LA IPOFERTILITÀ DELLA BOVINA DA LATTE

Nella stessa collana sono stati pubblicati i seguenti volumi:

1 - 1979 Infezioni respiratorie del bovino
2 - 1980 L'oggi e il domani della sulfamidoterapia veterinaria
3 - 1980 Ormoni della riproduzione e Medicina Veterinaria
4 - 1980 Gli antibiotici nella pratica veterinaria
5 - 1981 La leucosi bovina enzootica
6 - 1981 La «Scuola per la Ricerca Scientifica» di Brescia
7 - 1982 Gli indicatori di Sanità Veterinaria nel Servizio Sanitario Nazionale
8 - 1982 Le elmintiasi nell'allevamento intensivo del bovino
9 - 1983 Zoonosi ed animali da compagnia
10 - 1983 Le infezioni da Escherichia coli degli animali
11 - 1983 Immunogenetica animale e immunopatologia veterinaria
12 - 1984 5° Congresso Nazionale Associazione Scientifica di Produzione Animale
13 - 1984 Il controllo delle affezioni respiratorie del cavallo
14 - 1984 1° Simposio Internazionale di Medicina veterinaria sul cavallo da competizione
15 - 1985 La malattia di Aujeszky. Attuahtà e prospettive di profilassi nell'allevamento suino
16 - 1986 Immunologia comparata della malattia neoplastica
17 - 1986 6° Congresso Nazionale Associazione Scientifica di Produzione Animale
18 - 1987 Embryo transfer oggi: problemi biologici e tecnici aperti e prospettive
19 - 1987 Coniglicoltura: tecniche di gestione, ecopatologia e marketing
20 - 1988 Trentennale della Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche di Brescia, 1956-1986
21 - 1989 Le infezioni erpetiche del bovino e del suino
22 - 1989 Nuove frontiere della diagnostica nelle scienze veterinarie
23 - 1989 La rabbia silvestre: risultati e prospettive della vaccinazione orale in Europa
24 - 1989 Chick Anemia ed infezioni enteriche virali nei volatili
25 - 1990 Mappaggio del genoma bovino
26 - 1990 Riproduzione nella specie suina
27 - 1990 La nube di Chernobyl sul territorio bresciano
28 - 1991 Le immunodeficienze da retrovirus e le encefalopatie spongiformi
29 - 1991 La sindrome chetosica nel bovino
30 - 1991 Atti del convegno annuale del gruppo di lavoro delle regioni Alpine per la profilassi delle mastiti
31 - 1991 Allevamento delle piccole specie
32 - 1992 Gestione e protezione del patrimonio faunistico
33 - 1992 Allevamento e malattie del visone
34 - 1993 Atti del XIX Meeting annuale della S.I.P.A.S., e del Convegno su Malattie dismetaboliche del Suino
35 - 1993 Stato dell'arte delle ricerche italiane nel settore delle biotecnologie applicate alle scienze veterinarie e zootecniche - Atti 1ª conferenza nazionale
36 - 1993 Argomenti di patologia veterinaria
37 - 1994 Stato dell'arte delle ricerche italiane sul settore delle biotecnologie applicate alle scienze veterinarie e zootecniche
38 - 1995 Atti del XIX corso in patologia suina e tecnica dell'allevamento
39 - 1995 Quale bioetica in campo animale? Le frontiere dell'ingegneria genetica
40 - 1996 Principi e metodi di tossicologia in vitro
41 - 1996 Diagnostica istologica dei tumori degli animali
42 - 1998 Umanesimo ed animalismo
43 - 1998 Atti del Convegno scientifico sulle enteropatie del Coniglio
44 - 1998 Lezioni di citologia diagnostica veterinaria
45 - 2000 Metodi di analisi microbiologica degli alimenti
46 - 2000 Animali, terapia dell'anima
47 - 2001 Quarantacinquesimo della Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche di Brescia, 1955- 2000
48 - 2001 Atti III Convegno Nazionale di Storia della Medicina Veterinaria
49 - 2001 Tