. Prod. Sci.*, 2002; vol. 77: pp. 59-91.
- 27-Kamwanja L.A., Chase C.C., Gutierrez J.A., Guerriero V., Olson T.A., Hammond A.C., Hansen P.J. Responses of bovine lymphocytes to heat shock as modified by breed and antioxidant status. *J. Anim. Sci.*, 1994; vol. 72: pp. 438-444.
- 28-Lacetera N., Bernabucci U., Ronchi B., Nardone A. Body condition score, metabolic status and milk production of early lactating dairy cows exposed to warm environment. *Rivista di agricoltura subtropicale e tropicale*. 1996; vol. 90: pp. 43-55.
- 29-Lacetera N., Bernabucci U., Ronchi B., Scalia D., Nardone A. Moderate summer heat stress does not modify immunological parameters of Holstein dairy cows. *Int. J. Biometeorol.*, 2002; vol. 46: pp. 33-37.
- 30-Lacetera N., Bernabucci U., Scalia D., Ronchi B., Kuzminsky G., Nardone A. Lymphocyte functions in dairy cows in hot environment. *Int. J. Biometeorol.*, 2005; vol. 50: pp. 105-110.
- 31-Lambert G.P. Stress induced gastrointestinal barrier dysfunction and its inflammatory effects. *J. Anim. Sci.*, 2009; vol. 87: pp. E101-E108.
- 32-Lambert G.P., Gisolfi C.V., Berg D.J., Moseley P.L., Oberley L.V., Kregel K.C. Selected contribution: hyperthermia-induced intestinal permeability and the role of oxidative and nitrosative stress. *J. Appl. Physiol.*, 2002; vol. 92: pp. 1750-1761.
- 33-Nardone A., Lacetera N., Ronchi B., Bernabucci U. Effetto dello stress da caldo sulla produzione di latte e sulla ingestione di alimenti in vacche Holstein. *Prod. Anim.*, 1992; vol. 5: pp. 1-15.
- 34-Nardone A., Lacetera N.G., Bernabucci U., Ronchi B. Composition of colostrum from dairy heifers exposed to high air temperatures during late pregnancy and early postpartum

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 5

period. *J. Dairy Sci.*, 1997; vol. 80: pp. 838-844.

35-Nardone A., Ronchi B., Lacetera N., Bernabucci U. Climatic effects on productive traits in livestock. *Vet. Res. Comm.*, 2006; vol. 30, n. 1: pp.75-81.

36-Nardone A., Ronchi B., Lacetera N., Ranieri M.S., Bernabucci U. Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems. *Liv. Sci.*, 2010; vol. 13: pp. 57-69.

37-Patz J.A., Olson S.H. Climate change and health: global to local influences on disease risk. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 2006; vol. 100: pp. 535-549.

38-Pearce S.C., Lonergan S.M., Huff-Lonergan E., Baumgard L.H., Gabler N.K. Acute heat stress and reduced nutrient intake alter intestinal proteomic profile and gene expression in pigs. *PLoS ONE*, 2015; vol. 10, n 11: pp. e0143099.

39-Purse B.V., Mellor P.S., Rogers D.J., Samuel A.R., Mertens P.P.C., Baylis M. Climate change and the recent emergence of bluetongue in Europe. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2005; vol. 3: pp. 171-181.

40-Ronchi B., Lacetera N. Caldo e riproduzione nei bovini da latte. *Bianco e Nero*, 1997; vol. 8: pp. 41-44.

41-Signalini M., Bernabucci U., Vitali A., Nardone A., Lacetera N. Temperature humidity index scenarios in the Mediterranean basin. *Int. J. Biometeorol.*, 2013; vol. 57: pp. 451-458.

42-Soper F., Muscoplat C.C., Johnson D.W.

In vitro stimulation of bovine peripheral blood lymphocytes: analysis of variation of lymphocyte blastogenic response in normal dairy cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 1978; vol., 39: pp. 1039-1042.

43-Thatcher W.W., Collier R. J. Effect of heat on animal productivity. In: M Rechcigl, Jr., ed. *Handbook of agricultural productivity*, 1982; vol. II., CRC Press, Inc., Boca Raton, FL: pp. 77-105.

44-Vitali A., Signalini M., Bertocchi L., Bernabucci U., Nardone A., Lacetera N. Seasonal pattern of mortality and relationships between mortality and temperature humidity index in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2009; vol. 92: pp. 3781-3790.

45-Vitali A., Lacetera N., Nardone A., Bernabucci U., Bertocchi L., Di Giuseppe E., Beltrano M.C., Esposito S. Effetto delle ondate di calore sulla mortalità nella bovina da latte. *Atti 14° Convegno nazionale di agrometeorologia*, 2011; pp. 137-138.

46-West J.W. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 2003; vol. 86: pp. 2131-2144.

47-Yeruham I., Elad D., Friedman S., Perl S. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in Israeli dairy cattle. *Epidemiol. Infect.*, 2003; vol. 131: pp. 947-955.

48-Zebeli, Q., Ametaj N. Relationships between rumen lipopolysaccharide and mediators of inflammatory response with milk fat production and efficiency in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2009; vol. 92: pp. 3800-3809.

PATOLOGIE ABOMASALI

La dislocazione abomasale

VIDEO E MATERIALE
ACCESSORIO ON LINE

Livio Prati*, Cristiano Barisani**

* Medico veterinario libero professionista, Viadana (MN)

** Medico veterinario libero professionista, Canneto sull'Oglio (MN)

RIASSUNTO

La dislocazione dell'abomaso appartiene al gruppo delle patologie metaboliche della transizione, in quanto può essere l'esito di tutte le patologie che si riscontrano in questo delicato momento della vita produttiva di una bovina. Diverse sono le possibili varianti: dislocazione abomasale a sinistra, dislocazione abomasale a destra, volvolo intestinale.

Parole chiave: abomaso, dislocazione, volvolo intestinale, trattamento, chirurgia, bovine da latte.

SUMMARY

Abomasal displacement

Abomasal displacement belongs to transition metabolic diseases, as it can be the outcome of all pathologies observed in this delicate phase of a cow productive life. There are several possible variants: left abomasal displacement, right abomasal displacement, intestinal volvulus.

Keywords: abomasum, displacement, intestinal volvulus, treatment, surgery, dairy cattle.

Oggi la problematica delle malattie metaboliche legate alla transizione è tale che molti allevatori per la rimonta preferiscono acquistare bovine in lattazione anziché bovine gravide di 6-7 mesi. E ciò nonostante questa pratica richieda un investimento iniziale più elevato di quasi un terzo.

La dislocazione dell'abomaso (DA) nelle sue tre varianti, dislocazione a sinistra (la più frequente), dislocazione a destra e il volvolo abomasale (la più grave), si inserisce a pieno titolo tra le patologie metaboliche della transizione. Può infatti essere spesso l'epilogo di tutte le patologie della transizione, dalle distocie, all'ipocalcemia, passando ovviamente per la chetosi e l'acidosi ruminale subacuta.

Cenni storici

La DA è stata riconosciuta e descritta per la prima volta nel 1950 da Beeg, in Inghilterra. Successivamente, venne anche riconosciuta e studiata da Muller (1956) in Germania, da Sali (1962) in Italia e da altri autori nel mondo. Ritenuta negli anni Settanta una patologia sporadica, si è dimostrata poi con un'incidenza sicuramente superiore alle aspettative e alle conoscenze dell'epoca. Le implicazioni della notevole diffusione della patologia sono legate per diversi fattori allo straordinario sviluppo della zootecnia moderna della bovina da latte, quale la selezione genetica verso un nuovo tipo costituzionale, nuove tecnologie alimentari e nuove tecniche di allevamento.

Frequenza

Nella zootecnia moderna, si può azzardare che l'incidenza in percentuale della DA in una mandria nelle prime 3 settimane dopo il parto si aggiri intorno al 4%, con punte, in alcuni casi, del 10% degli animali in mungitura. Questo indipendentemente dalle varie metodologie di alimentazione delle bovine (produzione Grana Padano o Parmigiano Reggiano).

Posizione normale dell'abomaso

In condizioni normali (sacco a forma di pera) è posto sul fondo della cavità addominale e, più precisamente, il corpo è per la maggiore parte a sinistra della linea mediana e la porzione pilorica a destra. Circonda l'omaso e si porta verso la porzione costo-condrale destra. Cranialmente è ancorato saldamente tramite l'ostio omaso-abomasale, mentre la parte distale dell'organo è abbastanza mobile a causa della lassità dell'omento, particolarmente lungo. Il *fundus*, si porta a sinistra del rumine, sino alla parete costo-addominale sinistra.

Eziopatogenesi

Tre sono le precondizioni che favoriscono l'insorgenza della DA [10]:

- disponibilità di spazio in addome;
- ipotonia dell'abomaso;
- presenza abbondante di gas nel lume dell'abomaso.

1. Disponibilità di spazio in addome

È sicuramente una precondizione fondamentale che, fisiologicamente, si verifica dopo il parto. Lo stato di replezione ruminale diventa così un elemento chiave e tutto ciò che lo ostacola è un fattore di rischio per la DA. Si va quindi da fattori che riducono l'ingestione nella transizione legati alla bovina, come zoppie, elevato BCS, gravidanze gemellari, distocie a fattori legati alla razione come scarsa NDF, eccessi di concentrati, alimenti troppo ricchi in butirrati, squilibri minerali, cambi di razione troppo bruschi e micotossine, fino a fattori legati all'ambiente, come sovraffollamento, stress termico, eccessiva ventosità, scarsa disponibilità di acqua.

2. Ipotonia dell'abomaso

L'ipotonicità dell'abomaso è la condizione che permette la distensione delle viscere da parte dei gas (CO₂ e CH₄) che raggiungono l'organo o che qui si producono [13].

Formazione a distanza

Tra i fattori che sono in grado di ridurre la tonicità dell'abomaso si devono ricordare le alte concentrazioni di VFA, sia nel rumine sia nell'abomaso (in particolare l'acido butirrico), gli elevati livelli di endotossine [1], l'alcalosi metabolica, le lesioni del nervo vago e, per ultime, le ipocalcemie cliniche e subcliniche. A proposito delle ipocalcemie, è bene precisare che già livelli di Ca sierico pari a 2 mmol/l sono in grado di dare riduzione dell'attività ruminale, mentre si deve arrivare a 1,2 mmol/l per avere anche la riduzione dell'attività muscolare dell'abomaso [19]. L'ipocalcemia sembra anche in grado di ridurre la produzione di HCl a livello abomasale.

Nell'immediato post parto, la transizione alimentare verso una dieta con maggior densità energetica e proteica comporta un aumento improvviso della produzione di VFA, che spesso non vengono velocemente assorbiti dalla parete ruminale e, quindi, si accumulano, innalzando la pressione osmotica del contenuto ruminale, con conseguente riduzione dell'ingestione di sostanza secca, mediata anche da un aumentato assorbimento delle endotossine presenti.

La risposta fisiologica del rumine è un aumento dell'ingestione di acqua, che però riduce ancora l'assorbimento dei VFA. La conseguenza è un aumentato flusso di acqua e VFA verso l'abomaso, che si sovradistende. Il nervo vago o il sistema NCNA (*Non Cholinergic Non Adrenergic*) possono rispondere a questa sovradistensione con un'ulteriore riduzione della motilità del viscere [18].

Tra le cause di ridotta motilità, inoltre, non si devono dimenticare le ulcere abomasali e le infiammazioni dell'organo, conseguenti a presenza di materiale grossolano e abrasivo, come sabbia e ghiaia.

3. Presenza di gas

I gas presenti nell'abomaso hanno il duplice effetto di sovradistendere l'organo e favorire la galleggiabilità rispetto ai visceri circostanti. La parete dell'abomaso è in grado di assorbire in parte l'anidride carbonica presente; tant'è, che mentre nel rumine il rapporto CO_2/CH_4 è pari a 2, nell'abomaso tale rapporto scende a 0,4. Il fattore di rischio principale per la presenza di gas è legato all'aumento dei concentrati nella razione post parto. Bisogna infatti ricordare che se 1 kg di fieno, durante la fermentazione ruminale, genera circa 0,5 l/ora di gas, 1 kg di concentrati genera 2 l/ora di gas. La somministrazione dei concentrati, inoltre, sposta il rapporto CO_2/CH_4 ancora di più a favore del CH_4 . A questo bisogna aggiungere che, un pH abomasale maggiore di 5,5 permette la prosecuzione delle fermentazioni e, quindi, la produzione locale di gas.

Diagnosi

1. Sintomatologia

Effettuare una dettagliata anamnesi, aiuta a formulare una diagnosi corretta (recente parto, inappetenza/disappetenza, bassa produzione latte, dimagrimento, alterazione delle feci, apatia, ipotonia generale).

L'addome si presenta teso, la fossa del fianco sinistro è infossata (scarso riempimento ruminale), si riscontra la possibilità di rilevare la cupola dell'abomaso debordante dall'arcata costale (elevata dilatazione) e si rileva alterazione dei rumori e dell'attività ruminale.

Da un punto di vista biochimico, l'animale dislocato presenta ipocloremia, ipokaliemia e alcalosi metabolica. L'HCl viene intrappolato all'interno dell'abomaso e, in alcuni casi, può refluire nel rumine. L'ipokaliemia è aumentata dalla diminuzione dell'ingestione di fieno e la disidratazione aumenta la secrezione di aldosterone, con susseguente escrezione di K da parte del rene; lo spostamento del K dallo spazio intracellulare in scambio con H^+ determina la stabilizzazione del pH.

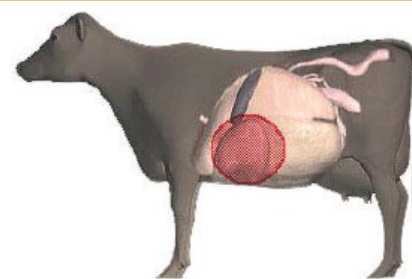
2. Auscultazione e percussione

La DA è diagnosticata principalmente con percussione e auscultazione combinata per evidenziare il "ping" o "steelband effect" tra gli ultimi spazi intercostali e la fossa del fianco (zona di proiezione dell'organo dislocato), imputabile alla presenza di gas nel viscere dilatato (finestre 1 e 2 e video 1 e 2 *on line**, figure 1-5).

3. Ecografia

Viene usata solitamente una sonda curvilinea di 3,5 MHz, iniziando la ricerca dalla porzione ventrale dell'addome e spostandosi poi verso il fianco sinistro. L'animale deve essere tricotomizzato e si deve usare gel ecografico. È possibile utilizzare anche una sonda di 5

Figura 1. Abomaso basso e poco dilatato

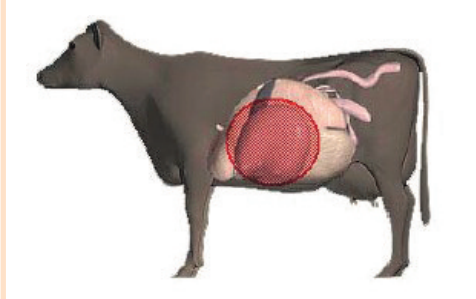


Ping nella zona rossa (Università di Montréal).



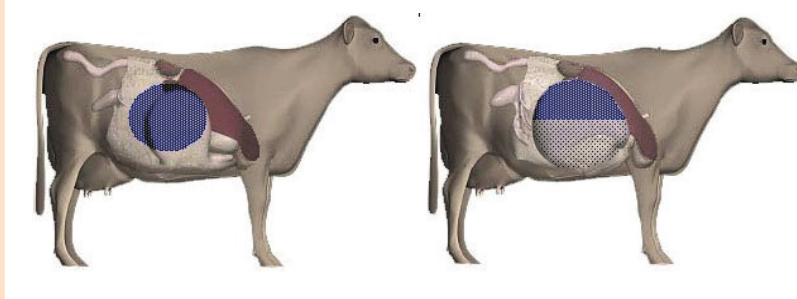
Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 6

Figura 2. Dilatazione classica dell'abomaso



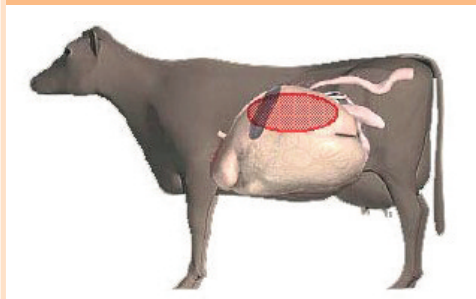
Ping nella zona rossa (Università di Montréal).

Figura 4-5. Zona del ping nel volvolo abomasale (RDA)



La linea del liquido spiega la positività alla succussione (Università di Montréal).

Figura 3. Dilatazione ruminale



Ping nella zona rossa (Università di Montréal).

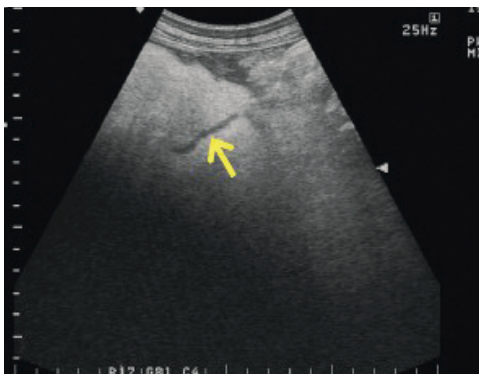


Foto 2. Piega della mucosa (foto Università di Montréal).

MHz, qualora l'animale lo consenta (animale magro). L'abomaso viene identificato mettendo in risalto il contenuto eterogeneo, il movimento delle ingesta, le pieghe della mucosa e identificando l'antro pilorico, naturalmente sul fianco sinistro per l'LDA e sul fianco destro per l'RDA, seguendo l'ombra di proiezione dell'organo dislocato (video 5 *on line**** e foto 1, 2 e 3) [5, 21, 26].

4. Abomasocentesi

Viene eseguita quando l'abomaso è piccolo e poco dilatato e non è possibile eseguire l'ultrasonografia, mentre auscultazione e percussione non sono così univoci.

Si usa un ago di 10cm 16G di diametro e le cartine tornasole; il liquido raccolto deve avere un pH < 2; se si dovesse rilevare un pH > 5, è stato sicuramente raccolto liquido ruminale (foto 4).

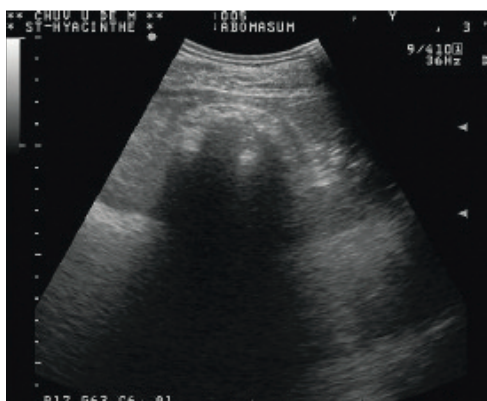


Foto 1. Antro pilorico e abomaso (foto Università di Montréal).

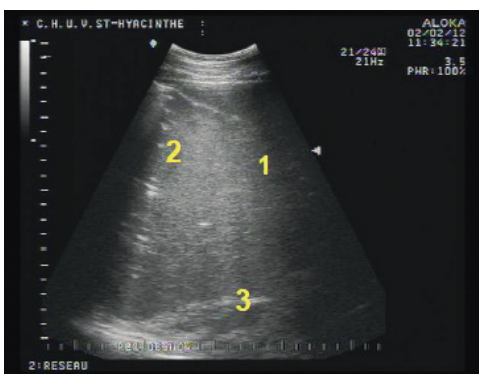


Foto 3. Ecografia sul fianco sinistro: abomaso dislocato a sinistra. 1. Fluido; 2. Gas; 3. Piega della mucosa (foto Università di Montréal).



Formazione a distanza

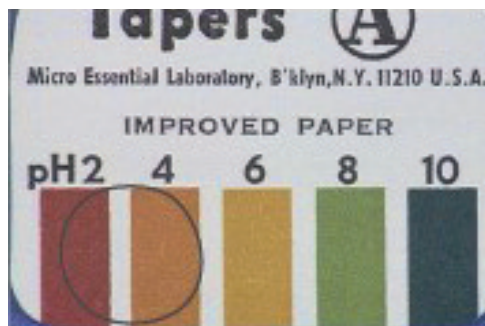


Foto 4. Scala colorimetrica; pH con carta al tornasole.

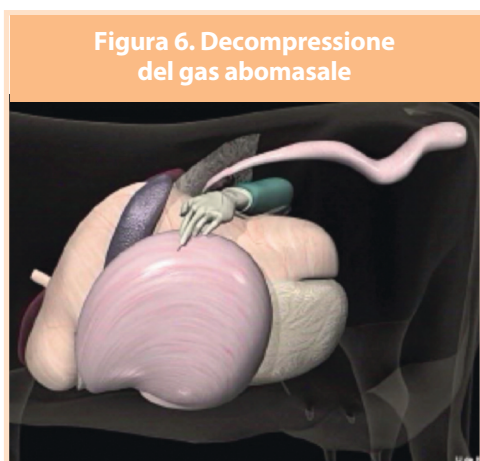
Dislocazione abomasale destra (RDA) e volvolo abomasale (AV)

Disturbo digestivo acuto con dilatazione del corpo abomasale, aumento del contenuto gassoso, spostamento caudo-dorsale tra parete addominale destra e pacchetto intestinale, torsione (<math><180^\circ</math>) o volvolo (360°) dell'organo. Il corpo abomasale ruota mediamente, davanti alla *pars pilorica*, spingendosi cranio-dorsalmente. Si registra un'incidenza di circa 1 AV ogni 7 RDA.

È una patologia che interessa anche gli animali da carne giovani e, in particolare, verso i 10 mesi di vita.

La morte nel post operatorio può essere dovuta a shock cardiovascolare, grave squilibrio elettrolitico, necrosi abomasale sulla zona di torsione, peritoniti e lesioni del nervo vago. L'RDA viene classificata in base al piano longitudinale di torsione e all'asse dell'omento.

L'AV può essere anche classificato in base ai visceri che vengono coinvolti nel volvolo. Tipica è la torsione dell'asse longitudinale in senso antiorario. Prima di eseguire il trattamento chirurgico, è consigliabile un supporto terapeutico (finestra 3 *on line**).



I segni di AV sono i seguenti:

- vacca molto debole, addome acuto e tachicardia;
- dilatazione del fianco destro;
- abomaso dilatato e teso alla palpazione rettale;
- ipocloremia, ipokaliemia;
- alcalosi metabolica dovuta al sequestro degli acidi gastrici;
- abomaso: può contenere anche fino a 50 l di materiale liquido;
- volvolo: può causare gravi e potenzialmente fatali danni alla circolazione ematica nella zona di torsione; la parete diventa ischiemica, rosso-violacea, poi bluastro e, infine, nerastra. In seguito, si può avere la rottura dell'organo.

Approccio chirurgico alla dislocazione abomasale sinistra

Sono descritte diverse tecniche per risolvere la dislocazione abomasale: omentopessi dal fianco destro, abomasopessi dal fianco sinistro (Utrecht), abomasopessi percutanea (Grimmer e Stern), abomasopessi laparoscopica (Janowitz) e abomasopessi laparoscopica *one step* (Barisani). Ogni tecnica ha vantaggi e svantaggi; l'importante è avere la padronanza di più tecniche per poter intervenire chirurgicamente in base alle differenti condizioni dell'abomaso, della bovina e del suo valore economico. In questo dossier, si descrive la tecnica di gran lunga più utilizzata in campo per l'LDA, l'RDA e l'AV. Per le altre tecniche, saranno elencati vantaggi e svantaggi (finestre 4, 5 e 6 *on line**).

Omentopessi dal fianco destro

L'omentopessi deve essere eseguita a circa 5-7 cm caudalmente e dorsalmente al piloro.

1. Tecnica operatoria

Si esegue anestesia locale con lidocaina al 2% nell'area d'interesse dell'incisione, oppure si può eseguire paravertebrale prossimale o distale, L rovesciata.

Si esegue un'incisione di circa 20 cm nella fossa paralombare destra, a circa 7-10 cm caudalmente all'ultima costa (circa un palmo della mano) e 10-12 cm dai processi trasversi delle vertebre lombari. Si incide la cute e si scontinua i muscoli obliquo esterno, obliquo interno e trasverso dell'addome, sino ad arrivare al peritoneo. Si incide il peritoneo ponendo attenzione a non lesionare gli organi sottostanti.

L'addome è completamente esplorabile (reni, fegato, colecisti, omaso, reticolo, intestino, utero, linfonodi e parete ruminale) con il braccio sinistro.



Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 6

Si passa attraverso la breccia operatoria con il braccio sinistro, passando caudalmente e dorsalmente al rumine, fino a localizzare l'abomaso dislocato tra la parete addominale sinistra e il rumine. Con un ago 14G collegato a una cannula di materiale plastico, si procede alla decompressione dell'abomaso, introducendo l'ago nella porzione più dorsale della bolla del gas abomasale (video 6 *on line*^{*,**} e figura 6) [25, 24].

Una volta terminata la completa decompressione del materiale gassoso presente nell'abomaso, si trascina/si spinge l'organo dal fianco sinistro a destra, passando sotto il sacco ventrale del rumine. È molto importante manipolare l'omento con delicatezza, per non determinare lesioni ed emorragie, in particolare in presenza di omento particolarmente grasso (omento molto fragile). A questo punto, con la mano sinistra si reperisce il piloro e, tirandolo con cura, lo si esteriorizza dalla breccia operatoria e si esegue la sutura dell'omento al peritoneo e al muscolo trasverso della breccia operatoria. La sutura continua deve dare stabilità all'organo e si esegue a circa 5-7 cm caudalmente e dorsalmente all'antro del piloro abomasale (foto 5).

Alcune volte, si preferisce effettuare al posto dell'omentopessi una piloropessi, qualora vi sia una condizione di eccessivo infarcimento di tessuto adiposo nel grande omento. In questo caso, si esegue una sutura ventrocraniale della parete del piloro alla porzione ventrale della breccia operatoria. La sutura del piloro deve essere eseguita senza mai arrivare con l'ago nel lume dello stesso, rimanendo all'interno dello spessore della parete; la stessa deve essere eseguita più in basso possibile, fissando il piloro alla breccia operatoria, per limitare le torsioni dell'organo (video 7-10 *on line*^{*,***} e figura 7). La sutura viene poi terminata con la completa chiusura della parete addominale.

2. Vantaggi

- L'animale viene operato in stazione quadrupedale.
- È possibile intervenire per la riduzione di LDA, RDA e AV.
- Buona esplorazione dell'addome.
- La manipolazione e il riposizionamento non causano lesioni all'abomaso.
- La tecnica permette di verificare la presenza di una torsione in AV e la relativa risoluzione.

3. Svantaggi:

- Tecnica impegnativa.
- Difficoltà per le prime volte nel far passare

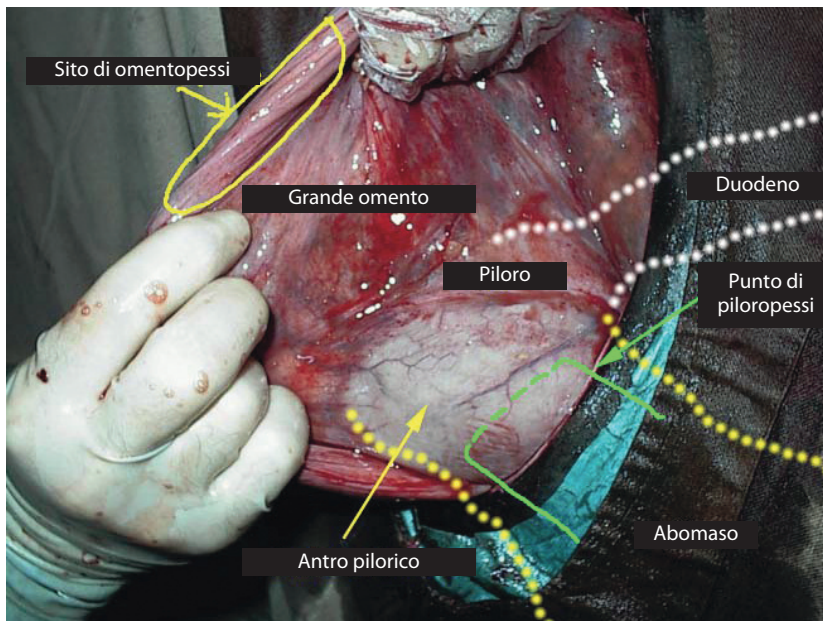
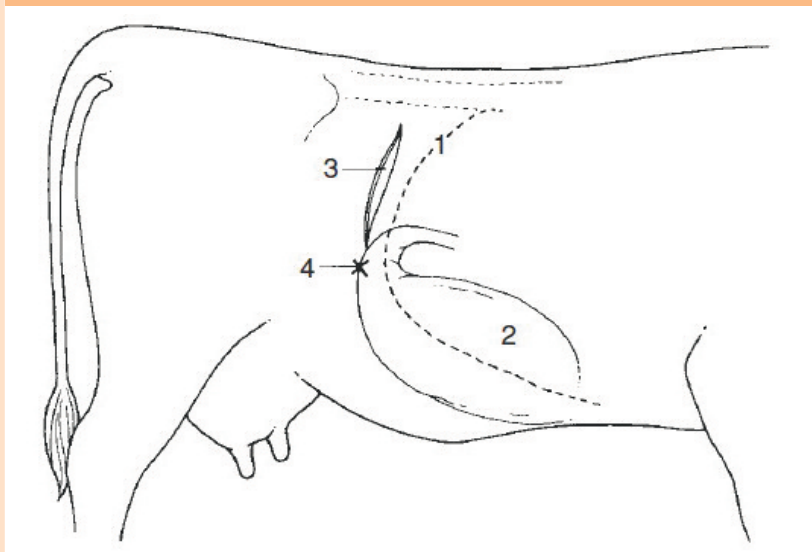


Foto 5. Antro piloro e abomaso esteriorizzato dalla breccia operatoria (foto Università di Montréal).

Figura 7. Schema del fianco destro che indica il sito di laparotomia per l'abomasopessi al fianco destro



1. Margine costale; 2. Fondo e corpo dell'abomaso; 3. Incisione del fianco; 4. Sito di abomasopessi (x) con sutura alla parete addominale (Università di Montréal).

l'abomaso dal lato sinistro al lato destro dell'addome e nel rilevare il piloro.

- Può dare frequente recidiva se la pessi viene fatta troppo caudalmente o dorsalmente al piloro.
- Difficoltà nella sutura della pessi quando l'omento è particolarmente grasso.
- Difficoltà nel visualizzare l'abomaso.



Formazione a distanza

Risultati

È parere degli autori che non sia un compito facile valutare l'esito della risoluzione chirurgica della DA, visto che spesso sono presenti patologie concomitanti che possono agire da fattori di confondimento.

Le patologie che impediscono il ritorno in produzione sono riconducibili a shock endotossici (soprattutto nelle torsioni abomasali destre), lesioni della parete abomasale (ulcere e/o perforazioni), insorgenza della sindrome di Hoflund in conseguenza di tensioni sul nervo vago durante le torsioni, presenza di aderenze che impediscono un corretto riposizionamento, peritoniti post chirurgiche e recidive.

Sempre queste patologie, anche se in forma meno grave, possono contribuire a un ritorno in produzione con scarse *performances*.

Un recente studio ha comunque confermato un miglior recupero con le tecniche endoscopiche rispetto all'omentopessi per via laparotomica destra [24].

1. Dislocazione abomasale destra

Circa il 15% delle bovine operate per RDA non torna in produzione. Per il restante 85% la produzione è ritenuta, a 6 mesi dall'intervento, buona nel 67% dei casi, accettabile nel 25,5 e scarsa nel 7,5 % [20].

2. Dislocazione abomasale sinistra

Circa il 10% delle bovine operate per LDA non torna in produzione.

3. Valori preoperatori prognostici del risultato post operatorio

- Lattato: per quel che riguarda le RDA, le bovine con esito post operatorio negativo avevano una media di 5,88 mmol/l contro una media di 3,23 mmol/l delle bovine con esito post chirurgico positivo [6]. Un'elevata lattatemia è però il risultato di una minor perfusione tissutale, con aumento della glicolisi anaerobica. Si può quindi migliorare il risultato post operatorio con un'intensa fluidoterapia.

- Frequenza cardiaca: una frequenza cardiaca elevata (>90 bpm) è sempre un fattore prognostico sfavorevole per l'esito post chirurgico, soprattutto se associata a una lattatemia molto elevata (>6 mmol/l), almeno nell'RDA [4].

- Glicemia: uno studio polacco riporta che le bovine con esito post chirurgico negativo hanno una glicemia media pari a 91 mg/dl contro 53 mg/dl di quelle con esito positivo.

3. Valutazione delle perdite economiche

Le perdite economiche legate alla dislocazione dell'abomaso sono riconducibili a diversi fattori,

quali il costo della prestazione chirurgica e della terapia farmacologica, la mancata produzione, il latte scartato, il costo della riforma e i costi riproduttivi (finestra 7 *on line**).

Prevenzione

Poiché quasi il 90% delle DA insorge nei primi giorni post parto, è evidente che è nella fase di transizione che si giocano tutte le possibilità di ridurre l'incidenza di questa patologia. E siccome la DA è spesso la conseguenza finale di altre patologie post parto, ecco che il lavoro fatto per ridurre l'incidenza della DA apporta all'allevatore benefici aggiuntivi, in quanto si ottiene anche un calo di quelle patologie post parto che, come detto, possono avere come esito finale proprio la DA.

Come precedentemente ricordato, uno dei punti principali da controllare per ridurre l'incidenza della DA è il BCS al parto, in quanto esiste una diretta relazione tra BCS al parto e DA [22]:

- BCS = 2,75-3,25: incidenza DA = 3,1%;
- BCS = 3,25-3,75: incidenza DA = 6,3%;
- BCS >3,75: incidenza DA = 8,2%.

Un BCS elevato espone infatti la bovina a un aumentato rischio sia per la chetosi sia per la lipidosi epatica.

Il controllo del BCS deve iniziare già nell'ultima fase della lattazione, con un'alimentazione che eviti un eccessivo accumulo di riserve corporee, errore in cui si può facilmente incorrere in questa fase produttiva. Lo spostamento del quadro ormonale con un aumento dell'insulina, infatti, favorisce la lipodeposizione. Questo a motivo del fatto che non solo il BCS al parto è importante ai fini della prevenzione della DA ma anche la variazione del BCS durante l'asciutta è un fattore che può condizionare l'incidenza della DA.

Infatti, variazioni sia in eccesso sia in difetto, se troppo elevate (>0,5 punti), sono in grado di aumentare l'incidenza della DA (finestra 8 *on line**).

Il monitoraggio del BCS all'asciutta, al parto e a 30 giorni post parto, quindi, può permettere di valutare il rischio legato alle variazioni del medesimo. Dal punto di vista laboratoristico, il monitoraggio dei NEFA negli ultimi 10 giorni preparto e del BHB a circa 5-12 giorni post parto ci fornisce un'ottima valutazione del rischio di DA [11]:

- NEFA <250 mmol/l: 3,8%;
- NEFA 250-400 mmol/l: 6,0%;
- NEFA >400 mmol/l: 10,8%;
- BHB >1,4 mmol/l: aumenta da 3 a 8 volte la probabilità di DA.

Come già accennato, anche la forma fisica della

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 6

razione durante la transizione è fondamentale, poiché la possibilità di scegliere in greppia o una razione con scarsa peNDF sono una porta aperta per l'insorgenza della SARA che sarà poi un importante fattore di rischio per un'eventuale DA.

Nelle diete della transizione è essenziale che nel setaccio superiore del PSPS rimanga almeno l'8-10% della razione e che la SS non sia più del 55%, al fine di garantire un adeguato materasso di fibra a livello ruminale, per evitare una velocità eccessiva delle fermentazioni.

È stato osservato che, nelle ultime 4 settimane preparto e nelle prime 4 post parto, diete con diverse percentuali di foraggi, dal 75, 60, 45 e 30% della SS, esitano in percentuali di DA che variano dallo 0 per il 75% al 16,7% per il 60% fino al 40 e 36% per quelle al 45 e al 30%, rispettivamente [9].

Il consiglio è dunque quello di raggiungere un'elevata percentuale di fibra nella razione, ma con alimenti ad alta digeribilità ruminale, come buccette di soia o polpe di barbabietola.

In pratica, bisognerebbe sempre restare sopra il 40-50% di NDF (dallo 0,7 al 0,8% di peso corporeo) nel preparto e rispettare una NDF minima del 21-23 % nel post parto.

Lo scarso riempimento del rumine, quindi, è un importante fattore di rischio per la DA. Le bovine che non cambiano il loro *rumen fill score* negli ultimi 15 giorni preparto hanno una riduzione significativa dei problemi metabolici nel post parto e, quindi, anche delle dislocazioni abomasali.

Un altro punto cardine è il controllo del bilancio minerale della razione da asciutta. L'ipopotassiemia riduce la capacità dell'insulina di far entrare il glucosio nelle cellule e, quindi, aumenta la probabilità di insorgenza della chetosi. L'ipocalcemia riduce a sua volta la motilità ruminale e abomasale e, pertanto, favorisce anch'essa la possibilità di dislocazione.

Tra le cause non nutrizionali legate alla bovina e che costituiscono un fattore di rischio per la DA vi sono le gravidanze gemellari (O.R. 4,8), la natimortalità (O.R. 2,0), le distocie al parto e il periodo dell'asciutta superiore a 70 giorni.

Preparazione del paziente all'intervento

La preparazione dell'area interessata all'intervento è volta a limitare le possibili infezioni della stessa, anche se è impossibile, nelle condizioni di campo in cui si opera, rendere sterile la stessa. L'intento è comunque quello di contenere la carica batterica in prossimità della breccia operatoria. La preparazione della zona interessata all'intervento passa per tre fasi: tri-

cotomia, pulizia e disinfezione del campo operatorio (finestra 9 *on line**).

1. Dislocazione destra (RDA) e volvolo abomasale (AV)

L'approccio chirurgico (laparotomia sul fianco destro) è la stessa descritta per la risoluzione dell'LDA; durante l'incisione del peritoneo si deve fare molta attenzione a non lesionare la parete dell'abomaso che, il più delle volte, essendo molto dilatato, si trova appoggiato intimamente allo stesso. Una volta aperta completamente la breccia operatoria, si controlla l'organo e si verifica la zona di torsione, per poi poter detorcere l'organo (foto 6).

Verificata la torsione, si procede allo svuotamento della componente gassosa contenuta nell'abomaso con un ago 14G collegato a una cannula di materiale plastico; quindi, si procede al riposizionamento dell'organo.

In presenza di AV, prima di procedere alla rimozione del gas abomasale, è importante verificare la torsione e la sua natura (oraria o antioraria e se comprende altri visceri) per poter poi eseguire il corretto riposizionamento (video 11 e 12 *on line*,***).

L'abomaso è delicatamente spostato in avanti per permettere che i fluidi sequestrati al suo interno possano muoversi cranialmente; poi, viene delicatamente sollevato e spinto cranialmente per poter detorcere il volvolo e rilasciare il piloro e il duodeno. Successivamente, il volvolo abomasale viene ridotto spingendo l'abomaso cranialmente e lateralmente, poi ventralmente,

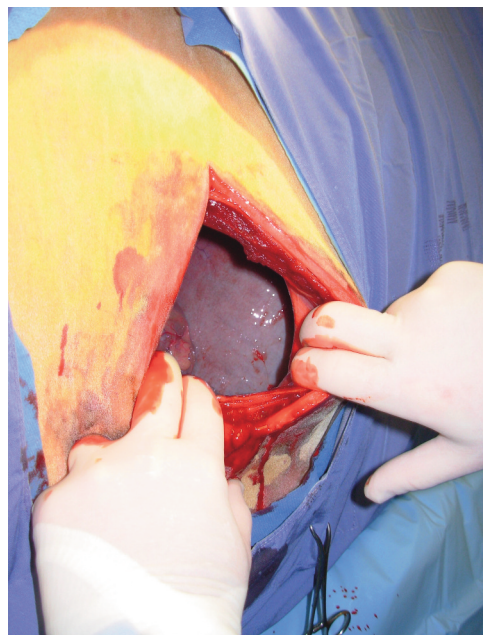
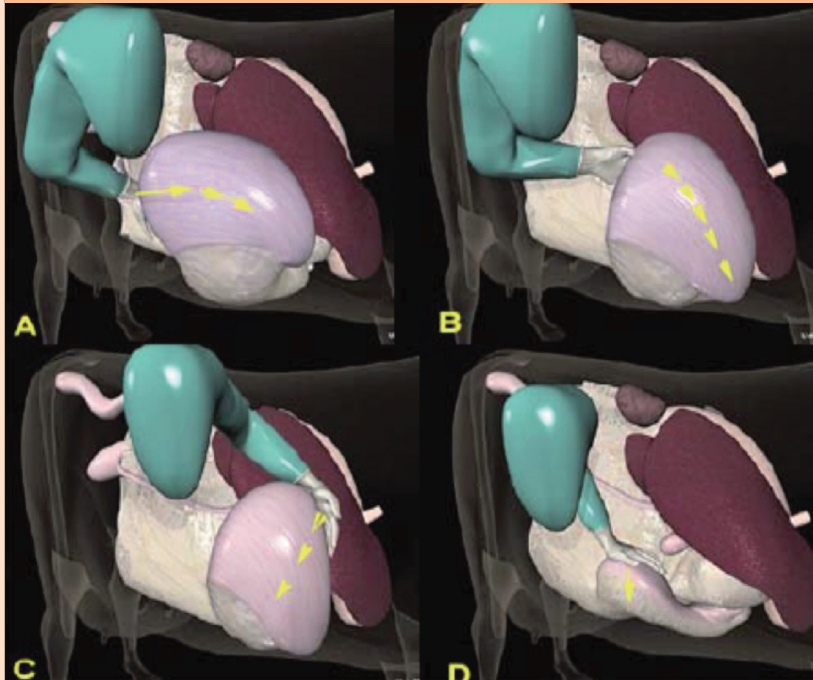


Foto 6. RDA con abomaso molto dilatato (foto Università di Montréal).

Formazione a distanza

Figura 8. Riposizionamento di un volvolo abomasale



(Università di Montréal).

nella sua normale posizione (figura 9).

Si termina l'intervento chirurgico fissando l'abomaso con una normale omentopessi alla breccia operatoria e si termina con la ricostruzione dei piani muscolari e cutaneo. Importante è conoscere anche le possibili complicazioni post operatorie (finestra 10 *on line**) e gli indicatori di prognosi scarsa pre- o post intervento (finestra 11 *on line**).

2. Abomasopessi al fianco sinistro (Utrecht)

La zona di ancoraggio ventrale della sutura dell'abomaso viene evidenziata e preparata prima di effettuare l'intervento, mediante tricotomia e disinfezione. La zona interessata è la zona epigastrica destra (a destra della linea ventrale mediana, circa 20 cm caudalmente dallo sterno) [15].

Si esegue un'incisione di circa 20 cm nella fossa paralombare sinistra, in posizione leggermente più bassa rispetto a una normale laparotomia al fianco sinistro, per poter raggiungere al meglio la cupola dell'abomaso. La grande curvatura dell'abomaso viene parzialmente esteriorizzata per poter eseguire una sutura continua da materassiaio intraparietale, con filo non riassorbibile (USP 4-6) abbastanza lungo (circa 2 metri), per circa 10 cm e a circa 5 cm dalla giunzione con il

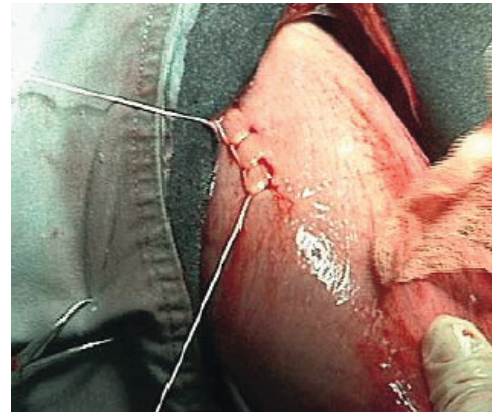


Foto 7. Sutura dell'abomaso (foto Università di Montréal).

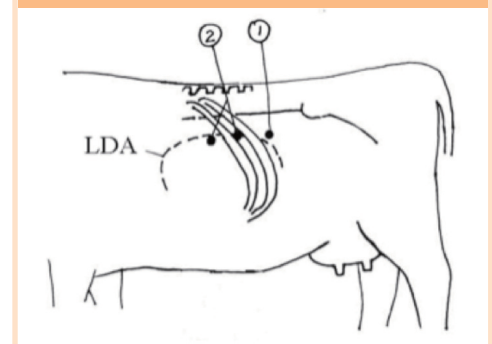
grande omento; le due estremità del filo, di eguale lunghezza, vengono ancorate ognuna a un grosso ago (8-10 cm) (foto 7).

L'abomaso dilatato viene decompresso utilizzando un ago collegato a una cannula di silicone all'esterno. A questo punto, si fa passare l'ago con il capo dell'estremità craniale dell'omentopessi attraverso la parete addominale ventrale a destra della linea mediana, circa 20 cm davanti all'ombelico; il secondo ago, con l'altro capo del filo, si fa passare 10 cm caudalmente al primo ago, sempre attraverso la parete addominale, facendosi aiutare da un collaboratore. Dopo aver fatto passare il secondo ago, il collaboratore prende entrambe le porzioni libere dei fili facendo una leggera trazione; nel frattempo, il chirurgo aiuta dall'interno dell'addome il riposizionamento del viscere.

Durante il passaggio attraverso la parete addominale di entrambi i fili bisogna fare molta attenzione a non incrociare i fili all'interno dell'addome.

A questo punto l'aiutante fa passare entrambi

Figura 9. Punti in cui inserire i trocar



(C. Barisani).



Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 6



Foto 8. Set strumenti per endoscopia (foto C. Barisani).

i capi dei fili attraverso una garza e la fissa con alcuni nodi, ottenendo una giusta tensione. La sutura viene rimossa dopo circa 15 giorni.

3. Abomasopessi percutanea (Grymer e Sterner)

Si prepara una zona con tricotomia e disinfezione cutanea di 10x10 cm, a circa 20 cm dalla sterno, tra la linea mediana e la vena mammaria destra.

Si esegue una leggera sedazione dell'animale per facilitare il coricamento dello stesso sul fianco destro e il successivo rotolamento dorsale (posizione supina) con l'aiuto di corde; questa operazione viene eseguita per riposizionare l'abomaso in zona epigastrica destra.

Localizzato l'abomaso con l'aiuto di un fonendoscopio, con un piccolo tre quarti si attraversa velocemente la parete addominale e poi la parete abomasale. Dopo l'estrazione del mandrino si saggiano l'odore del gas che fuoriesce e il liquido con una cartina tornasole, per verificare che il liquido sia dell'abomaso.

Attraverso la cannula del trocar si introduce una barretta di circa 3-4 cm in polipropilene, connessa a un filo di poliamide (*toggle pin*) con l'aiuto del mandrino. Dopo l'estrazione del trocar, si prende la coda del filo appena posizionato con una pinza; un secondo *toggle pin* viene posizionato a circa 5 cm dal precedente. Entrambi i fili vengono annodati tra di loro, in modo tale che possano passare agevolmente 2-3 dita sotto di essi.

È possibile anche mettere un riferimento della distanza dalla barretta sul filo, colorando lo stesso a circa 5-7 cm dalla barretta; questo ci permetterà di dare la giusta tensione per creare un'aderenza stabile, senza determinare lesioni all'organo (necrosi da eccessiva tensione sulla parete abomasale). Si rimuovono i fili dopo circa 15 giorni.

Una corretta fissazione dell'abomaso è pos-

Finestra 12. Attrezzatura per abomasopessi laparoscopica

- Endoscopio rigido con ottica a 0°, diametro 8 mm e lunghezza 40 cm.
- Trocar e relativa cannula magnetica con *stopcock* di insufflazione (diametro 5 mm, lunghezza 120 mm), che porterà la pinza per recuperare il filo del *safety toggle*.
- Trocar (8 mm di diametro, lunghezza 120 mm) e relativa cannula che porterà l'endoscopio.
- Pinza speciale per il recupero del doppio filo di supramide del *safety toggle*, lunga 60 cm.
- Speciale tre quarti (*toggle trocar*) con relativa cannula per bucare l'abomaso e posizionarvi il *safety toggle*.
- Speciale mandrino per spingere attraverso la cannula il *safety toggle*.
- Ago Verres (diametro 2,5 mm) per insufflare aria in addome.
- Ago abomasale (diametro 2,4 mm).
- Fonte di luce fredda 150 W e pompa per aria a bassa pressione.

sibile solo se il *ping* è udibile in modo netto e costante. La percentuale di successo si aggira tra il 77 e il 90%.

4. Abomasopessi laparoscopica (Janowitz)

Questa tecnica operatoria considera due parti ben distinte: la prima con l'animale in stazione quadrupedale, al quale viene inserito il *safety toggle* nell'abomaso, che successivamente viene svuotato per decompressione; una seconda parte con l'animale in decubito dorsale, allo scopo di recuperare il filo del *safety toggle*, con successiva sua fissazione alla zona paraombelicale destra della parete addominale (foto 8 e finestra 12) [14, 2].

Con l'animale in stazione quadrupedale, vengono tricotomizzate e disinfettate due aree di circa 3 x 3 cm, la prima nell'XI spazio intercostale, a un palmo dai processi costiformi vertebrali, e la seconda nella fossa del fianco sinistro, a un palmo dall'ultima costa e dai processi trasversi delle vertebre lombari. La posizione di tali aree può essere modificata in base alle dimensioni dell'abomaso (figura 9).

Successivamente si procede all'anestesia per infiltrazione con anestetico locale.

Una volta effettuata una piccola incisione di circa 1-1,5 cm della cute, in corrispondenza della zona sopra indicata, si introduce il trocar da 8 mm con relativa cannula; attraverso lo stesso viene insufflata aria con uno *stopcock*, per indurre pneumoperitoneo, necessario per la visione interna dell'addome. Tale pneumoperitoneo consente, attraverso l'uso dell'endoscopio, di ispezionare e valutare la forma, il colore, la vascolarizzazione e la consistenza degli organi addominali (video 13 *on line**,***)

Attraverso la cannula da 8 mm, si introduce l'endoscopio rigido a luce fredda, si evidenzia



Formazione a distanza

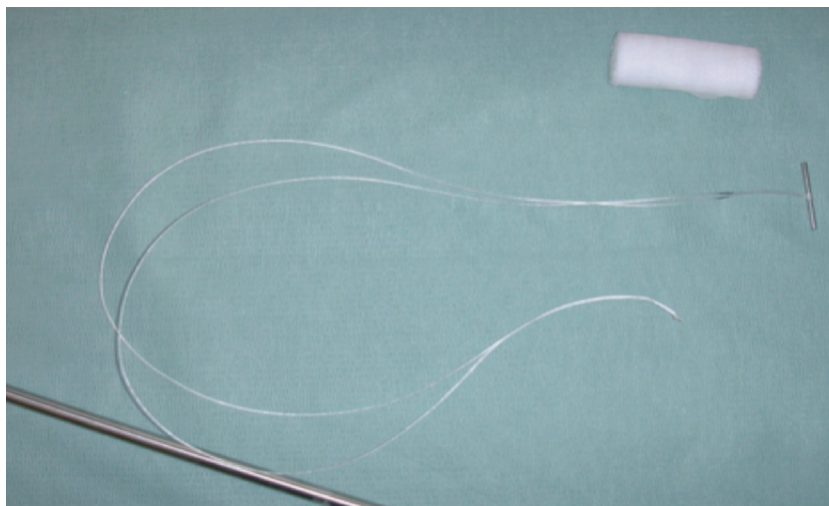


Foto 9. Safety toggle (foto C. Barisani).



Foto 10. Strumento Barisani (foto C. Barisani).

la cupola dell'abomaso dislocato a sinistra e, insieme alla sua distensione, la relativa vascolarizzazione e il colore (in condizioni normali rosato). È possibile ispezionare altri organi, quali il rumine (color bianco avorio), parte della cupola diaframmatica e la milza (colore violaceo).

Successivamente, sotto controllo endoscopico, inizia la fase di sgonfiamento dell'abomaso e di posizionamento del *safety toggle* (foto 9).

Uno speciale trequarti, del diametro di 4 mm per 400 mm di lunghezza è introdotto in adome in corrispondenza dell'area preparata, nell'XI spazio intercostale, penetrando anche nel lume abomasale. La zona in cui il trequarti deve penetrare nell'abomaso è la zona craniale, all'apice della cupola gassosa abomasale (*fundus* abomasale) (video 14 *on line**,***). Estruendo il mandrino, inizia ad uscire velocemente il gas contenuto nell'abomaso e lo

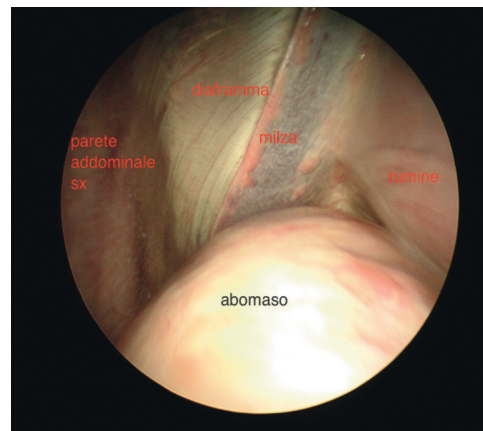


Foto 11. Abomaso dislocato sinistra (foto C. Barisani).

stesso tende a sgonfiarsi gradatamente (video 15 *on line**,***).

In questa fase, l'operatore deve effettuare rapidamente il posizionamento del *safety toggle* (barretta lunga 4 cm, collegata a un doppio filo di supramide EP7 di 80 cm di lunghezza), attraverso lo speciale trequarti utilizzato per sgonfiare l'abomaso. Il *safety toggle* è spinto dallo stesso mandrino attraverso il trequarti nell'abomaso.

Durante la decompressione, l'abomaso si porta lentamente in direzione ventrale, tra la parete addominale e il rumine; la velocità con cui l'abomaso si porta in posizione ventrale è data dal volume di gas presente e dal grado di atonia della parte muscolare dell'organo.

Successivamente, l'animale viene fatto coricare sul fianco destro e ruotandolo in senso orario si ristabilisce il riposizionamento naturale dell'organo.

Successivamente, si preparano altri due punti (tricotomia, anestesia e disinfezione) per l'inserimento dei due trocar, a un palmo a destra e sinistra della linea alba e a circa due palmi cranialmente dall'ombra ombelicale.

Nell'area di sinistra è posto il trocar con cannula da 8 mm, che permette l'inserimento dell'endoscopio, e nell'area di destra è messo il trocar con cannula da 5 mm, che permette di introdurre, all'interno dello strumento, una speciale pinza per il recupero del filo del *safety toggle*.

Il filo da recuperare, in genere, si trova appoggiato alla faccia ventrale del sacco ruminale; nel caso in cui non sia evidenziato in tale zona, è sufficiente spostare l'endoscopio per visualizzare l'intera zona ventrale, comprendente il rumine-reticolo e il pacco intestinale. La porzione terminale del filo viene afferrata con la punta della pinza speciale e



Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 6

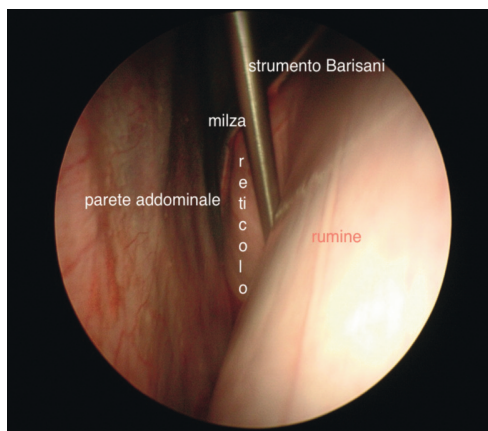


Foto 12. Posizionamento intraddominale dello strumento Barisani (foto C. Barisani).

delicatamente estratto dal trocar.

Un rotolo di garza, utilizzata come ancoraggio, impedisce al filo di rientrare all'interno dell'addome, mantenendo così l'abomaso in posizione ventrale; la garza svolge un'azione ammortizzante tra l'abomaso e la parete addominale.

Un segno precedentemente applicato al filo del *safety toggle*, posto a una distanza di 5-7,5 cm della barretta, rende la fissazione leggermente lassa, per evitare un edema da compressione, con conseguente lacerazione della parete dell'abomaso, dando in ogni modo la possibilità di creare un'aderenza stabile tra abomaso e parete addominale. La garza è rimossa dopo circa 3 settimane.

5. Abomasopessi laparoscopica one-step (Barisani)

Questa tecnica permette di coniugare due aspetti molto importanti, quali il vantaggio della laparoscopia, cioè massimo controllo nel riposizionamento e nella fissazione dell'organo (*fundus* dell'abomaso in qualsiasi condizione clinica, dimensioni del viscere e contenuto gassoso), la tecnica dell'abomasopessi percutanea (velocità e minima invasività).

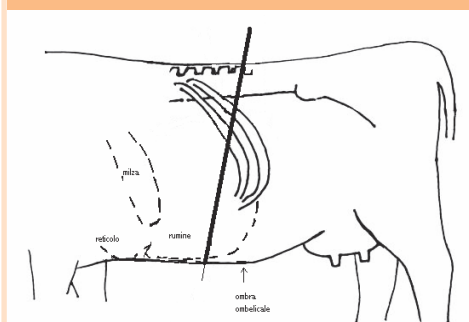
La tecnica endoscopica *one-step* in stazione quadrupedale con lo strumento Barisani si avvale di due fasi operatorie:

- introduzione del *safety toggle* nell'abomaso dislocato e successivo svuotamento del contenuto gassoso (uguale alla tecnica Janowitz);
- utilizzo dello strumento Barisani (brevetto Prot. 20737/2003, modello di utilità VA/2003/U/000022), senza far coricare l'animale, e fissazione del doppio filo del *safety toggle* alla parete addominale (foto 10 e 11) [3]. La porzione terminale del filo del *safety toggle* viene assicurato con un nodo alla cruna



Foto 13. Segno sul safety toggle (foto C. Barisani).

Figura 10. Posizionamento dello strumento Barisani



(C. Barisani).

posta sulla punta retrattile dello strumento Barisani, tagliando la porzione in eccesso. Assicurato il filo alla punta, si sblocca l'impugnatura e la si retrae attraverso lo strumento. Con l'aiuto dell'endoscopio si posiziona la porzione terminale dello strumento a livello dell'incisione reticolo-ruminale (foto 12 e figura 10).

L'operazione successiva consiste nell'esercitare una decisa pressione sul pomolo dell'impugnatura dello strumento, al fine di far fuoriuscire la punta con il filo dalla cute, in zona epigastrica destra. Si fissa poi il fermo dell'impugnatura, per far rimanere la punta all'esterno il tempo necessario ad agganciare i due capi del filo con una *klemmer* e tagliare il nodo. Quindi, si fa ritrarre la punta e rapidamente si estrae lo strumento dall'addome.

Il filo del *safety toggle* viene fermato con un rotolo di garza utilizzata come ancoraggio, che impedisce al filo di rientrare all'interno dell'addome, mantenendo così l'abomaso in posizione ventrale (zona epigastrica destra). La garza svolge un'azione ammortizzante tra



Formazione a distanza

**Materiale disponibile on line per gli utenti che hanno acquistato il percorso FAD: "Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte".*

***Video gentilmente concessi dall'Università di Montreal.*

****Video gentilmente concessi dal Dott. C. Barisani.*

*****Bibliografia completa disponibile on line.*

l'abomaso e la parete addominale. Un segno precedentemente applicato al filo del *safety toggle*, posto a una distanza di 5-7,5 cm dalla barretta, rende la fissazione leggermente lassa (video 16 *on line** e foto 13).

Questa tecnica offre la possibilità di operare l'animale in stazione quadrupedale, riducendo al minimo il disagio per l'animale e l'impiego di personale in azienda. Il bovino non subisce traumi legati al decubito forzato e alla successiva immobilizzazione; si riducono così i tempi di lavoro che ogni contenzione richiede.

L'intervento *one-step* con lo strumento Barisani viene effettuato da un solo veterinario, con tempi di intervento molto rapidi, senza bisogno di assistenza e di manovalanza. Questa tecnica, comparata alla laparotomia classica, è molto meno invasiva, riducendo notevolmente il decorso post operatorio. La tecnica endoscopica, comparata alla *roll-and-suture*, garantisce il massimo controllo nel riposizionamento e nel fissaggio dell'abomaso, evitando la possibilità di fissare il piloro (causandone stenosi) o di ledere altri organi addominali.

Bibliografia****

- 1-Andersen P.H. Bovine endotoxemia – Some aspects of relevance to production diseases. A review. *Acta Vet. Scand.*, 2003; Suppl. 98: pp. 141-155.
- 2-Barisani C. Chirurgia del bovino: approccio endoscopico alla dislocazione abomasale sinistra. Valutazione critica della tecnica Janowitz dopo 97 interventi. *Summa*, 2004; vol. 21, n. 1: pp. 11-15.
- 3-Barisani C. Chirurgia del bovino: evoluzione della tecnica di Janowitz per la risoluzione della dislocazione abomasale sinistra secondo Barisani. *Summa*, 2004; vol. 21, n. 5: pp. 35-39.
- 4-Boulay G., Francoz D., Doré E., Dufour S., Veillette M., Badillo M., Bélanger A.M., Buczinski S. Preoperative cow-side lactatemia measurement predicts negative outcome in Holstein dairy cattle with right abomasal disorders. *J. Dairy Sci.*, 2014; vol. 97, n. 1: pp. 212-221.
- 5-Braun U., Wild K., Guscetti F. Ultrasonographic examination of the abomasum of 50 cows. *Vet. Rec.*, 1997; vol. 140, n. 4: pp. 93-98.
- 6-Constable P.D. Blood lactate and pyruvate concentrations in cattle with abomasal volvulus. li-

vestocktrail.illinois.edu/uploads/dairynet/papers/BloodLactate.pdf

7-Constable P.D. et al. Preoperative prognostic indicators in cattle with abomasal volvulus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1991; vol. 198, n. 12: pp. 2077-2085.

8-Constable P.D. et al. Prognostic value of surgical and postoperative findings in cattle with abomasal volvulus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1991; vol. 199, n. 7: pp. 892-898.

9-Coppock, C.E., Noller C.H., Wolfe S.A., Callahan C.J., Baker J. S. Effect of forage concentrate ratio in complete feeds fed ad libitum on feed intake prepartum and the occurrence of abomasal displacement in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 1972; vol. 55, n. 6: pp. 783-789.

10-Drackley J.K., Guretzky N.A.J. Controlled energy diets for dry cows. *Western Dairy Management Conference*, 2007.

11-Dyk, P.B. The association of prepartum non-esterified fatty acids and body condition with peripartum health problems on 95 Michigan dairy farms. M.S. Thesis, Michigan State Univ., 1995.

12-Fubini S.L., Grohn Y.T., Smith D.F. Right displacement of the abomasum and abomasal volvulus in dairy cows: 458 cases (1980-1987). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1991; vol. 198, n. 3: pp. 460-464.

13-Goff J.P. Dry cow nutrition and metabolic disease in parturient cows. *Advances in Dairy Technology*, 1999; vol. 11: pp. 63-79.

14-Jannowitz H. Laparoscopic reposition and fixation of the left displacement abomasum in cattle. *Tierarzt prax Ausg G Grosstiere Nutztiere*, 1998; vol. 26, n. 6: pp. 308-313.

15-Lagerweij E., Numans S.R. The "Utrecht procedure" in the surgical treatment of displacement of the abomasum in cattle. *Neth. J. Vet. Sci.*, 1968; vol. 1, n. 2: pp. 155-165.

16-Lilly H.A., Lowbury E.J. Transient skin flora: their removal by cleansing or disinfection in relation to their mode of deposition. *J. Clin. Pathol.*, 1978; vol. 31, n. 10: pp. 919-922.

17-Lowbury E.J. Skin disinfection. *J. Clin. Pathol.*, 1961; vol. 14: pp. 85-90.

18-Markiewicz H., Gehrke M., Malinowski E. Selected biochemical blood compounds in cows with abomasum displacement. *Pol. J. Vet. Sci.*, 2009; vol. 12, n. 4: pp. 515-518.

19-Oetzel G.R. Managing high risk fresh cows. *The AABP Proceedings*, 2012; pp. 98-104.

20-Ózsvári L., Matyovszky B. The losses due to displaced abomasum on a large-scale Hungarian dairy farm. A case study. *Conference, Spring Wind*, 2015.

RIPRODUZIONE

MATERIALE
ACCESSORIO ON LINE

La ritenzione di placenta nella bovina

Maurizio Monaci

Dipartimento di Medicina veterinaria, Università degli Studi di Perugia

RIASSUNTO

Il distacco e l'espulsione delle membrane fetali sono processi complessi che si avviano già prima del parto attraverso cambiamenti ormonali e biochimici. Qualsiasi evento che disturbi questi processi può esitare in ritenzione delle membrane fetali (RFM). La comprensione della fisiopatologia della RFM permetterebbe un'analisi dei legami tra fattori di rischio e cause specifiche, tale da essere di supporto nella valutazione critica dei protocolli di trattamento e prevenzione. Le terapie comunemente adottate per la RFM, quali rimozione manuale, uso di antibiotici locali e prostaglandine, si sono dimostrate inefficaci ed alcune potrebbero addirittura avere un impatto negativo sulla futura fertilità dell'animale. Vi è necessità di nuove terapie volte alla correzione delle cause specifiche di RFM.

Parole chiave: ritenzione della placenta, fattori di rischio, terapia, prevenzione, bovina

SUMMARY

Placental retention in cattle

Placental detachment and expulsion are complex processes that begin with prepartum hormonal and biochemical changes. Disturbances in any of these normal processes may result in placental retention. An understanding of the physiology of placental retention allows discussions about the link of risk factors to specific causes that will aid in the critical appraisal of treatment protocols and prevention of bovine RFM. Many common therapies for RFM (manual removal, local antibiotics, prostaglandins) have not been shown to be effective and some could actually have a negative impact on future reproduction. New therapies should be aimed at correcting specific causes of RFM.

Keywords: placental retention, risk factors, therapy, prevention, cattle.

La ritenzione primaria degli invogli fetali (*Retained Fetal Membranes*, RFM) risulta dal loro mancato distacco dalle caruncole materne, mentre quella secondaria è relativa alla difficoltà meccanica di espulsione delle membrane già distaccate, come ad esempio in caso di atonia dell'utero. I meccanismi della ritenzione primaria e secondaria possono coesistere.

Nella specie bovina, le membrane fetali sono normalmente espulse entro 12 ore dal parto [22, 25]; l'incapacità di secondamento entro questo intervallo di tempo esita nella ritenzione delle membrane fetali. Nel 2002, Brand ha stato osservato che, su 1.010 bovine, il 66% espelle la placenta entro 6 ore dal parto. Tale percentuale si riduce con l'età, tanto che al terzo parto è pari al 60%. Parimenti, la percentuale di soggetti che ritengono la placenta nelle prime 71 ore raddoppia nelle bovine di terzo parto rispetto alle primipare. L'incidenza riportata per la RFM è variabile: in Inghilterra è pari al 3,6% [28] e in Egitto al 24,9% [29].

Un altro aspetto di fondamentale importanza è rappresentato dalle perdite economiche imputabili alla RFM (finestra 1 on line*) [3, 23, 28, 29, 47, 50].

Fisiopatologia della ritenzione degli invogli fetali

La comprensione degli eventi fisiologici che regolano la separazione e l'espulsione delle membrane fetali è un prerequisito per il trattamento e la prevenzione della RFM nella specie bovina. I meccanismi molecolari che si verificano nel placentoma durante l'ultima fase di gestazione, al parto e al momento dell'espulsione sono stati indagati a lungo e includono: attivazione di una risposta immunitaria, apoptosi, rimodellamento della matrice extracellulare, attivazione di un processo infiammatorio. Tuttavia, la patogenesi della RFM non è ancora chiara. La funzionalità del placentoma, ad esem-

pio, è governata dalle concentrazioni ormonali e la mancata regolazione endocrina è stata correlata alla RFM [28, 57, 71]. Attualmente, lo sviluppo placentare del bovino e le sue disfunzioni, in condizioni sia fisiologiche sia patologiche, dal punto di vista clinico [71] e delle possibilità di trattamento [3] sono oggetto di eccellenti reviews.

1. Separazione ed espulsione degli invogli fetali

La separazione e l'espulsione delle membrane fetali si articolano in tre fasi, tra loro coordinate. Il processo ha inizio con la maturazione dei placentomi e con modifiche strutturali, endocrine e immunologiche, che si instaurano in tarda gravidanza e in corrispondenza del parto. Successivamente, viene meno la pressione sanguigna nei vasi di competenza fetale, così da permettere il collasso dei villi cotiledonari e il loro distacco dalle cripte caruncolari. La contrattilità e l'involuzione uterina, infine, facilitano la pronta separazione ed espulsione delle membrane [10].

► Modificazioni endocrine

A fine gestazione, l'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene nel feto comporta il rilascio imponente di prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) che, nella specie bovina, ha azione luteolitica e di innesco del parto. L'attivazione di questo asse endocrino potrebbe riflettere la risposta dell'ipotalamo fetale all'accumulo di ormoni in sede placentare o ad agenti stressogeni per il feto, quali ipossia, cambiamenti nella pressione sanguigna e glicemia.

Lo stress meccanico indotto dalla riduzione del volume interno uterino per l'aumento delle dimensioni fetali a fine gestazione potrebbe essere responsabile dell'attivazione della ghiandola pituitaria anteriore e della successiva liberazione di corticotropine e cortisolo fetale. Tali eventi comporterebbero l'attivazione di una serie di reazioni biochimico-endocrine per

Formazione a distanza



Foto 1. Lo stimolo pressorio indotto dal feto quando impegna il canale del parto determina il rilascio di ossitocina (foto L. Acerbis).

la coordinazione del parto (finestra 2 *on line**) [78].

La placenta bovina è di tipo cotiledonare, con un sincizio ibrido materno-fetale originato dalla migrazione e dalla fusione apicale delle cellule del trofoblasto con le cellule epiteliali uterine [70]. L'epitelio cotiledonare fetale è composto da cellule trofoblastiche colonnari uninucleate e da cellule trofoblastiche giganti bi- e trinucleate, che contribuiscono a regolare il parto mediante secrezioni endocrine, paracrine e autocrine, quali estrogeni, progesterone e prostaglandine (finestra 3 *on line**) [2, 34, 40, 45, 77, 80, 81, 84, 93].

Gli estrogeni e il progesterone prodotti dalle cellule trofoblastiche agiscono sui recettori delle cellule caruncolari. Si tratta di un meccanismo di controllo paracrino, più che endocrino, responsabile del rilassamento dei placentomi, della cervice e della vagina, attraverso il rimodellamento delle fibre collagene e la stimolazione dell'idratazione nella matrice extracellulare [88]. Anche la relaxina controlla le modificazioni della matrice collagene inducendo il rilascio cervicale [26], ma non è chiaro se questo ormone abbia anche un ruolo nella maturazione dei placentomi.

Nel momento in cui il feto impegna il canale del parto, lo stimolo pressorio induce un riflesso nervoso che termina nel nucleo paraventricolare dell'ipofisi posteriore, causando il rilascio di ossitocina e la stimolazione delle contrazioni miometriali (foto 1). Queste contrazioni inducono alterazioni della pressione all'interno dei villi cotiledonari, tali da comportare un'alternanza di stati iperemici e ischemici, che esitano nella separazione fisica dell'unità materno-

fetale [57]. La rottura del cordone ombelicale durante il parto, infine, comporta il collasso dei villi coriali e la riduzione ulteriore della superficie di contatto materno-fetale.

► Modificazioni cellulari del placentoma

Durante la maturazione placentare e la separazione delle componenti materna e fetale si osserva l'attivazione del sistema immunitario materno, in seguito all'espressione del complesso maggiore di istocompatibilità di classe I [*Major Histocompatibility Complex class I*, MHC-I] e vari mediatori proinfiammatori [26, 44]. L'incremento significativo dei livelli di MHC-I si verifica già a partire dal 7° mese di gravidanza nelle aree prive di placentomi [17] ed è associato a una riduzione delle cellule bi- e trinucleate [9]. A fine gravidanza, l'epitelio endometriale inizia a ridurre il proprio spessore a seguito della diminuzione del numero di cellule trofoblastiche giganti; questo evento induce, a sua volta, l'esposizione diretta del trofoblasto fetale all'epitelio endometriale (finestra 4 *on line**) [9, 17, 33].

► Apoptosi

L'accumulo di regolatori proapoptotici nelle cellule materne e fetali al momento dell'espulsione del feto [9] suggerisce il ruolo cruciale dell'apoptosi nel normale processo di separazione ed eliminazione delle membrane fetali [41]. I regolatori più importanti dell'apoptosi includono le proteine FAS, il recettore superficiale di morte cellulare, le proteine della famiglia BCL2 e le caspasi (finestra 5 *on line**) [14, 18, 39, 41, 46, 73, 85].

Rimodellamento della matrice extracellulare

Le metalloproteinasi della matrice (*Matrix metalloproteinases*, MMPs) e le endopeptidasi zinco-dipendenti sono necessarie al rimodellamento tessutale durante la placentazione, l'impianto e, verosimilmente, anche nella separazione dell'unità materno-fetale. Le MMPs e i loro inibitori tissutali (TIMPs) regolano l'assemblaggio e la degradazione della matrice extracellulare (*Extracellular matrix*, ECM) (finestra 6 *on line**) [9, 19, 84, 86, 90, 96].

La diminuzione significativa delle resistenze vascolari nell'arteria uterina media, caratteristica della tarda gravidanza, è attribuita al rimodellamento vascolare. Lo sviluppo della rete vascolare placentare e la modulazione del tono e del calibro vasale [68] sono probabilmente mediate dallo stesso endotelio vasale, in risposta a modifiche emodinamiche. Studi recenti con tecnica Doppler hanno rivelato che l'indice di

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 7

resistenza vascolare è maggiore durante gli ultimi giorni di gravidanza nelle bovine che poi sviluppano RFM, rispetto ai controlli [38]. La permeabilità vasale potrebbe essere ulteriormente regolata dal rilascio di alcuni fattori, quale il fattore di crescita endoteliale A [84]. I cambiamenti nel flusso ematico influenzerebbero quindi il grado di idratazione, la lunghezza e lo spessore delle fibre collagene e l'adesione tra le componenti della ECM, risultando nel rilasciamento della cervice [26].

► Mediatori della flogosi

Le fasi finali del rilasciamento della cervice e del parto comprendono una flogosi controllata per via ormonale; la separazione delle membrane fetali è direttamente correlata a modificazioni di tipo infiammatorio al livello della unità materno-fetale [26].

L'aumento del tasso di apoptosi, la degradazione della ECM e la produzione di sostanze chemoattrattive per i leucociti (IL8) al momento del parto induce una diapedesi massiva di neutrofili e monociti nell'utero e nella cervice delle bovine che eliminano fisiologicamente le membrane fetali [44]. Il ruolo delle cellule infiammatorie è testimoniato dall'espressione di citochine e recettori di superficie. La trascrizione di citochine, quali IL8, IL1b e IL10 in sede cervicale, ad esempio, è circa 8 volte maggiore al parto rispetto al 185° giorno di gestazione [26]. Al parto, aumenta anche l'espressione di recettori monocitari e macrofagici CD14 e CXCL14 nei placentomi [84]. Le popolazioni CD14 positive svolgono un ruolo primario nella fagocitosi delle cellule apoptotiche [32] e fungono da ligandi per i lipopolisaccaridi batterici [79]; entrambi possono attivare la popolazione macrofagica e indurre il rilascio di citochine proinfiammatorie IL1b, TNF α e IL8. Il parto è associato alla produzione locale di IL8, che agisce di concerto con la PGE2 per attrarre i polimorfonucleati [26, 84]. L'attivazione di queste popolazioni leucocitarie induce il rilascio di enzimi proteolitici che degradano la ECM, facilitando la separazione delle membrane durante il parto (finestra 7 *on line**).

La secrezione di citochine proinfiammatorie e la diapedesi massiva di cellule immunitarie permette il rimodellamento del tessuto grazie alle MMPs. Le modificazioni tessutali sono ulteriormente coadiuvate dall'attivazione del sistema del complemento, attraverso la *up-regulation* delle regioni geniche controllate dagli interferoni [84].

Nell'ultima fase di gestazione, il cambiamento del rapporto estrogeni-progesterone sembra essere un prerequisito per l'attivazione della flogosi fisiologica che governa l'eliminazione

delle membrane fetali. Anche altri eventi possono indurre infiammazione, ma esitano nella condizione opposta: la placentite, ad esempio, causata da patogeni specifici o da infezioni generalizzate, può comportare RFM [3]. Questa dicotomia pone in luce la necessità di discriminare tra risposte infiammatorie fisiologiche e patologiche; quantificare la presenza di prostaglandine e altre molecole proinfiammatorie in ogni stadio della flogosi potrebbe rappresentare un buon punto di partenza.

L'ossitocina può indurre picchi di rilascio di PGF2 α luteolitica dalle cellule dell'epitelio endometriale, mentre l'interferone- τ , prodotto dal feto, scatena il rilascio di PGE2 [2]. Purtroppo, lo stimolo al rilascio di questi due segnali è sconosciuto. Altro aspetto da tenere in considerazione è la maggiore concentrazione di PGF e PGE nel sangue di bovine con RFM che avevano sperimentato anche distocia.

2. Meccanismi responsabili di alterata separazione degli invogli fetali

Alterazione del profilo endocrino [livello 3]

L'induzione del parto tramite glucocorticoidi o PGF2 α è associata a una maggiore incidenza di RFM, a suggerire che questa patologia può essere causata da modifiche del profilo ormonale. Studi in *follow-up* hanno dimostrato che un disequilibrio nella produzione di prostaglandine può essere una delle cause di RFM (finestra 8 *on line**) [43, 54, 61, 66, 81, 87]. La RFM è anche associata ad alterazioni nel profilo ormonale di estrogeni, progesterone, cortisolo e PGF2 α (finestra 9 *on line**) [30, 35, 59, 72].

Alla RFM si attribuisce anche l'induzione dello stress ossidativo. La superossidodismutasi e la glutationeperossidasi presentano attività maggiore negli animali sani al parto, indicando che il normale secondamento si verifica in corso di ridotto stress ossidativo [43]. Le specie reattive dell'ossigeno potrebbe causare perossidazione nelle membrane cellulari, con conseguente lisi e danno tessutale. In più, l'inattivazione degli enzimi a causa della perossidazione potrebbe interrompere la sintesi di prostaglandine o di ormoni steroidei. Una delle ipotesi sulle cause di RFM pone l'attenzione sull'insufficienza antiossidante placentare, che comporterebbe la diminuzione della sintesi di estrogeni e, quindi, di PGF2 α . D'altro canto, la placenta bovina produce abbondanti quantità di vitamina C; è quindi necessaria una maggiore conoscenza dell'equilibrio tra sistemi ossidanti e antiossidanti nella placenta bovina.

► Alterazioni dell'MHC

La ritenzione delle membrane in seguito a parto eutocico è stata recentemente correlata con

Formazione a distanza

l'compatibilità tra l'MHC-I materno e l'MHC fetale [4]. I macrofagi di entrambe le parti, in corso di gravidanze con compatibilità tra i due MHC, assumono una maggiore colorazione in seguito al contatto con anticorpi anti-TNF α rispetto ai macrofagi provenienti da gravidanze MHC-incompatibili.

► Alterazioni dei fattori proapoptotici

Un vasto numero di cellule epiteliali corioniche va incontro ad apoptosi immediatamente dopo il parto. I placentomi bovini hanno specifici ritmi di turnover cellulare, che riflettono il tasso di accrescimento del tessuto e di maturazione placentare [9]. Una parte di questa morte cellulare è dovuta alla mancanza di flusso ematico nei vasi uterini. L'inibizione dell'espressione della proteina FAS nella parte materna della placenta e il contemporaneo aumento della CASP3 nei tessuti materni e fetali di bovine con RFM supportano l'importanza dell'apoptosi nel processo di eliminazione delle membrane [41].

► Alterazioni della ECM

Al momento del parto, il collasso dei vasi coriali esita nella rapida diminuzione del volume dei cotiledoni e permette alle membrane di scivolare facilmente dalle cripte caruncolari in corso di normale secondamento. Questo processo potrebbe essere ostacolato dalla permanenza di fibre collagene all'ingresso delle cripte materne e dal permanere di proteine di adesione tra la linea cellulare materna e fetale [53]. La somministrazione di collagenasi nelle arterie ombelicali in bovine con RFM a 72 ore dopo il parto si è dimostrato utile nel favorire il secondamento [24]. Allo stesso modo, la somministrazione di collagenasi di origine batterica nell'arteria uterina durante l'esecuzione di un taglio cesareo esita in una minore incidenza di RFM (finestra 10 *on line**) [12, 19, 37, 44, 48, 55, 76, 86].

Alterazioni nella risposta infiammatoria

Il profilo proinfiammatorio delle bovine con RFM è significativamente differente da quello degli animali sani: l'attività chemotattica cotiledonare nei confronti dei leucociti mononucleati è minore nei soggetti con ritenzione [5]; ciò suggerisce una concentrazione insufficiente di leucotriene B4 nel tessuto caruncolare degli animali con RFM [82]. Anche i leucociti isolati dal torrente ematico di bovine con RFM manifestano alterazioni funzionali e rispondono solo lievemente agli stimoli chemotattici provenienti dal placentoma [69]. Inoltre, i macrofagi derivanti dal placentoma di vacche con secondamento fisiologico contengono la fosfatasi

acida immunoreattiva, ma in quantità molto ridotte rispetto ai controlli [60]. Infine, anche le concentrazioni di citochine sono differenti in bovine che sviluppano RFM (finestra 11 *on line**) [7, 11, 44, 42].

Fattori di rischio per la ritenzione degli invogli fetali

Esistono numerosi fattori di rischio associati alla RFM, tra i quali induzione del parto, minore durata della gravidanza, aborto, gemellarità, distocia, taglio cesareo, fetotomia, carenze nutrizionali, agenti infettivi (virus della diarrea virale bovina), placentiti ascendenti e immunosoppressione. Sono state riportate alterazioni marcate nel siero/plasma delle concentrazioni di colesterolo, BUN, glucosio, proteine totali, acidi grassi non esterificati e β -idrossibutirrato in bovine con RFM rispetto ai controlli.

La diminuzione delle concentrazioni di enzimi ad attività antiossidante nella placenta può contribuire alla patogenesi della RFM [94]. Sono stati osservati livelli inferiori di superossidodismutasi placentare e di estrogeni plasmatici in bovine con RFM, rispetto ai controlli. È stato ipotizzato che l'origine della RFM consista in un'alterata capacità antiossidante della placenta, seguita da una diminuita produzione di estrogeni e PGF 2α , con accumulo di acido arachidonico e linoleico. Una metanalisi, che ha incluso 44 studi sull'incidenza della RFM in bovine trattate con vitamina E, ha permesso di concludere che la supplementazione diminuiva l'incidenza della RFM [13], sebbene l'effetto dipendesse dalle concentrazioni iniziali di vitamina E nel siero degli animali prima del trattamento [52].

Nella specie bovina, l'induzione del parto con desametasone, con o senza prostaglandina, è un fattore di rischio confermato per la RFM, sebbene la causa specifica non sia stata chiarita (finestra 12 *on line**) [37].

Sono riportate anche numerose correlazioni tra RFM e ipocalcemia [16, 58]. Somministrando diete anioniche, le bovine che sviluppano RFM mostrano livelli plasmatici significativamente minori di calcio rispetto ai controlli. Il calcio è necessario per la funzionalità delle collagenasi, ma i livelli circolanti di questo ione nelle bovine con RFM non sono sufficientemente bassi per impedire l'attività degli enzimi. È bene puntualizzare che il confronto della calcemia tra bovine con e senza RFM è stato sempre condotto considerando la calcemia totale, piuttosto che la concentrazione di ione biologicamente attivo. Ad esempio, la calcemia totale può essere influenzata dalle concentrazioni di albumina e di altri fattori, senza che la quantità di calcio



Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 7

ionizzato vari. Nessuna riduzione dell'incidenza della RFM o di altre patologie correlate al parto è stata riportata in animali alimentati con diete anioniche supplementate con calcio per via orale e fonti energetiche. Sebbene l'ipocalcemia possa predisporre le bovine alla distocia e l'atonìa uterina da ipocalcemia possa interferire con le fasi finali del secondamento, il ruolo diretto del calcio nella separazione delle membrane fetali non è chiaro.

Molti dei fattori di rischio per la RFM comprendono i traumi uterini (distocia, fetotomia, parto cesareo). Un insulto alla parete uterina può provocare edema dei villi corionici e rendere più difficoltoso il distacco all'interfaccia cotiledoni-caruncole [36]. Il normale processo di distacco delle membrane fetali richiede la separazione dell'interdigitazione dei villi cotiledonari dalle cripte delle caruncole materne. Di conseguenza, i villi edematosi e aumentati di volume potrebbero non essere in grado di disarticolarsi dalle cripte (foto 2).

I traumi uterini possono anche causare rilascio di eparina dalle cellule mastocitarie nel sito di insulto. L'eparina inibisce a sua volta l'attività delle collagenasi e può ritardare l'involuzione uterina contribuendo alla RFM.

La distocia e i traumi uterini sono stati associati con l'atonìa dell'utero e l'inibita espulsione delle membrane fetali, con ritenzione di tipo secondario. Dopo un parto cesareo, il trattamento della bovina con farmaci antinfiammatori non steroidei, quale la flunixin meglumina, aumenta il rischio di RFM rispetto ai controlli. Questa molecola è un inibitore delle ciclo-ossigenasi e si suppone che la maggiore incidenza di RFM sia dovuta alla ridotta sintesi di prostaglandine [92].

Infine, sono stati condotti diversi studi per valutare la correlazione non solo tra RFM e metrite ma anche tra RFM e mastite (finestra 13 *on line**) [95].

Trattamento della ritenzione degli involi fetali

1. Rimozione manuale delle membrane

Sfortunatamente, esistono pochi trattamenti per la RFM. Le scelte terapeutiche tendono ad essere dettate maggiormente dalla tradizione piuttosto che dalla medicina dell'evidenza e molte delle strategie impiegate non hanno dimostrato efficacia.

La rimozione manuale delle membrane rappresenta una tecnica comunemente utilizzata, sebbene numerosi studi non abbiano riportato alcun beneficio alla *performance* riproduttiva o sulla produzione latte.

Recenti studi prospettici non hanno individuato differenze della *performance* riproduttiva di bovine con RFM e febbre trattate con rimozione manuale, terapia intrauterina e terapia sistemica rispetto alla sola terapia sistemica. I risultati di questi studi implicano che la terapia intrauterina potrebbe rappresentare un costo in termini sia economici sia di tempo, oltre che comportare un uso non necessario di antibiotici. Inoltre, la rimozione manuale può esitare in infezioni uterine più gravi rispetto ai trattamenti conservativi (finestra 14 *on line**) [8, 72].

La rimozione manuale potrebbe trovare spiegazione nella percezione di una migliore igiene (pulizia in sala di mungitura ed eliminazione di odori sgradevoli). Vi è poi la convinzione che l'eliminazione delle membrane garantisca la rimozione di una potenziale fonte di infezione e che quindi possa ridurre il rischio di endometrite. In realtà, è più probabile che la rimozione manuale danneggi l'epitelio endometriale e inibisca la fagocitosi da parte dei leucociti, favorendo l'invasione batterica [91]. Inoltre, è difficile stabilire la rimozione completa delle membrane fetale ed escludere la permanenza di porzioni necrotiche in grado di favorire l'invasione batterica di un epitelio già danneggiato.

L'esame necroscopico di bovine trattate con rimozione manuale ha evidenziato emorragie uterine, ematomi, trombosi vascolari e presenza di porzioni di tessuto materno-fetale adese alle caruncole, a livello sia macroscopico sia microscopico, anche quando si supponeva che la rimozione fosse stata completa. La combinazione di danno endometriale, invasione batterica e soppressione della fagocitosi leucociti-



Foto 2. Il distacco delle membrane fetali richiede la separazione dell'interdigitazione dei villi cotiledonari dalle cripte delle caruncole materne (foto lcp online.it).



Formazione a distanza

taria può esitare in un aumentato rischio di metrite post parto, con tutti gli effetti negativi sulla fertilità ad essa associati.

2. Terapia antibiotica

L'uso di una terapia antibiotica per il trattamento della RFM ha restituito risultati contrastanti [72]. La metrite è una conseguenza comune della RFM e la ragione per l'uso di antibiotici in caso di RFM è la sua prevenzione o il suo trattamento. A tal fine, sono stati condotti alcuni studi, i cui risultati suggeriscono che, mentre la terapia antibiotica intrauterina può essere di beneficio nel trattamento della metrite, è improbabile che possa facilitare il distacco delle membrane e che possa prevenire la metrite (*finestra 15 on line**) [20, 31].

È stato ipotizzato che l'uso di antibiotici intrauterini possa controllare lo sviluppo locale delle popolazioni batteriche, ma che interferisca anche con i processi di necrotizzazione responsabili del distacco delle membrane ritenute [75]. Le tetracicline sono comunemente utilizzate nella terapia intrauterina della RFM, ma possono inibire le MMPs e interferire con il normale meccanismo di separazione delle membrane. Gli antibiotici sistemici sono considerati efficaci in caso di RFM associata a febbre [20, 52, 74]. Gli antibiotici sistemici hanno dimostrato la medesima efficacia utilizzati sia da soli sia in associazione con un trattamento intrauterino. In ogni caso, dato che tutte le bovine con febbre sono trattate sistemicamente, non è possibile chiarire se la risoluzione della febbre sia dovuta alla terapia antibiotica o alle difese immunitarie dell'animale.

È stato condotto anche un studio per valutare gli effetti del ceftiofur. In tutte le bovine con RFM, questa molecola per via sistemica non ha dimostrato alcun vantaggio rispetto al medesimo trattamento dei soli animali con febbre, per quanto riguarda l'instaurarsi dello stato febbrile, l'eliminazione delle membrane ritenute e la qualità dei successivi parametri riproduttivi. La temperatura è stata registrata giornalmente e il trattamento è stato somministrato non appena veniva rilevata ipertermia. In generale, sembra che l'uso non necessario di antibiotici possa essere evitato solo trattando le bovine con febbre.

Mentre non vi è evidenza diretta dei benefici del trattamento di tutte le bovine con RFM con antibiotici sistemici, la terapia antibiotica sembra essere efficace nei casi di metrite acuta post parto [15]. La metrite è considerata una delle cause principali di ridotta fertilità nelle bovine. Il trattamento degli animali con RFM per 5 giorni con 2,2 mg/kg di ceftiofur per via sistemica risulta più efficace nella prevenzione delle

metriti rispetto a una terapia con estradiolo o all'assenza di trattamento, sebbene non sia possibile evidenziare nessun miglioramento della *performance* riproduttiva [74].

3. Prostaglandine ed ossitocina

I prodotti più diffusi per il trattamento della RFM sono le prostaglandine e l'ossitocina. Questi ormoni giocano un ruolo fondamentale nella contrattilità uterina e potrebbero avere effetti positivi nel trattamento della RFM causata da inerzia uterina. A ogni modo, si suppone che l'inerzia uterina sia la causa di una percentuale davvero ridotta di casi di RFM e numerosi studi non supportano il loro uso per il trattamento di questa patologia [21]. La PGF_{2α} non ha dimostrato alcun effetto positivo sulla possibilità di risoluzione della RFM o di miglioramento della *performance* riproduttiva e tanto le prostaglandine quanto l'ossitocina al momento del parto non hanno dimostrato alcun effetto in termini di prevenzione della RFM [83]. Di contro, una percentuale maggiore di bovine [80% vs 58,5%] ha espulso le membrane 12 ore dopo il trattamento con PGF_{2α} dopo parto cesareo.

3. Collagenasi

La degradazione del collagene gioca un ruolo centrale nel distacco delle membrane e la perfusione di collagenasi può essere di supporto nella distruzione del legame caruncolo-cotiledoni in corso di RFM. In uno studio condotto da Paisley *et al.*, la somministrazione di 1 l di soluzione salina contenente 200.000 UI di collagenasi batterica nelle arterie ombelicali delle membrane ritenute ha indotto un'eliminazione più rapida rispetto ai controlli non trattati. Somministrata entro 24-72 ore dal il parto, la collagenasi ha permesso il completo secondamento nell'85% delle bovine trattate [23 su 27], entro 36 ore. Nessuno dei 24 controlli infusi con la sola soluzione salina ha eliminato le membrane fetali entro lo stesso periodo di tempo. Questo tipo di terapia è orientato alla correzione di una proteolisi insufficiente e potrebbe rivelarsi più efficace dei trattamenti tradizionali. Le bovine con RFM non trattate sono andate incontro a processi autolitici, ma non hanno eliminato le membrane prima di 6-10 giorni dopo il parto [67].

La terapia con collagenasi sembra promettente, ma il suo uso è molto limitato. Nella specie bovina l'intervento può essere praticato da un ostetrico esperto in circa 20 minuti, ma le difficoltà aumentano quando è difficile esterorizzare il cordone ombelicale oltre la rima vulvare. Ad ogni modo, il costo ne preclude l'uso in campo, a eccezione degli animali di no-

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 7

tevole pregio (finestra 16 *on line**) [24].

È stato dimostrato che il trattamento con collagenasi esita in una più rapida eliminazione delle membrane ritenute, ma non esistono studi sul calo di produzione nelle bovine trattate con collagenasi rispetto ai controlli. Sarebbero necessarie ulteriori indagini su dosaggio, efficacia e produzione a lungo termine nelle bovine con RFM, al fine di determinarne i benefici economici.

Strategie per la prevenzione della ritenzione degli invogli fetali

Sono disponibili pochi studi di campo sulla correlazione tra gestione della bovina in transizione, in termini di nutrizione e benessere animale, e diminuzione del rischio di ritenzione delle membrane fetali. Queste strategie gestionali dovrebbero essere considerate anche come un metodo di prevenzione della RFM. Le bovine da latte ad alta produzione affrontano costantemente uno stress fisiologico e immunologico e la gestione nutrizionale nel periodo precedente il parto è di supporto nella riduzione delle malattie del periparto e del post parto [56].

L'importanza di una buona gestione nutrizionale e dello stress è supportata dalla correlazione tra il calo della funzione immunitaria e la ritenzione delle membrane fetali. L'obiettivo della medicina della produzione è il passaggio dal trattamento individuale di una patologia alla strategia preventiva nell'intera mandria; la RFM è un esempio di patologia per la quale la prevenzione potrebbe risultare più semplice, efficace ed economica rispetto al trattamento [51].

Durante il periparto le bovine presentano: riduzione della capacità di ingestione e del bilancio energetico, insulinoresistenza, ipocalcemia, riduzione della risposta immunitaria, contaminazione batterica dell'ambiente uterino prima e dopo il parto. Le diverse strategie di individuazione precoce degli animali affetti comprendono il monitoraggio dei dati aziendali su salute, produzione latte, ingestione di alimento e condizione corporea e l'esecuzione sul campo di semplici test diagnostici [49]. L'autore sottolinea l'importanza dell'analisi dei dati provenienti dalla mandria e di semplici misurazioni, quali la concentrazione di acidi grassi non esterificati (NEFA). Fino a circa 7-10 giorni dal parto previsto la loro concentrazione non dovrebbe superare 0,4 mmol/l; valori superiori sono associati a un aumento del rischio di RFM, così come ad altre patologie post parto, quali dislocazione abomasale e perdite produttive. I disturbi metabolici peripartali, lo stress e la

soppressione della funzione immunitaria nella bovina da latte possono essere verificati attraverso esami clinici e di laboratorio. Una settimana prima del parto, il monitoraggio della produzione e dello stato di salute della mandria con semplici test biochimici ed ematologici su una matrice ematica o latte di un gruppo rappresentativo di animali può rappresentare una valida strategia di prevenzione [62,63]. È possibile anche utilizzare test di laboratorio più specifici, quali l'analisi della funzionalità leucocitaria, il dosaggio dell'interleuchina 8 (IL-8) e del calcio contenuto nelle cellule mononucleate del sangue periferico.

Le bovine a rischio di disturbi metabolici e di RFM possono essere individuate attraverso l'analisi dei profili metabolici (finestra 17 *on line**) [6, 65, 89].

La modulazione del sistema immunitario per la prevenzione della RFM si è dimostrata efficace, soprattutto nelle bovine che hanno ricevuto un'assistenza manuale al parto. È probabile che l'esecuzione di manualità, quali la manipolazione e la trazione con corde o catene del vitello al parto, possono causare stress addizionale e influenzare negativamente l'espulsione delle membrane fetali.

La profilassi delle conseguenze cliniche della RFM causate dallo stress metabolico può essere implementata al parto con l'uso non solo di farmaci in grado di ridurre l'attività dei β -bloccanti, ma anche di farmaci in grado di ridurre gli effetti dell'adrenalina e la sua influenza negativa sulla contrattilità uterina. I β -bloccanti possono essere impiegati per contrastare l'ipotonia e l'atonìa uterina, dovuta all'eccessiva produzione di adrenalina in corso di stress. I β -bloccanti impediscono l'attivazione degli adrenocettori miometriali durante un parto difficoltoso o nel post parto, in corso di metrite e di ritardata involuzione uterina, anche in combinazione con altri farmaci, quali le PGF₂ α e antibiotici (finestra 18 *on line**) [64].

Nel periparto, il rischio di malattie metaboliche, immunodepressione e altri disturbi è molto elevato. I disordini metabolici hanno una base nutrizionale e si manifestano nel periparto come il risultato di uno squilibrio energetico, minerale o vitaminico. Questi disturbi sono causa di stress e possono concorrere ad alterare il distacco delle membrane fetali [27]. Le cause nutrizionali e metaboliche della RFM sono difficilmente eliminabili dal moderno allevamento da latte. Le bovine da latte necessitano di un continuo bilanciamento delle loro necessità nutrizionali e ambientali, così come di strategie che supportino il loro sistema immunitario nel periparto. Gestire il periodo di transizione per massimizzare la salute e la *performance* ripro-

Formazione a distanza

duttiva, monitorare i disordini metabolici (bilancio energetico negativo, chetosi, ipocalcemia) e la capacità di risposta del sistema immunitario rappresentano strategie essenziali per il moderno allevamento. Il controllo periodico e sistematico attraverso test ematici o su latte in un gruppo rappresentativo di animali potrebbe essere non sufficiente per diagnosticare patologie importanti e/o subcliniche. Attualmente, è essenziale il monitoraggio continuo della salute delle bovine, della loro produzione e dei rischi potenziali, soprattutto durante il periodo della transizione. Il test giornaliero su un campione di sangue o latte con le nuove tecniche laser Vis/NIS (*Visible Near Infrared Spectroscopy*) sembra essere una soluzione ottimale per il futuro monitoraggio "on line" e "in line" dello stato metabolico delle bovine e della salute della mammella [1]. Questa tecnica, particolarmente utile perché poco impegnativa per gli allevatori, è in grado di fornire informazioni in tempo breve sull'insorgenza dei disordini metabolici [29].

Conclusioni

La limitata disponibilità di trattamenti efficaci per la ritenzione degli involgii fetali evidenzia l'importanza della prevenzione. Le attuali raccomandazioni per la prevenzione della RFM nei bovini includono: il benessere e il *cow comfort*, la riduzione dello stress nel periparto e l'ottima gestione della nutrizione, in particolare durante il periodo di transizione.

Bibliografia**

1-Aernouts B., Polshn E., Lammertyn J., Saeys W. Visible and near-infrared spectroscopic analysis of raw milk for cow health monitoring: reflectance or transmittance? *J. Dairy Sci.*, 2011; vol. 94: pp. 5315-5329.
 2-Arosh J.A., Banu S.K., Kimmins S., Chapdelaine P., Maclaren L.A., Fortier M.A. Effect of interferon-tau on prostaglandin biosynthesis, transport, and signaling at the time of maternal recognition of pregnancy in cattle: Evidence of polycrine actions of prostaglandin E2. *Endocrinology*, 2004; vol. 145: pp. 5280-5293.
 3-Beagley J.C., Whitman K.J., Baptiste K.E., Scherzer J. Physiology and treatment of retained fetal membranes in cattle. *J. Vet. Intern. Med.*, 2010; vol. 24: pp. 261-268.
 4-Benedictus L., Thomas A.J., Jorritsma R., Davies C.J., Koets A. Two-way calf to dam major histocompatibility class I compatibility increases risk for retained placenta in cattle. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2012; vol. 67: pp. 224-230.
 5-Benedictus L., Jorritsma R., Knijn H.M., Vos P.L.,

Koets A.P. Chemotactic activity of cotyledons for mononuclear leukocytes related to occurrence of retained placenta in dexamethasone induced parturition in cattle. *Theriogenology*, 2011; vol. 76: pp. 802-809.

6-Bionaz E., Trevisi E., Calamari L., Librandi F., Ferrari A., Bertoni G. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions and liver function in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2007; vol. 90: pp. 1740-1750.

7-Boby J., Kumar H., Ganesan A., Singh S.K., Narayanan K. Cytokine levels for the prediction of RFM in cross-bred cows. *Adv. Anim. Vet. Sci.*, 2013; vol. 1: pp. 14-17.

8-Bolinder A., Seguin B., Kindahl H. et al. Retained fetal membranes in cows: Manual removal versus non-removal and its effect on reproductive performance. *Theriogenology*, 1988; vol. 30: pp. 45-56.

9-Boos A., Janssen V., Mülling C. Proliferation and apoptosis in bovine placentomes during pregnancy and around induced and spontaneous parturition as well as in cows retaining the fetal membranes. *Reproduction*, 2003; vol. 126: pp. 469-480.

10-Borel N., Thoma R., Spaeni P., Weilenmann R., Teankum K., Brugnera E. Chlamydia-related abortions in cattle from Graubünden, Switzerland. *Vet. Pathol.*, 2006; vol. 43: pp. 702-708.

11-Boro P., Kumaresan A., Pathak R., Patbandha T.K., Kumari S., Yadav A., Manimaran A., Baithalu R.K., Attupuram N.M., Mohanty T.K. Alteration in peripheral blood concentration of certain pro-inflammatory cytokines in cows developing retention of fetal membranes. *Anim. Reprod. Sci.*, 2015; vol. 157: pp. 11-16.

12-Boro P., Kumaresan A., Singh A.K., Gupta D., Kumar S., Manimaran A., Mohanty A.K., Mohanty T.K., Pathak R., Attupuram N.M., Baithalu R.K., Prasad S. Expression of short chain fatty acid receptors and pro-inflammatory cytokines in utero-placental tissues is altered in cows developing retention of fetal membranes. *Placenta*, 2014; vol. 35: pp. 455-460.

13-Bourne N., Laven R., Wathes D.C. et al. A meta-analysis of the effects of vitamin E supplementation on the incidence of retained foetal membranes in dairy cows. *Theriogenology*, 2007; vol. 67: pp. 494-501.

14-Bowolaksono A., Nishimura R., Hojo T., Sakamoto R., Acosta T.J., Okuda K. Anti-apoptotic roles of prostaglandin E2 and F2a in bovine luteal steroidogenic cells. *Biol. Reprod.*, 2008; vol. 79: pp. 310-317.

15-Chenault J.R., McAllister J.F., Chester S.T. et al. Efficacy of cef.tiofur hydrochloride sterile suspension administered parenterally for the treatment of acute postpartum metritis in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2004; vol. 224: pp.

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 7

1634-1639.

16-Curtis C.R., Erb H.N., Sniffen C.J. et al. Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1983; vol. 183: pp. 559-561.

17-Davies C.J., Hill J.R., Edwards J.L., Schrick F.N., Fisher P.J., Eldridge J.A., Schlafer D.H. Major histocompatibility antigen expression on the bovine placenta: its relationship to abnormal pregnancies and retained placenta. *Anim. Reprod. Sci.*, 2004; vol. 82-83: pp. 267-280.

18-Di Cunto F., Imarisio S., Hirsch E., Broccoli V., Bulfone A., Migheli A., Atzori C., Turco E., Triolo R., Dotto G.P., Silengo L., Altruda F. Defective neurogenesis in citron kinase knockout mice by altered cytokinesis and massive apoptosis. *Neuron*, 2000; vol. 28: pp. 115-127.

19-Dilly M., Hambruch N., Shenavai S., Schuler G., Froehlich R., Haeger J.D., Ozalp G.R., Pfarrer C. Expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-14 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase (TIMP)-2 during bovine placentation and at term with or without placental retention. *Theriogenology*, 2011; vol. 75: pp. 1104-1114.

20-Drillich M., Klever N., Heuwieser W. Comparison of two management strategies for retained fetal membranes on small dairy farms in Germany. *J. Dairy Sci.*, 2007; vol. 90: pp. 4275-4281.

21-Drillich M., Schroeder A., Tenhagen B.A. et al. Efficacy of a treatment of retained placenta in dairy cows with prostaglandin F2a in addition to a local antibiotic treatment. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*, 2005; vol. 112: pp. 174-179.

22-Drillich M., Mahlstedt M., Reichert U., Tenhagen B.A., Heuwieser W. Strategies to improve the therapy of retained fetal membranes in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2006; vol. 89: pp. 627-635.

23-Dubuc J., Duffield T.F., Leslie K.E., Walton J.S., LeBlanc S.J. Effects of postpartum uterine diseases on milk production and culling in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2011; vol. 94: pp. 1339-1346.

24-Eiler H., Hopkins F.M. Successful treatment of retained placenta with umbilical cord injections of collagenase in cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1993; vol. 203: pp. 436-443.

25-El-Malky O., Youssef M., Abdel-Aziz N., El-Salaam A. Post-partum performance of buffaloes treated with GnRH to overcome the impact of placenta retention. *J. Am. Sci.* 2010; vol. 2: pp. 225-233.

26-Engelen E., Groot M.W., Breeveld-Dwarkasing V.N.A., Everts M.E., van der Weyden G.C., Taverne M.A., Rutten V.P. Cervical ripening and parturition in cows are driven by a cascade of pro-inflammatory cytokines. *Reprod. Dom. Anim.*, 2009; vol. 44: pp. 834-841.

27-Esposito G., Irons P.C., Webb E.C., Chapwanya A. Interactions between negative energy balance,

metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 2014; vol. 144: pp. 60-71.

28-Esslemont R.J., Kossaibati M.A. Incidence of production diseases and other health problems in a group of dairy herds in England. *Vet. Rec.*, 1996; vol. 139: pp. 486-490.

29-Gaafar H.M., Shamiah M., Shitta A.A., Ganah H.A. Factors affecting retention of placenta and its influence on postpartum reproductive performance and milk production in Friesian cows. *Slovak J. Anim. Sci.*, 2010; vol. 43: pp. 6-12.

30-Ghai S., Monga R., Mohanty T.K., Chauhan M.S., Singh D. Term placenta shows methylation independent down regulation of Cyp19 gene in animals with retained fetal membranes. *Res. Vet. Sci.*, 2012; vol. 92: pp. 53-59.

31-Goshen T., Shpigiel N.Y. Evaluation of intrauterine antibiotic treatment of clinical metritis and retained fetal membranes in dairy cows. *Theriogenology*, 2006; vol. 66: pp. 2210-2218.

32-Gregory C.D. CD14-dependent clearance of apoptotic cells: Relevance to the immune system. *Curr. Opin. Immunol.*, 2000; vol. 12: pp. 27-34.

33-Gross T.S., Williams W.F., Russek-Cohen E. Cellular changes in the peripartum bovine fetal placenta related to placental separation. *Placenta*, 1991; vol. 12: pp. 27-35.

34-Gross T.S., Williams W.F. Bovine placental prostaglandin synthesis: principal cell synthesis as modulated by the binucleate cell. *Biol. Reprod.*, 1988; vol. 38: pp. 1027-1034.

35-Gross T.S., Williams W.F., Lewis G.S. In vitro placental prostaglandin synthesis in the late pregnant and peripartum cow. *Prostaglandins*, 1987; vol. 34: pp. 903-915.

36-Grunert E. Etiology and pathogenesis of retained placenta. In: Morrow D.A., ed. *Current Therapy in Theriogenology*. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1986; pp. 237-241.

37-Guerin R., Thiebault J.J., Delignette-Muller M.L., Badinand F., Bosc L., Menezes Y. Effect of injecting collagenase into the uterine artery during a caesarean section on the placental separation of cows induced to calve with dexamethasone. *Vet. Rec.*, 2004; vol. 154: pp. 326-328.

38-Hartmann D., Honnens A., Piechotta M., Lüttgenau J., Niemann H., Rath D., Bollwein H. Effects of a protracted induction of parturition on the incidence of retained placenta and assessment of uterine artery blood flow as a measure of placental maturation in cattle. *Theriogenology*, 2013; vol. 80: pp. 176-184.

39-Hengartner M.O. The biochemistry of apoptosis. *Nature*, 2000; vol. 407: pp. 770-776.

40-Hoffmann B., Schuler G. The bovine placenta; a source and target of steroid hormones: Observations during the second half of gestation. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 2002; vol. 23: pp.

Formazione a distanza

309-320.

41-Kamemori Y., Wakamiya K., Nishimura R., Hosaka Y., Ohtani S., Okuda K. Expressions of apoptosis-regulating factors in bovine retained placenta. *Placenta*, 2011; vol. 32: pp. 20-26.

42-Kankofer M., Wawrzykowski J., Miller I., Hoedemaker M. Usefulness of DIGE for the detection of protein profile in retained and released bovine placental tissues. *Placenta*, 2015; vol. 36: pp. 246-249.

43-Kankofer M., Wiercinski J., Kedzierski W., Mierzynski R. The analysis of fatty acid content and phospholipase A2 activity in placenta of cows with and without retained fetal membranes. *J. Vet. Med.*, 1996; vol. 43: pp. 459-465.

44-Kimura K., Goff JP., Kehrl Jr. M.E., Reinhardt T.A. Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 2002; vol. 85: pp. 544-550.

45-Klisch K., Pfarrer C., Schuler G., Hoffmann B., Leiser R. Tripolar acytokinetic mitosis and formation of fetomaternal syncytia in the bovine placenta: different modes of the generation of multinuclear cells. *Anat. Embryol. (Berl.)*, 1999; vol. 200: pp. 229-237.

46-Komiyama J., Nishimura R., Lee H.Y., Sakumoto R., Tetsuka M., Acosta TJ., Skarzynski DJ., Okuda K. 2008. Cortisol is a suppressor of apoptosis in bovine corpus luteum. *Biol. Reprod.*, 2008; vol. 78: pp. 888-895.

47-Kumari S., Prasad S., Kumaresan A., Manimaran A., Patbandha T.K., Pathak R., Boro P., Mohanty T.K., Ravi S.K. Risk factors and impact of retained fetal membranes on performance of dairy bovines reared under subtropical conditions. *Trop. Anim. Health Prod.*, 2015; vol. 47: pp. 285-290.

48-Labarrere C.A., Bammerlin E., Hardin J.W., Dicarlo H.L. Intercellular adhesion molecule-1 expression in massive chronic intervillitis: Implications for the invasion of maternal cells into fetal tissues. *Placenta*, 2014; vol. 35: pp. 311-317.

49-LeBlanc S.J. Monitoring metabolic health of dairy cattle in transition period. *J. Reprod. Dev.* 2010; vol. 56, suppl. 1: pp. 29-35.

50-LeBlanc S.J. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: a review. *Vet. J.*, 2008; vol. 176: pp. 102-114.

51-LeBlanc S.J., Lissemore K.D., Kelton D.F. et al. Major advances in disease prevention in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 2006; vol. 89: pp. 1267-1279.

52-LeBlanc S.J., Duffield T.F., Leslie KE. et al. The effect of prepartum injection of vitamin E on health in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2002; vol. 85: pp. 1416-1442.

53-Leiser R., Pfarrer C., Abd-Elnaeim M., Dantzer V. Feto-maternal anchorage in epitheliochorial and endotheliochorial placental types studied by histology and microvascular corrosion casts. *Trophobl. Res.*, 1998; vol. 12: pp. 21-39.

54-Liszewska E., Reinaud P., Billon-Denis E., Dubois O., Robin P., Charpigny G. Lysophosphatidic acid signaling during embryo development in sheep: Involvement in prostaglandin synthesis. *Endocrinology*, 2009; vol. 150: pp. 422-434.

55-Maj J.G., Kankofer M. Activity of 72-kDa and 92-kDa matrix metalloproteinases in placental tissues of cows with and without retained fetal membranes. *Placenta*, 1997; vol. 18: pp. 683-687.

56-McDougall S. Effects of periparturient diseases and conditions on the reproductive performance of New Zealand dairy cows. *N.Z. Vet. J.*, 2001; vol. 49: pp. 60-68.

57-McNaughton A.P., Murray R.D. Structure and function of the bovine feto-maternal unit in relation to the causes of retained fetal membranes. *Vet. Rec.*, 2009; vol. 165: pp. 615-622.

58-Melendez P., Donovan A., Risco C. et al. Plasma mineral and energy metabolite concentrations in dairy cows fed an anionic prepartum diet that did or did not have retained fetal membranes after parturition. *Am. J. Vet. Res.*, 2004; vol. 65: pp. 1071-1076.

59-Michal K., Edward M., Hanna M. Some hormonal and biochemical blood indices in cows with retained placenta and puerperal metritis. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 2006; vol. 50: pp. 89-92.

60-Miyoshi M., Sawamukai Y., Iwanaga T. Reduced phagocytotic activity of macrophages in the bovine retained placenta. *Reprod. Dom. Anim.*, 2002; vol. 37: pp. 53-56.

61-Moolenaar W.H. Lysophosphatidic acid, a multifunctional phospholipid messenger. *J. Biol. Chem.*, 1995; vol. 270: pp. 12949-12952.

62-Mordak R., Nicpon J. Selected blood parameters in cows at the periparturient period and increasing lactation. *Med. Wet.*, 2006; vol. 62: pp. 1292-1294.

63-Mordak R., Nicpon J. Values of some blood parameters in dairy cows before and after delivery as a diagnostic monitoring of health in herd. *EJPAU*, 2006; vol. 9: pp. 1-5.

64-Mordak R. Clinical observations after use of propranolol in cows after calving. *Now Wet.*, 1991; vol. 21: pp. 26-32.

65-Moretti P., Probo M., Morandi N., Trevisi E., Ferrari A., Minuti A. et al. Early post-partum hematological changes in Holstein dairy cows with retained placenta. *Anim. Reprod. Sci.*, 2015; vol. 152: pp. 17-25.

66-Nielsen A.H., Schauser K.H., Poulsen K. The uteroplacental renin-angiotensin system. *Placenta*, 2000; vol. 21: pp. 468-477.

67-Paisley L.G., Mickelsen W.D., Anderson P.B. Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infections of cows: A

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 7

review. *Theriogenology*, 1986; vol. 25: pp. 353-381.

68-Panarace M., Garnil C., Marfil M., Jauregui G., Lagioia J., Luther E., Medina M. Transrectal Doppler sonography for evaluation of uterine blood flow throughout pregnancy in 13 cows. *Theriogenology*, 2006; vol. 66: pp. 2113-2119.

69-Pathak R., Prasad S., Kumaresan A., Kaur M., Manimaran A., Dang A.K. Alterations in cortisol concentrations and expression of certain genes associated with neutrophil functions in cows developing retention of fetal membranes. *Vet. Immunol. Immunop.*, 2015; vol. 168: pp. 164-168.

70-Peter A.T. Retained fetal membranes. In: Hopper R.M., editor. *Bovine reproduction*. Hoboken, N.J., USA: John Wiley & Sons, Inc, 2014; pp. 431-438.

71-Peter A.T. Bovine placenta: A review on morphology, components, and defects from terminology and clinical perspectives. *Theriogenology*, 2013; vol. 80: pp. 693-705.

72-Peters A.R., Laven R.A. Treatment of bovine retained placenta and its effects. *Vet. Rec.*, 1996; vol. 139: pp. 535-539.

73-Pru J.K., Tilly J.L. Programmed cell death in the ovary: insights and future prospects using genetic technologies. *Mol. Endocrinol.*, 2001; vol. 15: pp. 845-853.

74-Risco C.A., Hernandez J. Comparison of cefotiofur hydrochloride and estradiol cypionate for metritis prevention in dairy cows affected with retained fetal membranes. *Theriogenology*, 2003; vol. 60: pp. 47-58.

75-Roberts S.J. Veterinary obstetrics and genital diseases. Woodstock V.T., Roberts S.J., 1986; pp. 373-393.

76-Sarelius I.H., Glading A.J. Control of vascular permeability by adhesion molecules. *Tissue Barriers*, 2015; vol. 3: pp. e985954.

77-Schuler G., Ozalp G.R., Hoffmann B., Harada N., Browne P., Conley A.J. Reciprocal expression of 17 α -hydroxylase-C17, 20-lyase and aromatase cytochrome P450 during bovine trophoblast differentiation: a two-cell system drives placental estrogen synthesis. *Reproduction*, 2006; vol. 131: pp. 669-679.

78-Schuler G., Hartung F., Hoffmann B. Investigations on the use of C-21-steroids as precursors for placental oestrogen synthesis in the cow. *Exp. Clin. Endocrinol.*, 2004; vol. 102: pp. 169-174.

79-Sheldon I.M., Williams E.J., Miller A.N., Nash D.M., Herath S. Uterine diseases in cattle after parturition. *Vet. J.*, 2008; vol. 176: pp. 115-121.

80-Shenavai S., Preissing S., Hoffmann B., Dilly M., Pfarrer C., Ozalp G.R., Caliskan C., Seyrek-Intas K., Schuler G. Investigations into the mechanisms controlling parturition in cattle. Re-

production, 2012; vol. 144: pp. 279-292.

81-Slama H., Vaillancourt D., Goff A.K. Control of in vitro prostaglandin F and E synthesis by caruncular and allantochorionic tissues from cows that calved normally and those with retained fetal membranes. *Domest. Anim. Endocrin.*, 1994; vol. 11: pp. 175-185.

82-Slama H., Vaillancourt D., Goff A.K. Leukotriene B4 in cows with normal calving, and in cows with retained fetal membranes and/or uterine sub involution. *Can. J. Vet. Res.*, 1993; vol. 57: pp. 293-299.

83-Stevens R.D., Dinsmore R.P. Treatment of dairy cows at parturition with prostaglandin F2 a or oxytocin for prevention of retained fetal membranes. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1997; vol. 21: pp. 1280-1284.

84-Streyl D., Kenngott R., Herbach N., Wanke R., Blum H., Sinowatz F., Wolf E., Zerbe H., Bauersachs S. Gene expression profiling of bovine periparturient placentomes: Detection of molecular pathways potentially involved in the release of fetal membranes. *Reproduction*, 2012; vol. 143: pp. 85-105.

85-Sugino N., Suzuki T., Kashida S., Karube A., Takiguchi S., Kato H. Expression of Bcl-2 and Bax in the human corpus luteum during the menstrual cycle and in early pregnancy: Regulation by human chorionic gonadotropin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000; vol. 85: pp. 4379-4386.

86-Takagi M., Yamamoto D., Ohtani M., Miyamoto A. Quantitative analysis of messenger RNA expression of matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9), tissue inhibitor-2 of matrix metalloproteinases (TIMP-2), and steroidogenic enzymes in bovine placentomes during gestation and postpartum. *Mol. Reprod. Dev.*, 2007; vol. 74: pp. 801-807.

87-Takagi M., Fujimoto S., Ohtani M., Miyamoto A., Wijagunawardane M.P., Acosta T.J., Miyazawa K., Sato K. Bovine retained placenta: Hormonal concentrations in fetal and maternal placenta. *Placenta*, 2002; vol. 23: pp. 429-437.

88-Taverne M.A., Noakes D.E. Parturition and the care of parturient animals, including the newborn. In: Noakes D.E., Parkinson T.J., England G.C.W., editors. *Veterinary reproduction and obstetrics*. 9th edn. London: Saunders Elsevier, 2009; pp. 154-205.

89-Trevisi E., Amadori M., Cogrossi S., Razuoli E., Bertoni G. Metabolic stress and inflammatory response in high-yielding, periparturient dairy cows. *Res. Vet. Sci.*, 2012; vol. 93: pp. 695-704.

90-Tsatas D., Baker M.S., Rice G.E. Differential expression of proteases in human gestational tissues before, during and after spontaneous onset labour at term. *J. Reprod. Fertil.*, 1999; vol. 116: pp. 43-49.

**Materiale disponibile on line per gli utenti che hanno acquistato il percorso FAD: "Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte".*

***Bibliografia completa disponibile on line.*

RIPRODUZIONE

Lo stress ossidativo e l'immunodepressione da periparto

RIASSUNTO

Con l'avvio della lattazione, la bovina affronta una condizione di bilancio energetico negativo con forte mobilitazione del tessuto adiposo, che sollecita severamente il fegato. Contemporaneamente, questa fase è spesso caratterizzata da alterazioni dell'efficienza immunitaria, oltre che da una risposta infiammatoria dovuta all'esposizione a diversi stressori infettivi e non infettivi. In questo scenario, si inserisce una condizione di stress ossidativo che, nel periparto, è imputabile essenzialmente allo sviluppo di fatti infettivo-infiammatori e allo straordinario incremento dell'attività metabolica necessaria ad avviare e sostenere la lattazione. Si descrivono i meccanismi che collegano lo stress ossidativo, la riduzione dell'immunocompetenza e i fenomeni infiammatori nel periparto della bovina da latte, con particolare enfasi rivolta ai marcatori ematici, utili a indagare questi aspetti e le loro conseguenze sulla lattazione.

Parole chiave: periparto, stress ossidativo, infiammazione, immunocompetenza.

SUMMARY

The oxidative stress and the immunosuppression in peripartum

At the beginning of lactation, cows face an important negative energy balance state and a severe mobilization of the adipose tissue, that modify deeply the hepatic functions. At the same time, immune system is often altered and cows showed an inflammatory response, due to the exposure to various infectious and non-infectious stressors. In this scenario, cows did experience in their peripartum of a condition of oxidative stress, that is mainly justified by the development of infectious-inflammatory events and by the extraordinary increase in metabolic activity required to initiate and sustain lactation. In this dossier are described the mechanisms which link the oxidative stress, the reduction of the immunocompetence and the development of inflammatory response in the peripartum of dairy cows, with particular emphasis to the biomarkers of blood useful to investigate these phenomena and their impact on the subsequent lactation.

Keywords: peripartum, oxidative stress, inflammation, immune competence.

Erminio Trevisi¹, Massimo Amadori², Andrea Minuti¹

¹ Istituto di Zootecnica, Facoltà di Scienze agrarie, alimentari ed ambientali, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza

² Laboratorio di Immunologia cellulare, Istituto zooprofilattico sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia

È ben noto che il parto e l'avvio di una nuova lattazione impongono enormi sollecitazioni fisiologiche ai meccanismi omeostatici della bovina da latte [13, 18]. Nonostante gli straordinari progressi ottenuti in questi anni in termini alimentari, tecnologici e di miglioramento genetico, il periparto resta spesso un'esperienza disastrosa per la bovina da latte ad alta produzione [12], come confermato dall'elevata incidenza di affezioni in avvio di lattazione, di tipo sia metabolico sia infettivo. Mulligan e Doherty [22] stimano che il 50% delle bovine manifesta almeno una dismetabolia nel periparto, ma probabilmente questo dato maschera una condizione ancor più grave, in quanto non include le condizioni subcliniche di malattia. Da tempo, infatti, viene segnalato che più bovine di quelle sottoposte a terapie presentano condizioni di salute inadeguate quando vengono monitorati specifici indicatori plasmatici [4, 6]. Tali soggetti, apparentemente, superano in autonomia il periodo critico, ma quando valutati in modo più approfondito mostrano conseguenze in termini di ridotta produzione, inadeguata fertilità e ridotto benessere, che accorciano inevitabilmente la loro carriera produttiva (attualmente, il numero medio di lattazioni della Frisone italiana si attesta intorno a 2,5). Sebbene il periparto sia un fattore di rischio per la comparsa di malattie nella bovina, non è scontato che l'aumentata potenzialità produttiva debba determinare un'aumentata frequenza di affezioni. È esperienza comune che la frequenza di patologie negli allevamenti più produttivi sia molto variabile, oscillante dall'assenza a percentuali a doppia cifra. L'elevata incidenza di patologie si verifica anche in allevamenti con modeste performance, suggerendo che non esiste incompatibilità tra performance produttive e buone condizioni di salute e benessere, ma

che spesso a difettare sono le conoscenze e il management.

Fondamenti della risposta agli stressori non infettivi

Gli eventi di patologia precedentemente descritti trovano origine in un fallimento della reazione di adattamento ambientale delle bovine da latte alle turbe profonde dell'omeostasi nel periodo del periparto. La combinazione di enormi sollecitazioni metaboliche e funzionali, derivanti da gravidanza, parto e avvio della lattazione, in un contesto di grave Bilancio Energetico Negativo (BEN), infatti, può determinare un sovraccarico dei consueti sistemi di regolazione omeostatica e portare a rotture gravi degli equilibri fisiologici. Sulla bovina possono agire anche stressori microbici infettivi, correlati a episodi di mastite, metrite e affezioni podali. Prevalente tuttavia, nella maggioranza dei soggetti, un quadro di "infiammazione sterile", ovvero di risposta infiammatoria al complesso di stressori fisici, metabolici e psicotici tipici di tale fase. Tali stressori sono in grado di suscitare una risposta infiammatoria del sistema immunitario innato, sulla base di due distinte classi di marcatori di esposizione:

- abnorme accumulo nello spazio extracellulare di prodotti del danneggiamento cellulare (*Damage-associated Molecular Patterns*, DAMPs);
- neo-antigeni sulla superficie cellulare (*stress antigens*).

La risposta infiammatoria è sostenuta, in particolare, dai leucociti della serie mieloide (granulociti e monociti), ma possono essere coinvolti anche altri tessuti. Tale risposta mira a ripristinare l'omeostasi del soggetto nei confronti di *noxae* ambientali diverse e variegata. Al tempo stesso, il sistema immunitario esercita una funzione fondamentale

Formazione a distanza

di controllo del processo flogistico, atto a evitare danni tissutali e fenomeni immunopatologici, nonché un dispendio eccessivo di energia metabolica correlata ai processi infiammatori. Tale dispendio è dovuto, in parte, alla spesa energetica delle cellule leucocitarie implicate e, in parte, alla ridotta efficienza di utilizzo dell'energia (fosforilazione ossidativa e ciclo di Krebs) in presenza di risposta infiammatoria [3].

Tale quadro deve essere interpretato nel senso di variazioni quali-quantitative rispetto a un profilo basale di "infiammazione omeostatica". Ciò significa che l'organismo produce di continuo, a bassa concentrazione, mediatori di flogosi, quali residui di acidi nucleici e acidi grassi. Tale produzione ha il fine di determinare uno stato di pronta reattività e di efficienza del sistema immunitario innato ed è alla base del fenomeno ben noto di espressione costitutiva di diverse molecole interferon in soggetti sani, in assenza completa di infezioni microbiche. Qualora, tuttavia, la secrezione di tali mediatori flogistici vada fuori controllo e raggiunga pertanto livelli elevati, i sistemi di controllo omeostatico possono risultare inadeguati e si può giungere allo stadio di "infiammazione irreversibile". Questa è una condizione assai pericolosa per l'ospite, in quanto predispone

a danni tissutali e all'insorgenza di patologie diverse, variegata, di natura condizionata, all'interno delle quali si può evidenziare o meno una componente microbica. I concetti appena enunciati sono dettagliati e spiegati in un recentissimo libro, dal titolo "One Health", che descrive le evidenti correlazioni tra risposta immunitaria innata a stressori non infettivi e insorgenza di diverse e gravi patologie nell'uomo e negli animali [1]. Questa è la cornice concettuale in cui collocare le malattie del periparto della bovina da latte, che consente di delineare più efficaci strumenti di monitoraggio, controllo e profilassi.

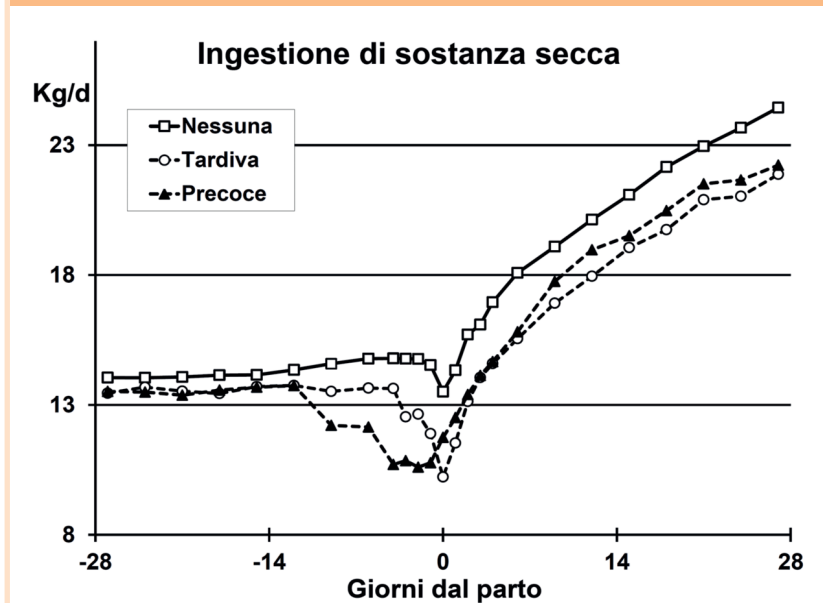
Genesi e controllo dello stress ossidativo

L'ossigeno (O_2) è un fattore chiave degli organismi viventi e un elemento fondamentale di molte reazioni cellulari. In effetti, l'ossigeno è indispensabile per la fosforilazione ossidativa, il processo più efficace per la produzione di ATP e, quindi, dell'energia necessaria a sostenere l'attività di tessuti e organi. Tuttavia, taluni prodotti delle ossidazioni biologiche possono provocare gravi danni, come il danneggiamento delle membrane cellulari. Poiché molti dei processi ossidativi sono necessari nella normale attività delle cellule e in alcune funzioni immunitarie, non si possono utilizzare sistemi atti a impedirli, ma solo a controllarli [11].

Al fine di evitare danni tissutali, le ossidazioni biologiche vengono confinate alla membrana interna dei mitocondri. Inoltre, le ossidazioni derivanti dall'attivazione dei granulociti durante i processi infettivo-infiammatori (*oxidative burst*) tendono a decadere rapidamente. Qualora le ossidazioni biologiche avvengano al di fuori di limiti strettamente controllati, si può manifestare una condizione di stress ossidativo. Questo può essere definito come una condizione di squilibrio tra produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS, quali anione superossido, perossido di idrogeno, ossigeno singoletto ecc.) e fattori di difesa antiossidativa (glutazione, glutazione perossidasi, vitamina E, selenio ecc.).

Le specie reattive dell'ossigeno danno luogo a pericolose ossidazioni di lipidi, proteine e acidi nucleici, che possono compromettere funzioni vitali per l'ospite. Inoltre, sebbene le specie reattive dell'ossigeno hanno un tempo di emivita ridottissimo, le alterazioni a sfondo ossidativo sono propagate efficacemente nei substrati organici che, in presenza di ioni ferro, trasferiscono elettroni a substrati non ossidati (reazione di Fenton).

Figura 1. Variazioni dell'ingestione di sostanza secca in bovine da latte



Andamento dell'ingestione di sostanza secca in bovine da latte con una riduzione precoce (▲), un calo limitato all'ultima settimana di gestazione (○) o senza alcuna riduzione (□) dell'ingestione di sostanza secca prima del parto.

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 8

I radicali liberi dell'ossigeno (alcossilici e perossidici) sono comunemente misurati come metaboliti reattivi dell'ossigeno (idroperossidi) o ROMs (*Reactive Oxygen Metabolites*) e rappresentano prodotti di "scarto" cellulare; questi si formano naturalmente e continuamente in quantità modeste nel corso della respirazione cellulare. Il loro quantitativo può accrescersi a dismisura per cause diverse: fenomeni infettivo-infiammatori, lavoro eccessivo, eccessiva irradiazione solare, squilibri alimentari (ad esempio, eccesso di energia), presenza di inquinanti ambientali [11].

Quali sono le cause più frequenti di stress ossidativo nell'ambito delle condizioni metaboliche della bovina da latte nel periparto? Per rispondere a tale quesito bisogna tenere presente che l'omeostasi dei livelli di ossigeno è finemente regolata. Se la richiesta di ossigeno sale per le aumentate ossidazioni biologiche tessutali, gli elevati livelli di proliferazione cellulare e/o ridotto flusso ematico, subentra una condizione di stress denominata ipossia. L'ipossia può instaurarsi anche in seguito alla risposta dei leucociti a stressori infettivi o non infettivi, anche metabolici. La corrispondente secrezione di citochine e chemochine infiammatorie può determinare danni collaterali ai tessuti generanti ipossia. In particolare, le alterazioni delle cellule endoteliali in senso protrombotico alterano il flusso ematico e la fornitura di ossigeno, con conseguente ipossia.

Il concetto di ipossia deve essere opportunamente chiarito.

L'aria contiene il 21% di ossigeno, il 78% di azoto e basse concentrazioni di anidride carbonica, argon ed elio. Poiché l'aria ha una pressione totale di 760 mm Hg, la pressione parziale di ossigeno (pO_2) al livello del mare è 159 mm Hg ($21/100 \times 760 = 159$). La pO_2 negli alveoli polmonari cade a circa 100 mm Hg (16% O_2), quindi decresce ulteriormente sino a circa 40 mm Hg (6% O_2) nella maggior parte dei tessuti. L'ipossia è una delle principali cause di stress ossidativo. In effetti, la catena di trasporto degli elettroni nei mitocondri è un vero e proprio sensore della pO_2 , che reagisce a condizioni di ipossia, con abnorme rilascio di ROS. A loro volta, i ROS alterano la prolil idrossilasi (PHD), ovvero una componente fondamentale per il controllo della risposta da ipossia basata sul fattore *Hypoxia Inducible Factor*-a e b (HIF-a e HIF-b) [16]. La risposta da ipossia si traduce in alterazioni di numerose funzioni, quali angiogenesi, eritropoiesi e metabolismo energetico. Una delle principali conseguenze della risposta da ipossia è la promozione

della glicolisi anaerobica per produrre ATP. Tale fenomeno può essere considerato un meccanismo protettivo contro i danni tessutali da ROS. In effetti, in condizioni di ipossia, i mitocondri generano un'abnorme quantità di ROS nell'ambito di una fosforilazione ossidativa molto meno efficiente. Questo è in sostanza il meccanismo molecolare che spiega la ridotta efficienza produttiva di animali che dispiegano elevate risposte infiammatorie e di stress ossidativo [28].

Nella bovina da latte ad alta produzione, non si può escludere la presenza di elementi predisponenti allo stress ossidativo, derivanti dalla selezione genetica, come già dimostrato nei suini a rapida crescita a carne magra. In questi animali, infatti, uno stress ossidativo cronico è generato da ipossia tessutale, derivante dallo squilibrio strutturale tra sviluppo delle masse muscolari e sviluppo dell'apparato cardiocircolatorio [7].

Rapporti con la risposta infiammatoria

L'insorgenza, il decorso e gli esiti dello stress ossidativo sono strettamente legati alla risposta infiammatoria. La correlazione tra questi fenomeni è molto chiara, innanzitutto per lo stress ossidativo da ipossia. Nell'uomo, i soggetti che soffrono di malattia da altitudine hanno pure elevati livelli ematici di citochine infiammatorie, in particolare di interleuchina-6. Stretti collegamenti sono stati individuati anche in altre patologie dell'uomo, quali artrite reumatoide, malattie infiammatorie croniche intestinali, aterosclerosi, ischemia [25].

Gli influssi e l'interdipendenza tra i 2 fenomeni sono reciproci. In particolare, la risposta da ipossia basata su HIF può anche essere stimolata in condizioni normossiche da prodotti batterici, citochine, mediatori infiammatori e stress di varia natura. Viceversa, fagociti mononucleati esposti a ipossia (risposta HIF) esprimono alti livelli di citochine proinfiammatorie (IL-1 β , TNF- α) e di molecole di adesione. Inoltre, i recettori del sistema immunitario innato, denominati toll-like receptors 2 e 6 (deputati alla percezione degli stimoli flogistici), sono maggiormente espressi in seguito a ipossia/risposta HIF [25].

Più in generale, condizioni di stress ossidativo cronico predispongono a un ridotto controllo omeostatico delle risposte infiammatorie. In particolare, lo stress ossidativo provoca il rilascio di enzimi, denominati "redoxchine", che amplificano i segnali della risposta infiammatoria sostenuta da TNF- α e hanno pure attività simil-citochinica. Sperimentalmente, *in vitro*, sussiste l'evidenza che TNF-

Formazione a distanza

α induce peroxiredoxina-2 (redoxchina) e, viceversa, peroxiredoxina-2 induce TNF- α in macrofagi [26].

Fenomeni caratteristici del periparto

1. Mobilizzazione delle riserve

È noto che la bovina non riesce a soddisfare la richiesta di nutrienti (energia soprattutto) della mammella per la sintesi del latte in avvio di lattazione e, spesso, anche nei giorni immediatamente precedenti al parto. Questo fatto instaura la condizione di BEN e la conseguente mobilizzazione delle riserve corporee: principalmente trigliceridi immagazzinati nel tessuto adiposo, ma anche proteine muscolari.

Questa condizione è misurabile sia attraverso la variazione di BCS (*Body Condition Score*) sia con l'aumento di acidi grassi non esterificati (NEFA) nel plasma. Nei ruminanti, è il fegato che rielabora i NEFA circolanti, ossidandoli o riesterificandoli e rimettendoli in circolo come lipoproteine. Un deficit di ossidazione causa accumulo di corpi chetonici (ad esempio, β -idrossibutirrato = BOHB) e, quindi, chetosi, mentre un'adeguata produzione di lipoproteine induce la steatosi epatica. In entrambi i casi, si verificano gravi implicazioni sulla funzionalità epatica e ripercussioni sulla salute e le performance dell'animale. L'alimentazione, le sollecitazioni ambientali e lo stato di salute interferiscono con tali dismetabolie. Ad esempio, l'eccesso di energia in asciutta aumenta il rischio di problemi di salute al parto, peggiorando il deficit energetico in avvio di lattazione.

2. Cambiamenti di ingestione

L'ingestione degli alimenti è un ottimo indicatore delle condizioni di salute delle bovine. Purtroppo, non è una misura di facile rilevazione. Il deficit energetico nel periparto è spesso attribuito al suo calo, da molti ancora considerato quasi ineluttabile [14]. In realtà, esiste un'ampia gamma di comportamenti alimentari a termine gestazione (figura 1), che spesso sono giustificati da problematiche di tipo subclinico ed asintomatiche [5]. Esiste tuttavia una relazione tra andamento dell'ingestione di alimenti preparto e stato di salute nel periparto. Per cui, il calo di ingestione si associa alla comparsa di affezioni subcliniche, correlate a un più marcato innalzamento di NEFA e BOHB, mentre le bovine senza riduzioni importanti al parto sono quelle con le migliori condizioni cliniche e performance. Per questo, quanto più elevata è l'ingestione prima del parto quanto più rapido sarà l'aumento di in-

gestione nel 1° mese di lattazione [14]. Pertanto, qualsiasi evento che riduce l'ingestione prima del parto compromette il quadro fisiologico e metabolico. L'uso di dispositivi che danno indicazioni anche indirette del livello di ingestione (ad esempio, sensori che misurano l'attività ruminale) sono estremamente utili per rivelare tempestivamente fenomeni di inappetenza [9].

3. Eventi infiammatori

Il periparto si caratterizza per la presenza di importanti eventi infiammatori, che denotano la presenza di agenti causali di varia natura, infettiva o asettica [30]. Il processo infiammatorio inizia con la comparsa di modificazioni della circolazione arteriolare (vasodilatazione) e di alterazioni della parete dei capillari sanguigni che, in seguito all'aumentata permeabilità, consentono a cellule (ad esempio, monociti) o altre componenti (ad esempio, proteine del complemento) di lasciare il torrente ematico e migrare negli interstizi dei tessuti danneggiati. La risposta infiammatoria suscita una catena di eventi, tra i quali la produzione di mediatori, con effetti locali e sistemici [10]. Le citochine proinfiammatorie (TNF- α , IL-1 β e IL-6) [10, 15] sono tra i più importanti, in quanto innescano un processo a cascata finalizzato a iniziare e amplificare la risposta, a sostenere e/o attenuare il processo in relazione alla sua gravità e, infine, a indurre la risoluzione [30]. A livello epatico, la risposta all'evento infiammatorio stimola la cosiddetta "Risposta di Fase Acuta" (RFA), che comporta la sintesi e relativa immissione nel plasma di alcune proteine, definite proteine positive di fase acuta (*positive Acute Phase Proteins*, posAPP) e, spesso, la riduzione della sintesi di altre proteine, definite proteine negative di fase acuta (*negative Acute Phase Proteins*, negAPP). Nell'ambito di tale risposta, il profilo delle proteine sintetizzate dal fegato viene notevolmente alterato [15, 30], per cui nel plasma aumentano le proteine di difesa, come l'aptoglobina, il fibrinogeno, la proteina C reattiva, la frazione C3 del complemento e la ceruloplasmina, che attenuano alcuni effettivi negativi della risposta infiammatoria come lo stress ossidativo (figura 2). Altre proteine, come la ferritina e la metalotioneina, anch'esse aumentate dalla RFA, comportano l'accumulo nel fegato di ferro e zinco, elementi sottratti dal sangue per contrastare lo sviluppo dei patogeni. Questa aumentata attività epatica spesso sottrae risorse per le usuali azioni sintetiche, per cui può essere ridotta la sintesi di proteine, quali albumine,

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 8

lipoproteine, carrier di vitamine liposolubili (come la "Retinol Binding Protein" o RBP, vettore della vitamina A) e ormoni (ad esempio, transcortina), con il conseguente loro calo nel plasma [15, 30]. La risposta infiammatoria talora è mal controllata, e può accadere che le conseguenze siano superiori ai danni causati dal patogeno. Per questa ragione le posAPP hanno anche il compito di facilitare il ripristino dell'omeostasi. La ceruloplasmina, ad esempio, ha una funzione antiossidante ed è efficace nei confronti dei ROMs.

4. Stress ossidativo

In accordo con i concetti sopra espressi, nella bovina da latte, situazioni di stress ossidativo si possono verificare nel periparto, essenzialmente per due ragioni: a seguito di fatti infettivo-infiammatori e in avvio di lattazione, come conseguenza dello straordinario incremento dell'attività metabolica necessaria ad avviare e sostenere la lattazione stessa. In figura 3 si osserva che in bovine clinicamente sane si rileva un aumento dei ROMs immediatamente dopo il parto. Al contrario, la presenza di differenti concentrazioni di ROMs tra le bovine prima del parto sembra riconducibile a un diverso *status* infiammatorio di base [29], meritevole di approfondimenti.

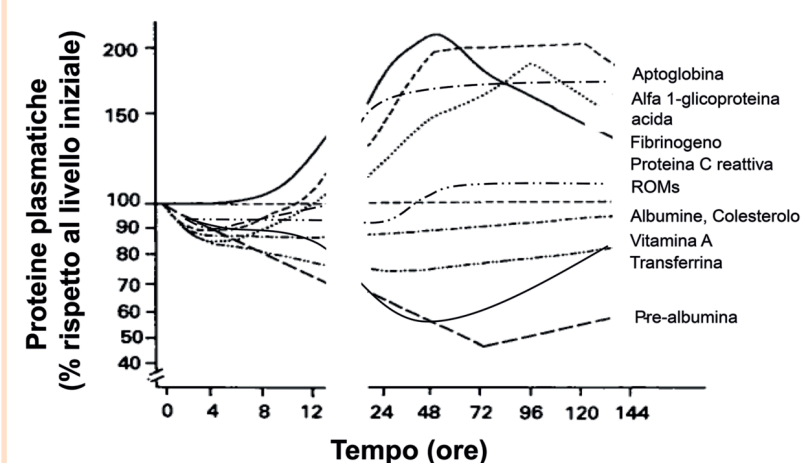
Immunodepressione nel periparto

Come precedentemente dimostrato, esiste una stretta correlazione tra l'insorgenza di infezioni e immunosoppressione nelle vacche dalatte nel periodo del periparto. Diversi studi hanno evidenziato la compromissione della capacità di linfociti e neutrofili di rispondere agli agenti microbici, il che costituisce una plausibile spiegazione dell'alta incidenza di infezioni (specie metriti e mastiti) durante il primo periodo di lattazione [19, 22].

L'immunosoppressione va di pari passo con spiccati cambiamenti delle condizioni endocrine, nutrizionali e metaboliche, non paragonabili per gravità e durata con altri fasi della vita delle bovine da latte. Le cause più comuni di tali alterazioni sono:

- un aumento delle concentrazioni di cortisolo per diverse ore in circolo nei giorni attorno al parto;
- squilibri metabolici (BEN, ipocalcemia ecc.);
- inadeguata assunzione di sostanza secca;
- ridotto apporto di nutrienti essenziali per la funzionalità del sistema immunitario (vitamine A ed E, selenio, rame e zinco);
- disturbi digestivi a causa di improvvisi cambiamenti nella dieta, stress o patologie;

Figura 2. Variazione dei livelli di proteine plasmatiche in seguito a un insulto infiammatorio.



- danni da stress ossidativo sulle membrane delle cellule leucocitarie;
- impatto di comuni stressori ambientali correlati alla gestione della mandria.

Gli eventi di cui sopra contribuiscono all'immunosoppressione nel periparto, come dimostrato in studi precedenti [8, 14]. Si deve notare, tuttavia, che la maggior parte di essi si verifica al momento del parto o subito dopo. È presumibile, quindi, che ci siano altre cause di immunodepressione, considerando che segni di una risposta immunitaria innata alterata possono manifestarsi già in asciutta, 2-4 settimane prima del parto.

Il BEN e i fenomeni ad esso correlati (vedi sindrome del fegato grasso) sono sicuramente potenti fattori di immunodepressione [19]. Diversi studi sono stati quindi eseguiti per stabilire possibili relazioni di causa-effetto tra BEN e compromissione della risposta immunitaria nei ruminanti da latte nel periparto. I risultati hanno evidenziato, tra l'altro, un'alterata espressione dei geni correlati alla risposta infiammatoria e alla risposta immunitaria specifica, di tipo adattativo [21].

Alcuni studi hanno indicato che i ruminanti in chetosi sono immunodepressi, in relazione a un aumento della concentrazione plasmatica di alcuni metaboliti, quali corpi chetonici e NEFA [20]. In particolare, elevate concentrazioni plasmatiche di NEFA, corrispondenti a lipomobilizzazione intensa, alterano:

- la capacità dei linfociti di proliferare e secernere immunoglobuline M e interferone-γ in risposta a stimoli policlonali (mitogeni) [20];
- la vitalità e la risposta ossidativa dei gra-

Formazione a distanza

nulociti neutrofili [27].

Per questo, alcuni autori hanno suggerito che le concentrazioni plasmatiche di NEFA potrebbero essere marcatori diagnostici di immunità alterata e di elevato rischio di infezioni attorno al parto [23]. In particolare, Ospina *et al.* [23] hanno stabilito che valori plasmatici di NEFA superiori a 0,3 e 0,6 mmol/l, rispettivamente nel preparto e nel post parto, sono associati a un aumentato rischio di dislocazione abomasale, chetosi clinica, ritenzione di placenta e metrite. In aggiunta a ciò, un netto peggioramento delle condizioni infiammatorie e segni di immunosoppressione nel periodo perinatale sono stati ripetutamente rilevati dagli autori nel corso di studi di campo su coorti di bovine Frisone. In particolare, ridotta risposta blastica dei linfociti ai mitogeni e più bassi livelli di complemento emolitico intorno al parto erano correlati a una risposta di fase acuta del fegato, valori ematologici alterati, ipoalbuminemia persistente e iperalfaglobulinemia.

Valutazione delle condizioni metaboliche e infiammatorie nel periparto

Il profilo metabolico è stato proposto oltre 40 anni fa da ricercatori inglesi [24] per fornire elementi obiettivi di giudizio sulle malattie non rapidamente diagnosticabili e per rendere

più tempestiva la diagnosi di errori alimentari. Il suo impiego in allevamento ha incontrato numerosi ostacoli, legati soprattutto alla standardizzazione delle procedure di prelievo, all'interpretazione e ai costi [3]. Gli indicatori ematici utili a fornire indicazioni diagnostiche nel periparto possono essere raggruppati in tre categorie: indici del bilancio energetico (glucosio, NEFA, BOHB), indici della risposta di fase acuta (ovvero di stati infiammatori) e indici dello stress ossidativo.

1. Indici del bilancio energetico

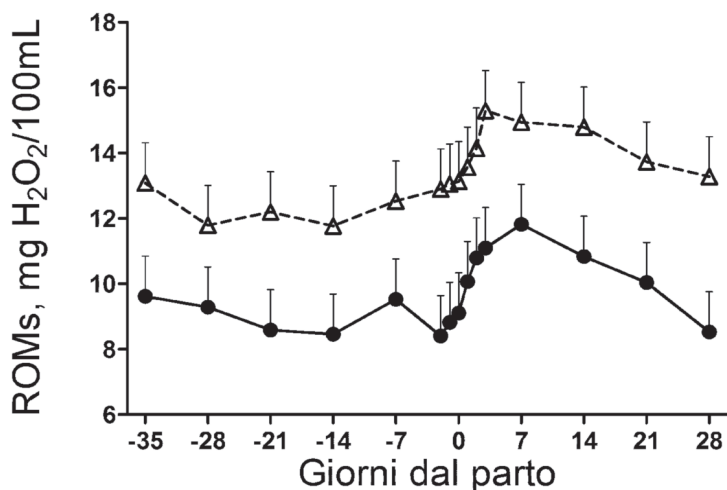
Solitamente, nel periparto, pur con BEN elevato, il glucosio ematico si riduce, ma recupera valori entro l'intervallo di riferimento (3,3-3,9 mmol/l) rapidamente, anche quando il deficit energetico non è ancora del tutto esaurito. In genere, la glicemia offre utili indicazioni solo se determinata nella prima settimana di lattazione.

Indicatori più robusti di BEN sono NEFA e BOHB. La concentrazione dei NEFA è di norma molto bassa (meno di 0,1 mmol/l) e è proporzionale alla mobilizzazione di lipidi dal tessuto adiposo. Oltre 1,0 mmol/l denota un eccessivo ricorso alle riserve, con conseguente rischio di sviluppare chetosi e steatosi. Più diffusa è la determinazione del BOHB, corpo chetonico che si forma nel fegato a seguito della ridotta capacità di ossidare gli acidi grassi mobilizzati, per l'insufficiente disponibilità di energia (glucosio). Il valore di 1,4 mmol/l è considerato la soglia di chetosi subclinica; tuttavia, già a concentrazioni superiori a 0,6 mmol/l, è stato osservato un aumento del rischio di varie dismetabolie, come già ricordato. Valori ematici di NEFA e BOHB oltre le soglie citate si osservano solo dopo il parto, ma il loro innalzamento può iniziare nella fase terminale della gravidanza nel caso in cui si manifestino problemi di salute associati a un importante calo dell'ingestione alimentare. In queste situazioni, l'innalzamento oltre 0,3 mmol/l per i NEFA e 0,7-0,8 mmol/l per il BOHB già rappresentano situazioni di rischio. I fattori di variazione di questi parametri sono tuttavia molteplici; il pasto, in particolare, riduce i livelli di NEFA e aumenta quelli di BOHB, per cui la loro corretta valutazione richiede una rigida standardizzazione del prelievo ematico. Va ricordato che l'aumento dei livelli di NEFA e BOHB è frequentemente indotto dalla presenza di patologie che deprimono l'appetito. In questi casi, la chetosi può essere contrastata efficacemente solo rimuovendo l'agente causale.

2. Indici dell'infiammazione

Il periparto della bovina, anche in assenza di

Figura 3. Andamento della concentrazione di ROMs plasmatici durante il periparto



L'andamento della concentrazione di ROMs plasmatici durante il periparto è stato valutato in bovine da latte raggruppate in base alla concentrazione di citochine proinfiammatorie misurate durante la fase di asciutta [29]. Il simbolo △ indica il gruppo con un'alta concentrazione di citochine proinfiammatorie, il simbolo ● indica il gruppo con una bassa concentrazione di citochine proinfiammatorie.



Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 8

patologie conclamate, è caratterizzato da un quadro ematochimico tipico dell'evento infiammatorio e della conseguente risposta di fase acuta [29].

La risposta infiammatoria è mediata dal rilascio di citochine proinfiammatorie, la cui concentrazione appare correlata con le performance delle bovine all'esordio della lattazione [29]. Le posAPP sono utili per rilevare la presenza di patologie di tipo sia clinico sia subclinico che attivano la RFA. Ad esempio, il calo di ingestione nelle ultime settimane di gestazione è stato associato al loro aumento, nonché alla comparsa anticipata di BEN e all'aumento ematico di NEFA e corpi chetonici. La determinazione di tali citochine in campo appare prematura, mentre le variazioni delle posAPP sono state già associate a importanti conseguenze nella bovina in avvio di lattazione, quali: aumentata incidenza di patologie, riduzione delle performance (quantità di latte e fertilità), aumentata deposizione di trigliceridi nel fegato [30]. Oltre all'aumento delle posAPP (ad esempio, aptoglobina e ceruloplasmina), altre variazioni dell'attività epatica sono di utilità diagnostica, come quelle delle negAPP (ad esempio, albumine, paraoxonasi, *retinol binding protein* che trasporta la vitamina A, lipoproteine abitualmente misurate come colesterolo).

3. Indici dello stress ossidativo

In relazione ai fenomeni peculiari del periparto, è possibile che si verifichi uno squilibrio tra molecole pro-ossidanti e antiossidanti in avvio di lattazione [11]. D'altra parte, la stessa risposta immunitaria è responsabile di un'elevata produzione di molecole pro-ossidanti. Per questa ragione, possono essere utili le determinazioni di specifici indicatori come i ROMs. Per quanto riguarda la misura della capacità antiossidante, la complessità del sistema, la difficoltà analitica e la numerosità delle interazioni tra i vari composti nei sistemi biologici rende oggettivamente difficile la valutazione dello stress ossidativo in allevamento, sebbene esistano vari indici (ad esempio, FRAP e ORAC). Attualmente, non sono disponibili metodiche standardizzate per i biomarcatori dello stress ossidativo e mancano specifici range di riferimento. Presso L'ISZ della Lombardia e dell'Emilia Romagna si adotta come valore di riferimento normofisiologico una capacità antiossidante del campione di siero $>200 \mu\text{mol HClO/ml}$ nel test OXY-Adsorbent. Sulla base dell'esperienza degli autori, i ROMs sono comunque l'indicatore più solido. In asciutta, appaiono accettabili concentrazioni sino a $10 \text{ mg H}_2\text{O}_2/100 \text{ ml}$, mentre dopo il parto, sembra fisiologico un aumento sino a $13 \text{ mg H}_2\text{O}_2/100 \text{ ml}$, anche se

temporanei picchi sino a $16-17 \text{ mg H}_2\text{O}_2/100 \text{ ml}$ non sembrano essere associati a particolari danni biologici.

Indici complessi predittivi del successo del periparto e della lattazione

Considerate le notevoli ripercussioni negative nei soggetti che mostrano un profilo ematochimico inadeguato, appare chiaro che, in allevamento, la misurazione di alcuni indici può essere molto utile. Emerge, tuttavia, la difficoltà di valutare più aspetti contemporaneamente. Una possibile strategia è quella di sviluppare degli indici composti che includano i biomarcatori più rappresentativi. Di seguito, si riportano alcuni indici complessi che sono stati elaborati dagli autori e descritti nel libro curato da Amadori [1].

1. Liver Activity Index (LAI)

Il LAI include la media delle concentrazioni ematiche a 7, 14 e 28 giorni di lattazione (*Day In Milk*, DIM) di albumina, lipoproteine (indirettamente misurate come colesterolo totale) e *Retinol Binding Protein* (RBP, misurato come retinolo). Il valore di LAI rappresenta una stima delle conseguenze dello stato infiammatorio che si verifica nel periparto in ciascuna bovina ed è valutato entro l'allevamento. Esprime una valutazione retrospettiva, ma individua i soggetti che non hanno recuperato un'adeguata condizione funzionale a livello metabolico, pur non mostrando spesso manifestazioni cliniche.

2. Liver Functionality Index (LFI)

L'LFI include tre parametri ematici: albumina, lipoproteine e bilirubina totale (come misura indiretta degli enzimi sintetizzati dal fegato, che coordinano la rimozione della bilirubina dal sangue). L'LFI misura le variazioni di concentrazione dei 3 parametri tra 3 e 28 DIM, standardizzate con le concentrazioni ottimali dei 3 parametri, ottenute da bovine sane nelle medesime fasi di lattazione. Come per il LAI, l'LFI consente di valutare le conseguenze dei fenomeni infiammatori che si verificano nel periparto. Tuttavia, l'LFI rappresenta un valore assoluto, per cui può essere usato per confrontare bovine provenienti da allevamenti diversi.

3. Postcalving Inflammatory Response Index (PIRI)

Il PIRI include 4 parametri ematici, di cui 3 legati all'aspetto infiammatorio, aptoglobina, colesterolo e paraoxonasi, e uno legato all'aspetto ossidativo, i ROMs, tutti misurati



Formazione a distanza

al 7° giorno di lattazione (DIM). Nel PIRI, ognuno di questi parametri contribuisce a uno score parziale che va da 0 a 10, in modo tale che lo score finale (0-40 più alto è lo score meglio è) dia un'indicazione sulla condizione ossidativo-infiammatoria nel post parto.

4. Indici predittivi di risposta immunitaria innata

La concezione comunemente accettata del sistema immunitario prevede un comparto di risposta immunitaria innata (non specifica), umorale e cellulare (granulociti polimorfonucleati, macrofagi, lisozima, complemento, pentraxine, ecc.), correlato alle fasi immediata e precoce (3-4 giorni) della risposta immunitaria, senza induzione di memoria immunologica. A tale fase segue l'attività del sistema immunitario adattativo (produzione di anticorpi e di linfociti T citotossici specifici), che riconosce singole proteine degli agenti microbici e induce memoria immunologica. Tale concezione, ancorché corretta, è tuttavia in contraddizione con ripetute osservazioni sulla "maturazione" della risposta immunitaria innata di tipo *Natural Killer* (NK) dopo ripetuti "incontri" con un virus [17]. Questo fenomeno è in accordo con l'esistenza di un processo educativo selettivo delle cellule NK e di una loro espansione clonale durante le infezioni virali.

Tale modello potrebbe essere utile per comprendere il rapporto indubbio tra risposta immunitaria innata in asciutta (citochine infiammatorie, quali IL-1 β , IL-6, nonché lisozima) e successive patologie dopo il parto [2, 29].

In tal caso, è lecito supporre che il sistema immunitario innato conservi memoria degli stressori incontrati in asciutta, correlati, ad esempio, alla scarsa igiene e alla conseguente elevata pressione infettante ambientale, in associazione a stimoli fisiologici proinfiammatori ben noti in asciutta: massiccia infiltrazione leucocitaria nella ghiandola mammaria, edema mammario, rilascio di citochine infiammatorie dal tessuto adiposo e dalla placenta [28]. Pertanto, eventi stressanti, apparentemente trascurabili nel periodo di asciutta, potrebbero determinare un "imprinting" sfavorevole sul sistema immunitario innato, responsabile del ridotto controllo omeostatico della risposta infiammatoria dopo il parto. In questo scenario, la determinazione delle citochine infiammatorie sopra menzionate e del lisozima in asciutta, 3-4 settimane prima del parto, potrebbe costituire la base di un sistema di individuazione

precoce delle bovine a rischio di patologie dopo il parto, sulle quali potrebbero essere indirizzati efficaci trattamenti profilattici antinfiammatori e nutraceutici.

Bibliografia

- 1-Amadori M. The innate immune response to noninfectious stressors: human and animal models. Academic Press, London, UK, 2016.
- 2-Amadori M., Fusi F., Bilato D., Archetti I.L., Lorenzi V. Bertocchi L. Disease risk assessment by clinical immunology analyses in periparturient dairy cows. *Res. Vet. Sci.*, 2015; vol. 102: pp. 25-26.
- 3-Bertoni G., Trevisi E. Use of the liver activity index and other metabolic variables in the assessment of metabolic health in dairy herds. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 2013; vol. 29: pp. 413-431.
- 4-Bertoni G., Trevisi E., Han X., Bionaz M. Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2008; vol. 91: pp. 3300-3310.
- 5-Bertoni G., Trevisi E., Lombardelli R. Some new aspects of nutrition, health conditions and fertility of intensively reared dairy cows. *Ital. J. Anim. Sci.*, 2009; vol. 8: pp. 491-518.
- 6-Bionaz M., Trevisi E., Calamari L., Librandi F., Ferrari A., Bertoni G. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2007; vol. 90: pp. 1740-1750.
- 7-Brambilla G., Civitareale C., Ballerini A., Fiori M., Amadori M., Archetti L.I., Regini M., Betti M. Response to oxidative stress as a welfare parameter in swine. *Redox Rep.*, 2013; vol. 7: pp. 159-163.
- 8-Burton J.L., Madsen S.A., Chang L.-C., Weber P.S.D., Buckham K.R., van Dorp R., Hickey M.C., Earley B. Gene expression signatures in neutrophils exposed to glucocorticoids: A new paradigm to help explain "neutrophil dysfunction" in parturient dairy cows. *Vet. Immunol. Immunop.*, 2005; vol. 105: pp. 197-219.
- 9-Calamari L., Soriani N., Panella G., Petrerà F., Minuti A., Trevisi E. Rumination time around calving: an early signal to detect cows at greater risk of disease. *J. Dairy Sci.*, 2014; vol. 97: pp. 3635-3647.
- 10-Ceciliani F., Ceron J.J., Eckersall P.D., Sauerwein H. Acute phase proteins in ruminants. *J. Proteomics*, 2012; vol. 75: pp. 4207-4231.
- 11-Celi P., Gabai G. Oxidant/Antioxidant Balance in Animal Nutrition and Health: The

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 8

- Role of Protein Oxidation. *Front. Vet., Sci.* 2015; vol. 2: pp. 48.
- 12-Drackley J.K. ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *J. Dairy Sci.*, 1999; vol. 82: pp. 2259-2273.
- 13-Goff J.P., Horst R.L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *J. Dairy Sci.*, 1997; vol. 80: pp. 1260-1268.
- 14-Grummer R.R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *J. Anim. Sci.*, 1995; vol. 73: pp. 2820-2833.
- 15-Gruys E., Toussaint M.J.M., Niewold T.A., Koopmans S.J. Acute phase reaction and acute phase proteins. *J. Zhejiang. Univ. Sci. B.*, 2005; vol. 6: pp. 1045-1056.
- 16-Guzy R.D., Schumacker P.T. Oxygen sensing by mitochondria at complex III: the paradox of increased reactive oxygen species during hypoxia. *Exp Physiol.*, 2006; vol. 91: pp. 807-819.
- 17-Horowitz A., Stegmann K.A., Riley E.M. Activation of natural killer cells during microbial infections. *Front Immunol.*, 2012; vol. 2: pp. 88.
- 18-van Knegsel A.T.M., Hammon H.M., Bernabucci U., Bertoni G., Bruckmaier R.M., Gosselink R.M.A., Gross J.J., Kuhla B., Metges C.C., Parmentier H., Trevisi E., Tröscher A., van Vuuren A.M. Adaptation to lactation: key to cow health, longevity and a sustainable dairy production chain. *CAB Review.*, 2014.
- 19-Lacetera N., Scalia D., Bernabucci U., Ronchi B., Pirazzi D., Nardone A. Lymphocyte Functions in Overconditioned Cows Around Parturition. *J. Dairy Sci.*, 2005; vol. 88: pp. 2010-2016.
- 20-Lacetera N., Scalia D., Franci O., Bernabucci U., Ronchi B., Nardone A. Short communication: effects of nonesterified fatty acids on lymphocyte function in dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, 2004; vol. 87: pp. 1012-1014.
- 21-Moyes K.M., Drackley J.K., Morin D.E., Rodriguez-Zas S.L., Everts R.E., Lewin H.A., Loo J.J. Mammary gene expression profiles during an intramammary challenge reveal potential mechanisms linking negative energy balance with impaired immune response. *Physiol. Genomics.*, 2010; vol. 41: pp. 161-170.
- 22-Mulligan F.J., Doherty M.L. Production diseases of the transition cow. *Vet. J.*, 2008; vol. 176: pp. 3-9.
- 23-Ospina P.A., Nydam D.V., Stokol T., Overton T.R. Evaluation of nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *J. Dairy Sci.*, 2010; vol. 93: pp. 546-554.
- 24-Payne J.M., Dew S.M., Manston R., Faulks M. The use of a metabolic profile test in dairy herds. *Vet Rec.*, 1970; vol. 87: pp. 150-158.
- 25-Riboldi E., Sica A. 2016. Modulation of innate immunity by hypoxia. In: The innate immune response to noninfectious stressors human and animal models. M. Amadori (Ed.): Academic Press, London, UK. 2016; pp. 81-97.
- 26-Salzano S., Checconi P., Hanschmann E.M., Lillig C.H., Bowler L.D., Chan P., Vaudry D., Mengozzi M., Coppo L., Sacre S., Atkuri K.R., Sahaf B., Herzenberg L.A., Mullen L., Ghezzi P. Linkage of inflammation and oxidative stress via release of glutathionylated peroxiredoxin-2, which acts as a danger signal. *P. Natl. Acad. Sci. Usa.*, 2014; vol. 111: pp. 12157-12162.
- 27-Scalia D., Lacetera N., Bernabucci U., Demeyere K., Duchateau L., Burvenich C. In vitro effects of nonesterified fatty acids on bovine neutrophils oxidative burst and viability. *J. Dairy Sci.*, 2006; vol. 89: pp. 147-154.
- 28-Trevisi E., Amadori M., Cogrossi S., Razzuoli E., Bertoni G. Metabolic stress and inflammatory response in high-yielding, periparturient dairy cows. *Res. Vet. Sci.*, 2012; vol. 93: pp. 695-704.
- 29-Trevisi E., Jahan N., Bertoni G., Ferrari A., Minuti A. Pro-inflammatory cytokine profile in dairy cows: consequences for new lactation. *Ital. J. Anim. Sci.*, 2015; vol. 14: pp. 285-292.
- 30-Trevisi E., Moscati L., Amadori M. Disease-predicting and prognostic potential of innate immune responses to noninfectious stressors: human and animal models. In: The innate immune response to noninfectious stressors human and animal models. M. Amadori (Ed.): Academic Press, London, UK, 2016; pp. 209-235.

ALIMENTAZIONE

I disordini minerali

Alessandro Fantini

Dairy Production Medicine Specialist, Fantini Professionale Advice Srl, Anguillara Sabazia (RM)

RIASSUNTO

Il complesso dei disordini minerali della vacca da latte rappresentano l'espressione clinica e sub-clinica di carenze ed eccessi di macrominerali, che si possono verificare in ogni fase del ciclo produttivo, ma che in asciutta e nelle prime settimane hanno massima prevalenza. Non sempre le tabelle dei fabbisogni minerali sono funzionali alla piena riduzione della prevalenza di patologie come le sindromi ipocalcemiche e ipomagnesiemiche, l'edema mammario patologico, i disturbi dell'equilibrio acido-base del sangue e lo stress ossidativo. L'inadeguatezza delle tabelle dei fabbisogni è dovuta al fatto che la selezione genetica modifica piuttosto rapidamente l'assetto ormonale e metabolico delle bovine, in funzione di come pesano i diversi caratteri negli indici di selezione. Stesse riflessioni possono essere fatte nell'utilizzare le diverse equazioni di calcolo della DCAD della dieta in asciutta.

Parole chiave: macrominerali, microminerali, eccesso, carenza, asciutta, bovina da latte.

SUMMARY**Mineral disorders**

The complex of mineral disorders of dairy cows represents the clinical expression of sub-clinical deficiencies and macromineral excess, which may occur at any stage of production cycle, but in the dry cows and in the first weeks have maximum prevalence. Not always the tables of mineral needs are functional to the full reduction of the prevalence of diseases and syndromes, such as hypocalcemic and hypomagnesiemic syndromes, pathological udder oedema, blood acid-base balance disorders and oxidative stress. The inadequacy of tables of needs is due to the fact that genetic selection rather quickly modifies hormonal and metabolic trim of cows, depending on the different importance of the characters in the selection indices. Same considerations can be made when using the different equations to calculate the DCAD for the dry cows diet.

Keywords: macromineral, micromineral, excess, deficiency, dry period, dairy cattle.

Le malattie metaboliche rappresentano per la bovina da latte circa il 75% del totale delle patologie che la possono colpire. A eccezione dell'acidosi ruminale, le dismetabolie concentrano la propria massima prevalenza nel periparto o meglio nella fase di transizione tra le ultime settimane di gravidanza e le prime di lattazione. In questo periodo, risiedono anche i principali fattori di rischio. Altro aspetto fondamentale per mettere in atto tutte le dovute misure di prevenzione e controllo è che le malattie metaboliche sono tra loro intimamente connesse, rappresentando spesso l'una un fattore di rischio per l'altra. Inoltre, le malattie metaboliche di per sé compromettono la produzione della successiva lattazione, la fertilità e, più in generale, la longevità produttiva.

Con l'alimentazione la bovina da latte assume una serie piuttosto complessa di nutrienti, classificabili in proteine, carboidrati, grassi, acqua e minerali. Queste molecole costituiscono la cellula vegetale e sono in diverso modo distribuite tra le pareti e il contenuto (figura 1). Per componenti minerali o sali minerali si intendono una parte importante degli elementi essenziali che nessun organismo è in grado di sintetizzare e che, pertanto, devono essere assunti con la dieta. Per disordini minerali si intendono gli eccessi, le carenze o gli alterati rapporti tra loro, generalmente a carico dei cosiddetti macrominerali, come il calcio, il fosforo, il sodio, il potassio, il cloro e il magnesio. La distinzione tra macrominerali e microminerali od oligoelementi, in realtà, è dovuta all'ordine di grandezza con cui se ne misura il fabbisogno: in grammi i primi e in milligrammi i secondi. In questo dossier, si descrivono le funzioni dei macrominerali nel metabolismo della bovina da latte e le principali sindromi e le patologie causate dai loro eccessi e dalle loro carenze.

Macrominerali

I macrominerali sono importanti componenti strutturali dell'osso e di altri tessuti e costituenti dei fluidi corporei. Hanno un ruolo importante

nel bilanciamento acido-base, sulla pressione osmotica, il potenziale elettrico delle membrane cellulari e la trasmissione nervosa (figura 2).

Non tutti i minerali presenti nella dieta vengono assorbiti ed esiste una forte variabilità nella composizione degli alimenti. In considerazione del fatto che i macrominerali sono elementi essenziali e, quindi, non sintetizzabili dagli organismi, essi vengono assunti con la dieta e per ognuno di essi esiste un fabbisogno diverso per la lattazione, la gravidanza, la crescita e il mantenimento. Inoltre, essi sono intimamente legati tra loro, per cui la carenza o l'eccesso dell'uno e il loro rapporto ne può condizionare l'assorbimento intestinale, la mobilizzazione dalle riserve corporee e, più in generale, l'assorbimento. Le principali alterazioni metaboliche, che non sono necessariamente patologie e che verranno descritte in questo capitolo sono le alterazioni dell'equilibrio acido-base, la sindrome ipocalcemiche e l'edema mammario patologico [8, 3].

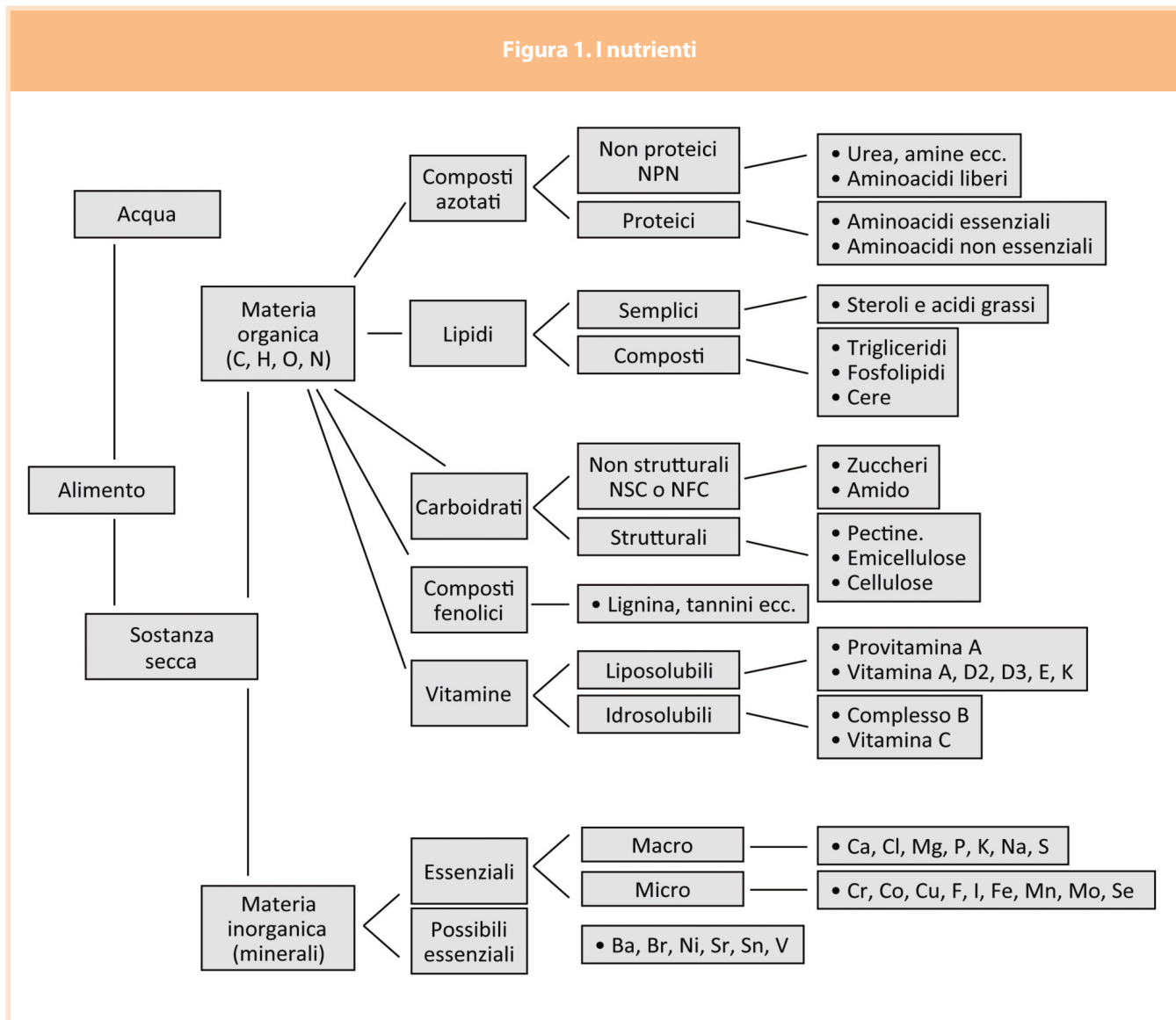
Bilancio acido-base

Ci sono alcune importanti patologie della vacca da latte che hanno nella prevenzione e nella terapia la necessità di manipolare il pH ematico. Esempi possono essere la sindrome dello stress da caldo, l'acidosi metabolica, la sindrome ipocalcemiche e la diarrea del vitello. Anche per chi si occupa di nutrizione, sia essa di base o clinica, la conoscenza di come manipolare il pH del sangue e di quello intracellulare è di fondamentale importanza. Quando si manipola l'apporto orale o parenterale di macroelementi, ossia di calcio, fosforo, magnesio, sodio, potassio e cloro, si va inevitabilmente ad alterare un delicato equilibrio, che ha come principale finalità quella di mantenere stabile il pH del sangue. Ovviamente, a mantenere l'omeostasi dell'equilibrio acido-base del sangue intervengono organi o apparati come i reni, l'apparato gastrointestinale e i polmoni.

Il pH del sangue è l'espressione della concentrazione degli ioni idrogeno in esso presente,

Formazione a distanza

Figura 1. I nutrienti



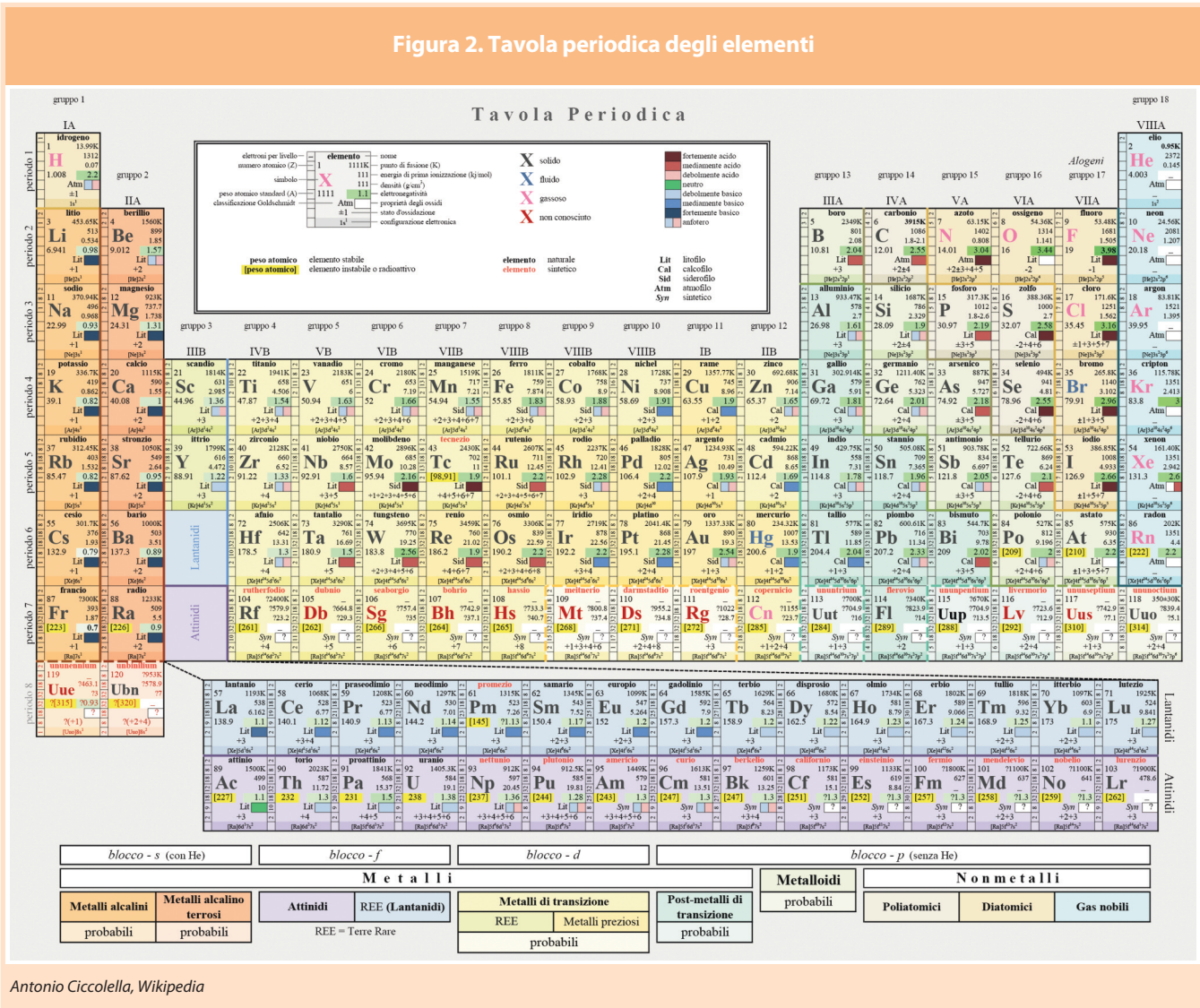
che generalmente è nell'ordine delle 40 nmol/l. Il pH di una soluzione è uguale al logaritmo negativo della concentrazione di ioni idrogeno e viene calcolato appunto come $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$. Quindi, tra concentrazioni di ioni idrogeno di una soluzione e pH esiste una relazione inversa.

Il mantenimento di una stabilità del pH e del suo valore normale, pari a 7,38 (7,31-7,53), è di fondamentale importanza per mantenere l'integrità della configurazione e dell'attività delle proteine, che hanno funzione enzimatica e metabolica come gli ormoni. La bovina, in caso di gravi disordini alimentari o malattie, tende a mantenere stabile il pH del sangue o, meglio, lo vorrebbe. I meccanismi che rendono possibile tutto ciò sono la presenza di tamponi sia intra- sia extracellulari, la ventilazione pol-

monare, che regola la concentrazione di anidride carbonica, e l'escrezione renale di tamponi e ioni idrogeno. Di grande importanza sono le molecole tampone, come il bicarbonato e i fosfati, presenti dentro e fuori le cellule e nelle ossa, e la presenza intracellulare di proteine, fosfati organici e inorganici e l'emoglobina dei globuli rossi. Importante è anche lo scambio tra ioni sodio e potassio con gli ioni idrogeno, che si accumulano nelle cellule in seguito al loro metabolismo. Il carbonato presente nelle ossa contribuisce per il 40% a tamponare un carico di acidi. Durante il metabolismo viene prodotta molta anidride carbonica (CO_2). Nel sangue si combina con l'acqua e si trasforma in acido carbonico. L'innalzamento del pH è molto limitato perché l'eccesso di ioni idrogeno si combina nei globuli rossi

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 9

Figura 2. Tavola periodica degli elementi



con tamponi cellulari, come l'emoglobina. Il bicarbonato che si genera esce dalle cellule perché scambiato con ioni cloro. L'anidride carbonica viene eliminata durante la respirazione dagli alveoli polmonari. A condizionare il pH plasmatico è la concentrazione di bicarbonato e acido carbonico. Si deve creare nel sangue un equilibrio tra la pressione parziale di CO₂ negli alveoli polmonari e nel sangue e la presenza di acido carbonico in questo fluido extracellulare (tabella 1).
 Le principali alterazioni del pH ematico sono causate da precise dismetabolie, comunque mediate da variazioni nella concentrazione di bicarbonato ematico. La risposta compensatoria, a sua volta, è mediata dal sistema respiratorio con un'alterazione della pressione parziale della CO₂ (pCO₂), come espressione della concentrazione di acido carbonico del

sangue. Un incremento della pCO₂ si ha nell'acidosi respiratoria, mentre una sua diminuzione si osserva nell' alcalosi respiratoria. La compensazione di queste due variazioni patologiche del pH ematico avviene a livello del rene attraverso la secrezione o ritenzione degli ioni idrogeno e del bicarbonato, unitamente a una variazione della frequenza respiratoria. L'acidosi metabolica, da non confondersi ovviamente con l'acidosi ruminale, è caratterizzata da una riduzione del pH e del bicarbonato. L'aumento degli scambi cellulari di ioni idrogeno e ioni potassio può causare iperkaliemia. A causare uno stato di acidosi metabolica può essere l'acidosi lattica, la chetoacidosi e le perdite intestinali di bicarbonato, conseguenti alle diarree o alle patologie renali. Alcune molecole come i salicilati, il metanolo, il glicole etilenico e la paraldeide possono causare que-

Formazione a distanza

Tabella 1. Principali alterazioni del pH ematico

	pH	H+	Sbilanciamento primario	Risposta compensativa
Acidosi metabolica	↓	↑	↓ [HCO ₃ ⁻]	↓ pCO ₂
Alcalosi metabolica	↑	↓	↑ [HCO ₃ ⁻]	↑ pCO ₂
Acidosi respiratoria	↓	↑	↑ pCO ₂	↑ [HCO ₃ ⁻]
Alcalosi respiratoria	↑	↓	↓ pCO ₂	↓ [HCO ₃ ⁻]

sta dismetabolica. Per la sua compensazione e il ripristino dell'omeostasi, la bovina può presentare iperventilazione. La riduzione della pCO₂ migliora il pH ematico in pochi minuti. Per un definitivo ripristino della normalità, deve aumentare la ritenzione renale di bicarbonato e aumentare l'escrezione di acidi, come lo ione ammonio.

L'acidosi respiratoria è caratterizzata da un calo del pH ematico e da un aumento della pCO₂. A causarla sono tutte quelle condizioni che riducono la ventilazione polmonare, come le polmoniti e, comunque, tutte le patologie a carico dell'apparato respiratorio. La risposta compensativa è la riduzione dell'escrezione renale di bicarbonati, che richiede diversi giorni per il ritorno alla normalità.

Nell'alcalosi metabolica si ha invece un aumento del pH e dei bicarbonati ematici ed è una condizione spesso associata ai disturbi digestivi tipici dei ruminanti. L'alcalosi metabolica è dovuta a una perdita di ioni idrogeno ed eccessiva ritenzione di bicarbonato. A scatenare questa dismetabolica sono il sequestro di fluidi ricchi di cloro nell'abomaso e nei prestomaci. Altra causa può essere un'eccessiva perdita renale di ioni idrogeno per eccessi di mineralcorticoidi o per un uso eccessivo di diuretici, come la furosemide. Carenze di cloro nella razione dei ruminanti possono predisporre all'alcalosi metabolica. L'eccessiva somministrazione di bicarbonato può causare alcalosi metabolica anche se l'eccesso di questo sale viene eliminato con le urine.

L'alcalosi respiratoria è invece associata a condizioni patologiche che causano iperventilazione, come le malattie polmonari o le anemie.

Esistono condizioni patologiche che affliggono la bovina e che possono essere controllate con la manipolazione del bilanciamento acido-base del sangue. Lo stress da caldo è una patologia che colpisce le bovine quando una combinazione tra temperatura esterna e umidità relativa le costringono ad adattare il suo metabolismo per mantenere costante la sua temperatura interna. Per fare questo, la vacca aumenta la frequenza respiratoria per utilizzare

l'apparato polmonare come "radiatore" per la dispersione del calore interno. Questa iperventilazione, se non adeguatamente compensata, può causare un'acidosi metabolica. L'aumento della frequenza respiratoria aumenta la quantità di CO₂ eliminata e ciò causa una diminuzione dell'acido carbonico ematico, con una conseguente alcalosi ematica e urinaria. Quest'ultima condizione provoca un'aumentata escrezione urinaria di acido carbonico e la conseguente acidosi metabolica. Tra le misure di gestione dello stress da caldo ci sono quelle nutrizionali, basate sulla variazione degli apporti di alcuni macroelementi, come l'aumento della concentrazione di potassio, magnesio e sodio e la riduzione del cloro, ossia del minerale classificato come anione, poiché a carica negativa.

Per semplificare la gestione dell'equilibrio acido base del sangue, nella gestione dello stress da caldo e nella sindrome ipocalcemicca, ma anche la nutrizione dell'intera lattazione, è consigliabile utilizzare un'equazione, detta "DCAD" come acronimo della traduzione inglese di "differenza di cationi e anioni della dieta".

L'equazione più utilizzata è la seguente:

$$\text{DCAD (mEq/100 gr)} = [(\% \text{ sodio}/0,023) + (\% \text{ potassio}/0,039)] - [(\% \text{ cloro}/0,035) + (\% \text{ zolfo}/0,016)]$$

Questa equazione è utilizzabile per tutti gli scopi prima elencati, ma con differenti obiettivi [9].

Per acidificare il sangue delle bovine nelle ultime settimane di gestazione, per stimolare la produzione di paratormone e mantenere elevata la calcemia, si consiglia di formulare razioni che riducano l'apporto di sodio e potassio a favore di cloro e zolfo. Per ottenere questo obiettivo, senza arrivare a pericolosi eccessi di anioni, si consigliano razioni con 5-10 mEq/100 g, anche se, in pratica, sono di quasi impossibile realizzazione. Per gestire al meglio l'apporto di tamponi in lattazione, senza compromettere l'appetibilità della razione, è bene mantenersi in un range di 25-40 mEq/100 g.

Nella gestione dello stress da caldo, il DCAD consigliabile è pari a 25-30 mEq/100 g.

In conclusione, la manipolazione dell'equilibrio acido-base del sangue attraverso gli apporti variabili di cationi e anioni è uno strumento di prevenzione, ma soprattutto di terapia di alcune importanti dismetabolie della vacca da latte. Il rischio, comunque, di indurre alcalosi o acidosi metaboliche rimane piuttosto elevato. Prima di intraprendere questo indirizzo tera-

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 9

peutico e profilattico è assolutamente necessario conoscere il contenuto di macrominerali degli alimenti utilizzati, ricorrendo a metodiche analitiche estremamente affidabili, in quanto sui risultati ottenuti si prende la decisione di manipolare l'equilibrio acido-base del sangue.

Sindrome ipocalcemia

La sindrome ipocalcemia è una malattia ad alta prevalenza, di difficile prevenzione e ad alto impatto per altre patologie, non solo metaboliche, come la metrite puerperale, la chetosi clinica e subclinica, la dislocazione dell'abomaso, la ritenzione di placenta, l'immunodepressione del periparto, la mastite e la distocia. La sindrome ipocalcemia può decorrere in forma clinica e subclinica.

La forma clinica esibisce la sintomatologia classica della vacca a terra o barcollante, con tremori muscolari e ipotermia. Ciò succede quando la calcemia scende al di sotto di 5,5 mg/dl ($\leq 1,4$ mM). Negli USA, si stima che la prevalenza sia tra il 5 e il 10% e comporti un costo di circa 300 dollari.

La forma subclinica, invece, ha una prevalenza ben più elevata, che può raggiungere il 50% e rappresentare un costo per l'allevatore di 125 dollari. Essendo subclinica, non esibisce una particolare sintomatologia, se non quella di aumentare la prevalenza di altre patologie, quali la ritenzione placentare, la dislocazione dell'abomaso, la metrite e la mastite, e di ridurre del 4,7% la produzione di latte al picco produttivo e la fertilità, o meglio l'intervallo tra il parto e il concepimento [4].

1. Eziologia

La sindrome ipocalcemia, come del resto la chetosi metabolica, quindi, è una malattia metabolica conseguente alla variazione, e in questo caso verso il basso, più o meno transitoria di un valore ematico. In altre parole, è la difficoltà della bovina di mantenere l'omeostasi. Come per la chetosi, la diagnosi clinica è di facile esecuzione, mentre per la forma subclinica è necessario ricorrere a indagini ematochimiche. Il buiatra può avanzare il sospetto soprattutto osservando la prevalenza e il decorso delle patologie e le performance ad essa correlate. Facile è anche la terapia, che consiste nel ripristinare rapidamente la calcemia normale, utilizzando i numerosi preparati a base di calcio presenti in commercio.

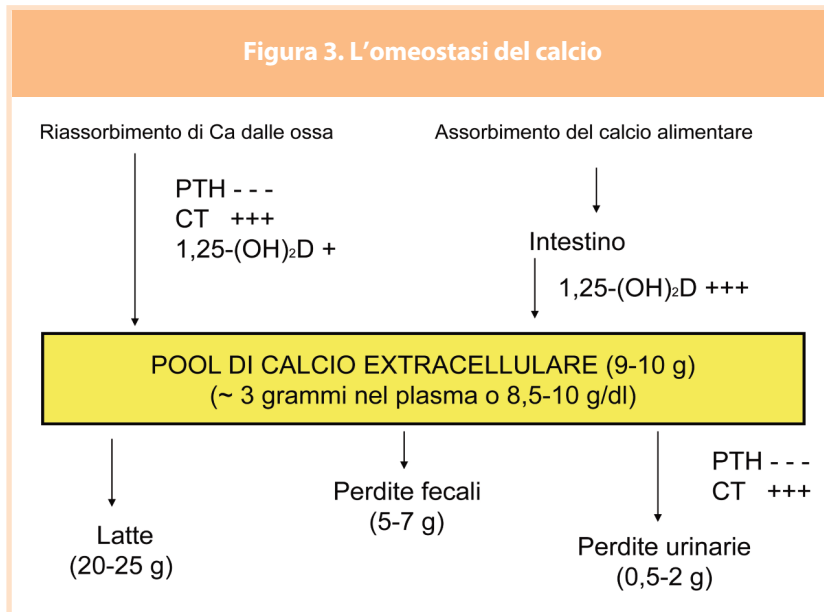
Ben diversa è la prevenzione che, nel caso della sindrome ipocalcemia, è di difficile attuazione, anche negli allevamenti in cui tutti i paradigmi nutrizionali e gestionali per

l'asciutta sono applicati pedissequamente. Nonostante sia pratica diffusa quella di controllare attentamente la nutrizione in asciutta, di evitare l'eccessiva somministrazioni di cationi come il calcio, il potassio e il sodio e, in alcuni casi, di somministrare sistematicamente (pratica pericolosa) sali anionici in preparazione al parto, la prevalenza della sindrome ipocalcemia sembra essere ancora piuttosto elevata.

Esistono fattori eziologici e di rischio diversi dai semplici apporti errati di macrominerali, che mettono in difficoltà la bovina nel mantenere l'omeostasi del calcio dopo il parto e nelle successive prime settimane di lattazione. La bovina che produce più di 10 litri di colostro elimina circa 23 g di calcio al giorno e, in lattazione, circa 50 g. Sono quantitativi enormi considerando che il pool di calcio extracellulare è di 9-10 g, di cui 3 g sono ematici. Nella bovina da latte, il calcio è presente nell'organismo sotto due forme principali: intracellulare ed extracellulare. Il 98% del calcio è localizzato nello scheletro e il 2% nei fluidi extracellulari. Quest'ultimo è essenziale per la formazione del tessuto osseo, la trasmissione nervosa e la contrattilità del tessuto muscolare. Il calcio intracellulare è 1/10.000 della concentrazione di quello extracellulare e ha un ruolo importante nella trasmissione delle informazioni dalla membrana cellulare all'interno della cellula. La calcemia normale è di 2,2-2,5 mM, pari a 9-10 mg/dl o 4,4-5 mEq/L. Il 40-50% del calcio plasmatico è legato alle proteine e principalmente l'albumina. L'altro 5% è legato a componenti organici, come il citrato, e inorganici. Il 40-45% del calcio plasmatico è in forma ionizzata (iCa^{2+}) e ha un valore costante di 1-1,25 mM. Il iCa^{2+} è un componente importante del sistema cellulare messaggero, della contrazione muscolare, della proliferazione cellulare e del sistema immunitario, soprattutto cellulomediato (figura 3) [10].

Per mantenere l'omeostasi, ossia la concentrazione corretta di calcio extracellulare e cellulare, l'organismo esegue una serie di "operazioni" piuttosto complesse, soprattutto quando la bovina è in lattazione, periodo in cui l'eliminazione di calcio con il latte è piuttosto elevata; infatti, si deve considerare che la concentrazione del calcio nel latte bovino ha è pari allo 0,12%. Durante il picco di lattazione, possono essere eliminati 80 g di calcio in 24 ore, ossia l'intero pool plasmatico di calcio viene trasferito nel latte per 20-30 volte al giorno. A fine gravidanza, il feto richiede circa 10 g di calcio al giorno. Una bovina che produce 10 l di colostro elimina

Formazione a distanza



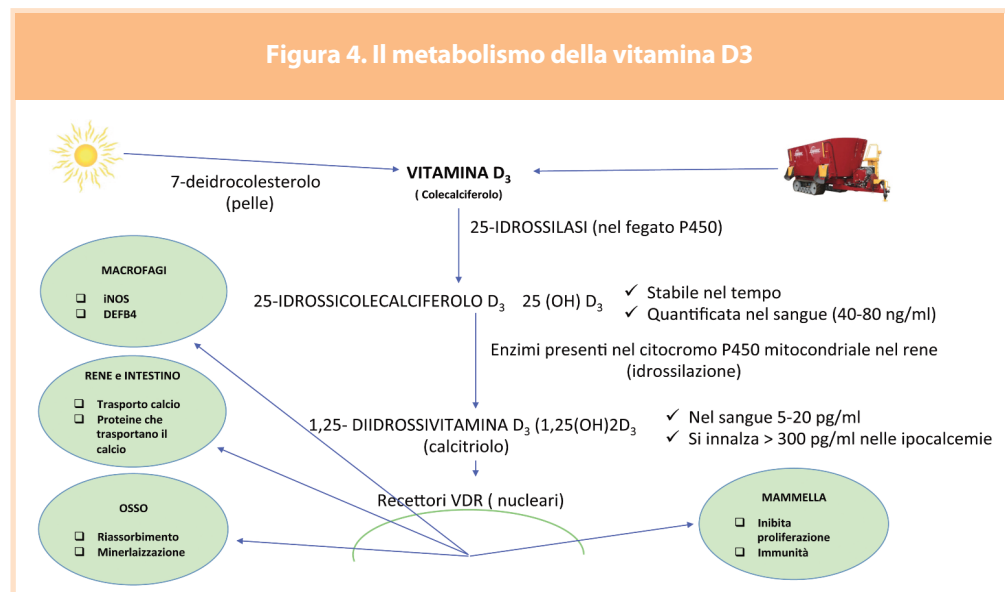
23 g di calcio. Nelle prime 6-8 settimane di lattazione, la bovina arriva a perdere il 13% del calcio contenuto dalle ossa. Il nadir della calcemia si raggiunge il giorno del parto, con valori approssimativamente di 6 mg/dl. Le ghiandole paratiroidi monitorizzano il calcio presente nel sangue arterioso carotideo e, in caso di ipocalcemia, secernono l'ormone paratiroidi (PTH), che promuove il riassorbimento di questo elemento a livello renale, l'assorbimento intestinale e la mobilitazione dalle ossa.

Due sono i meccanismi attraverso il quale viene assorbito il calcio a livello intestinale. Quello passivo è tipico del vitello in fase di

allattamento o della bovina adulta cui viene somministrato calcio orale in caso di collasso puerperale. Quello attivo è caratteristico dei ruminanti adulti e viene modulato dall'1,25 diidrossicolecalciferolo, che altro non è che la forma attiva della vitamina D3 (figura 4). Quindi, per mantenere l'omeostasi intervengono principalmente due ormoni: il paratormone (PTH) e la calcitonina. Il PTH stimola il riassorbimento di calcio e fosfati a livello renale, l'assorbimento intestinale di calcio e fosforo, stimola il rene a produrre calcitriolo e promuove il rilascio di calcio dalle ossa. La calcitonina, invece, favorisce l'eliminazione urinaria e la deposizione nelle ossa di questo elemento. La vitamina D assunta con la dieta viene trasformata nei tessuti in 25-idrossicolecalciferolo e, successivamente, una volta giunta al rene, viene trasformata in 1,25-diidrossicolecalciferolo o calcitriolo, sostanza che agisce come un vero e proprio ormone steroideo con un meccanismo d'azione simile al PTH. Il metabolismo del magnesio è intimamente legato al metabolismo del calcio, soprattutto nell'immediato post parto. In caso di carenza di magnesio, viene rallentata la secrezione di PTH e la sua abilità di aderire ai recettori, in quanto componente fondamentale dell'adenilato ciclasi e della fosfolipasi C.

Questo meccanismo spiega come alcune ipocalcemie, soprattutto del periparto, non traggano grandi benefici da terapie esclusivamente a base di calcio e come la corretta integrazione di magnesio in asciutta aiuti a prevenire questa grave dismetabolia.

Un fattore importante che condiziona la pos-





Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 9

sibilità di assorbimento del calcio a livello intestinale è il tipo di fonte alimentare. Si ritiene che la biodisponibilità del calcio presente nell'intestino sia genericamente pari a 0,38, ma ciò varia molto in funzione dell'alimento o, meglio, della fonte. Si ritiene essere per l'erba medica del 30% e per l'insilato di mais del 42%. Il 20-30% del calcio presente nelle piante è legato agli ossalati e, pertanto, non disponibile. I fitati, presenti maggiormente nei concentrati, limitano l'assorbimento di calcio, ma solo nei monogastrici. Nei ruminanti, si stima al 60% la biodisponibilità del calcio presente negli alimenti non foraggeri. Una fonte a elevatissima disponibilità (>95%) è rappresentata dai grassi saponificati. Tra le fonti inorganiche è il cloruro di calcio ad avere la massima biodisponibilità (95%). Anche i fosfati monocalcico e bicalcico forniscono calcio ad alta assimilabilità (90%), mentre il carbonato di calcio si attesta tra il 60 e il 75%.

Il fabbisogno di calcio per le bovine in lattazione è di poco inferiore allo 0,7% della sostanza secca, mentre per le bovine a fine gravidanza allo 0,44%. Le diete per bovine in lattazione, soprattutto intorno al picco produttivo, hanno concentrazioni di calcio ben più elevate (0,8-0,9%). Ciò è dovuto al fatto che si sfrutta la capacità tampone del carbonato di calcio e anche perché un eccesso di calcio non dà particolari problemi alle bovine. Importante è il rapporto con il fosforo. Nelle ultime settimane di gravidanza o, meglio, in asciutta, l'apporto consigliato è dello 0,22%, mentre in lattazione dello 0,38%. Pertanto, in tutte le diete per bovine, è consigliabile mantenere un rapporto calcio/fosforo di 2:1 [5, 2].

Il passaggio da un'alimentazione "povera", ossia con una ridotta quantità di concentrati e soprattutto di carboidrati non strutturali come gli amidi, a quelle "ricche" della lattazione, anche se gestito con estrema gradualità, comporta una drastica riduzione del pH ruminale, con il rischio che nel rumine si accumulino endotossine o lipopolisaccaridi (LPS) derivanti dalle pareti cellulari dei batteri Gram negativi. Anche la concentrazione ruminale dell'acido lipoteicoico (LTA), che invece deriva dai batteri Gram positivi, aumenta nella fase di transizione.

Poco si sa dei potenziali effetti negativi dell'LTA, mentre sono stati fatti molti studi sui LPS. Si è accertato che la traslocazione degli LPS nel sangue dal tratto gastrointestinale, attraverso la vena porta e il sistema linfatico, stimola la produzione di citochine proinfiammatorie da parte dei macrofagi presenti

nei linfonodi e nel fegato (cellule di Kupffer). Questi produrranno principalmente le IL-1, IL-6 e il TNF- α che hanno come funzione il "riassetto del metabolismo", per rendere pienamente efficiente il sistema immunitario cellulomediato. Inoltre, le citochine proinfiammatorie sono in grado di agire direttamente sull'asse ipotalamo-ipofisario per inibire a vari livelli l'immissione in circolo del GnRH e delle gonadotropine ipofisarie, in quanto l'attività riproduttiva sottrarrebbe risorse nutritive necessarie al sistema immunitario cellulomediato. A livello ipotalamico, le citochine inducono ipertermia e anoressia e, a livello epatico, la produzione di proteine della fase acuta. Nello specifico, il TNF- α a livello epatico e sugli altri tessuti induce insulinoresistenza, ridotta gluconeogenesi e catabolismo proteico e lipidico. Il contatto degli LPS con i macrofagi e diretto su alcuni tessuti stimola nella bovina la risposta a un'aspecifica infezione da Gram negativi. La bovina non sa che queste possono derivare semplicemente dalla morte di numerosi batteri ruminali a seguito di una riduzione del pH.

Interessante è il legame ipotizzato tra endotossicosi e ipocalcemia. È stato osservato che, nella bovina da latte, un'infusione di LPS è associata a una riduzione del calcio ematico in un rapporto dose-dipendente. È stato inoltre osservato che la somministrazione di calcio durante una sepsi aumenta le lesioni degli organi e la mortalità. Da questo si può facilmente dedurre che la riduzione del calcio sierico è un meccanismo protettivo contro l'endotossicosi. Sono stati condotti studi sperimentali in cui si è osservato che un aumento della calcemia o, meglio, la concentrazione di calcio ionizzato utilizzando una fonte di calcio molto assimilabile, come il cloruro di calcio, aumenta proporzionalmente la mortalità. Sembrerebbe pertanto che la riduzione della calcemia sia una risposta protettiva dell'organismo agli LPS o, meglio, ai batteri Gram negativi da cui provengono. L'albumina è in grado di legare gli ioni calcio in un rapporto di 1:1 o 2:1. È anche possibile che l'aumento di acido lattico osservato nelle vacche in transizione che soffrono di sindrome ipocalcemia sia funzionale al trasferimento degli LPS alle lipoproteine. Bovine in ipocalcemia hanno una maggiore concentrazione ematica di acido lattico nel sangue, che è pressoché il doppio del normale, sia prima sia dopo il parto. La concentrazione di calcio ionizzato nel siero varia inversamente e linearmente con l'aumento della concentrazione degli acidi grassi. E questo può essere



Formazione a distanza

un ulteriore fattori di sviluppo dell'ipocalcemia. Alcuni lavori indicano che gli AGV stimolano il legame del calcio con l'albumina. In conclusione, sembrerebbe che le endotossine che si accumulano nel rumine durante la fase di transizione, a causa di disattenzioni nel passaggio dalla dieta dell'asciutta a quella della lattazione, e che si trasferiscono nel sistema circolatorio e linfatico della bovina siano un primario fattore eziologico di molte delle malattie metaboliche di questo periodo, tra cui la sindrome ipocalcemia [7].

La serotonina è una triptamina, un neurotrasmettitore sintetizzato nei neuroni serotoninergici del sistema nervoso centrale e dell'apparato gastrointestinale. È molto conosciuta, in quanto è coinvolta nella regolazione dell'umore, del sonno, della temperatura corporea, della libido e dell'appetito. La serotonina viene sintetizzata a partire dall'aminoacido L-triptofano a opera di enzimi come il TPH-1 (*Tryptophan Hydroxylase 1*), presente nei tessuti neurali, e il TPH-2 (*Tryptophan Hydroxylase 2*), presente negli altri tessuti. A livello mammario, sono presenti ben 5 diversi recettori e altri sulle cellule miopiteliali. È stata dimostrata un'associazione diretta tra serotonina e omeostasi del calcio o, meglio, tra la sintesi di questa molecola prodotta a livello della ghiandola mammaria e del tessuto osseo. Un deficit di serotonina periferica durante la lattazione interferisce con la mobilizzazione di calcio dai tessuti ossei. Nei ratti, è stato osservato che la somministrazione di serotonina nel periparto aumenta la calcemia, per una maggiore mobilizzazione di calcio osseo. La serotonina aumenta il trasporto del calcio all'interno delle cellule epiteliali mammarie e ciò può portare a ipocalcemia [12].

Edema Mammario Patologico (EMP)

Nella bovina prima del parto, aumenta la presenza di fluidi nello spazio interstiziale della mammella, con deformazione a vari livelli della normale morfologia. L'edema risultante può essere fisiologico o patologico, quando l'accumulo di liquidi è di grande entità e persistente per diversi giorni dopo il parto, al punto da rendere necessario un trattamento farmacologico con i diuretici.

Il motivo che impone di richiamare l'attenzione su questa malattia metabolica è legato al fatto che una mammella eccessivamente edematosa è più suscettibile alle infezioni (mastite) ed è maggiormente soggetta ad alterazioni morfologiche persistenti (allentamento del legamento centrale), che possono

comprometterne la mungibilità. Comunque, la bovina con EMP produce meno latte di una sana.

All'EMP sono decisamente più suscettibili le manze e la prevalenza si diluisce con il numero di parti. In ogni caso, si stima un'incidenza del 3-5%. Altri autori valutano la prevalenza anche fino al 96% in determinati allevamenti. Considerando che nella bovina l'edema mammario è fisiologico, è necessario valutarlo per poterlo definire patologico. Si consiglia come metodo diagnostico l'*Edema scoring system*, descritto da Tucker *et al.*, mediante il quale, con una scala da 1 a 10, si valuta l'entità dell'edema, senza però stabilire un confine netto tra normale e patologico [11]. È bene precisare che per l'edema mammario patologico, sebbene sia chiaro cosa succede, non sono ben noti i meccanismi d'azione che lo determinano e le cause precise.

Due sono i termini che è necessario conoscere per comprendere la patogenesi di questa dismetabolia; pressione idrostatica e pressione osmotica. La pressione idrostatica del sangue equivale alla forza esercitata dal fluido sulla parete del vaso, influenzata dunque dalle variazioni della pressione arteriosa media e dalla volemia. La pressione osmotica è definita come quella forza che spinge secondo gradiente i soluti da un compartimento in cui la loro concentrazione è maggiore a uno in cui la loro concentrazione è minore. Lo spostamento dei soluti è seguito passivamente dall'acqua.

Questi meccanismi, a livello capillare, sono alla base della fisiopatologia degli edemi, ovvero stravasi di fluido negli interstizi. L'aumento della pressione osmotica è dovuta a un'alta concentrazione proteica del siero. L'aumento della pressione idrostatica senza un corrispondente cambiamento della pressione osmotica può aumentare il volume del fluido interstiziale che, se non adeguatamente rimosso dal sistema linfatico, si accumula, determinando la diversa morfologia della mammella.

In aggiunta, l'aumento della permeabilità endoteliale può rendere meno restrittivo il flusso di fluidi e di proteine. Quando la pressione idrostatica aumenta o quando la pressione oncologica (concentrazione delle proteine nel sangue, che esercita una forza di contenimento del fluido nel vaso) diminuisce, si verifica una fuoriuscita di liquidi nel compartimento extravasale. Il flusso di sangue mammario aumenta di circa 3 volte durante le 2 settimane che precedono il parto. Nelle bovine che presentano EMP, la pressione venosa aumenta del 35% negli ultimi 15 giorni

Le malattie metaboliche della bovina da latte. Patologie non ancora del tutto risolte - DOSSIER N. 9

di gravidanza rispetto alle bovine che non presentano EMP.

I molti ricercatori che si sono occupati dell'EMP hanno verificato se ci fosse una relazione tra ingestione di concentrati in asciutta ed EMP. Apparentemente, non esiste una correlazione con l'ingestione, anche di grandi quantità, di concentrati. Sono stati condotti esperimenti addirittura fino a 8 kg. Quello che invece può fare la differenza è la presenza nei concentrati di minerali, come il cloruro di sodio e il cloruro di potassio: 227 g di queste due molecole, da sole o come quantità cumulativa, aumentano la prevalenza dell'EMP. L'inclusione dall'1 al 3% di sodio cloruro aumenta l'intensità dell'edema. Con il cloruro di sodio aumenta l'osmolarità del siero. Anche il carbonato di potassio può accentuare questo fenomeno. Sono stati condotti esperimenti utilizzando il cloruro di calcio all'1,5% della sostanza secca della razione nelle manze e nelle ultime 3 settimane di gravidanza. Tale trattamento ha ridotto considerevolmente l'edema, ma ha anche ridotto l'ingestione prima del parto, che le bovine hanno compensato con un aumento di ingestione di 1,3 kg nel *post partum*.

Un'ipotesi affascinante nell'eziologia dell'EMP è quella del legame con lo stress ossidativo. Questa condizione parafisiologica si ha quando la produzione di molecole ossigeno reattive (ROS) è superiore alla presenza di molecole ad attività antiossidante, come la vitamina A, la vitamina E, la vitamina C oppure enzimi che hanno in oligoelementi, come il selenio, il rame, lo zinco e il manganese, i fattori limitanti. In questi casi, una perossidazione lipidica delle cellule dell'endotelio dei vasi capillari che irrorano la mammella può alterare l'equilibrio osmotico di qui ristretti [6].

La prevenzione dei disordini minerali

La prevenzione dei disordini minerali prevede una serie di step. Il primo è quello di verificare attentamente gli apporti minerali che derivano dalla razione di fine gravidanza, più comunemente definita di asciutta, in considerazione del fatto che le manze dal 7° mese di gravidanza in poi condividono spesso la stessa dieta.

Volendosi attenere alle prescrizioni contenute nell'NRC 2001, si consigliano razioni con lo 0,10% di sodio e lo 0,52% di potassio, valori intesi come percentuale della sostanza secca della razione. In pratica, risulta estremamente difficile mantenere una concentrazione di potassio così bassa, in quanto la presenza di

questo macrominereale nei foraggi e nei concentrati è spesso abbondantemente superiore all'1,5%. Un eccesso di fosforo inibisce la produzione renale di calcitriolo e, quindi, aumenta il rischio della sindrome ipocalcémica.

Discorso a sé merita il magnesio. L'NRC 2001 consiglia un apporto dello 0,12%. Dall'esperienza empirica derivante dal ricorso all'ematochimica, tale elemento risulta spesso carente nel sangue, in quanto si rilevano frequentemente valori al di sotto di quelli ritenuti ideali per la vacca da latte, pari a 1,8-2,3 mg/dl. Già per valori inferiori a 1,8 mg/dl si emette la diagnosi di ipomagnesiemia. Lo stesso dicasi per le vitamine e gli oligoelementi ad attività antiossidante. Un precauzione necessaria è quella di controllare o, meglio, limitare l'apporto di ferro notoriamente a spiccata attività ossidante.

Il secondo step è quello di verificare e quantificare analiticamente l'effettiva concentrazione di macroelementi negli alimenti destinati alle bovine nelle ultime settimane di gravidanza utilizzando le metodiche analitiche oggi disponibili, come l'XRF (*X-Ray Fluorescence*). Bisogna porre particolare attenzione alla concentrazione di fosforo nelle diete di fine gravidanza, elemento particolarmente presente negli alimenti, sia foraggi sia concentrati, in quanto abbondantemente presente nei terreni, soprattutto in pianura, dove si ricorre ad abbondanti concimazioni chimiche e organiche con i liquami per aumentare le produzioni vegetali.

Una strategia semplice per ottimizzare le diete di fine gravidanza è quella di ricorrere al calcolo del DCAD (*Dietary Cation-Anion Difference*). Castable *et al.* [1] constatarono che l'acidosi metabolica indotta nel parto con zolfo e cloro aumenta la sensibilità renale al PTH e, quindi, induce una maggiore produzione di calcitriolo. Qualora ci siano dubbi è utile ricorrere alla biochimica clinica, dosando nelle bovine nelle ultime tre settimane di gravidanza la concentrazione ematica dei macroelementi per verificare se tra input (la dieta) e out-put (sangue) esistono forti differenze. Particolare attenzione va posta alla concentrazione ematica di fosforo e potassio, spesso elevati, e di magnesio, elemento particolarmente carente in alcune zone d'Italia.

Bibliografia

- 1-Castable P.D. Clinical assessment of acid-base status: strong ion difference theory. *The Veterinary Clinics of North America: Food Anim. Pract.*, 1999; vol. 15: pp. 447-471.
- 2-Eckel E.F., Burim N. Ametaj. Invited review:

Formazione a distanza

Role of bacterial endotoxins in etiopathogenesis of peripartum diseases of transition dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2016; vol. 99: pp. 5967-5990.

3-Ewing W.N., Charlton S. The mineral directory. Context Products Ltd, 2005.

4-Garret R. Oetzel. Management of dry cows for the prevention of milk fever and other mineral disorder. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 2000; vol. 16, n. 2: pp. 69-386.

5-Lean I.J., DeGaris P.J., McNeil D.M., Block E. Hypocalcemia in dairy cows: meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. *J. Dairy Sci.* 2006; vol. 89: pp. 669-684.

6-Lema W.B., Tucker M., Aslam M., Shin I.S., Le Ruyet P., Adams G.D. Feeding calcium chloride prepartum reduces udder edema and increases intake postpartum in dairy heifers. *Anim. Sci. Res. Rep.*, 1992: pp. 61-67.

7-Martinez N., Sinedino L.D.P., Bisinotto R.S., Riberio E.S., Gomes G.C., Lima F.S., Greco L.F., Risco C.A., Galvao K.N., Taylor-Rodriguez D., Driver L.P., Thatcher W.W., Santos J.P. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil func-

tion in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 2014; vol. 97: pp. 874-887.

8-National research council. Nutrient requirement of dairy cattle. 2001; cap. 6: pp. 106-131.

9-Razzaghi A., Aliarabi H., Tabatabaei M.M., Saki A.A., Valizadeh R., Zamai P. Effect of dietary cation-anion difference during prepartum and postpartum period on performance, blood and urine mineral status of Holstein dairy cow. *Asian-Australas J. Anim Sci.*, 2012; vol. 25, n. 4: pp. 486-495.

10-Sweeney B.M., Ryan C.M., Stokol T., Zanzalari K., Kirk D., Overton T.R. Prepartum nutritional strategies to manage postpartum hypocalcemia. *Cornell nutrition conference*, 2015.

11-Tucker W.B., Adams G.D., Lema M., Aslam M., Shin I.S., Le Ruyet P., Weeks D.L. Evaluation of a system for rating edema in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 1992; vol. 75: pp. 2382-2387.

12-Weaver S.R., Laporta J., Moore S.A.E., L.L. Hernandez. Serotonin and calcium homeostasis during the transition period. *Domestic Anim. Endocrin.* 2016; vol. 56: s147-2154.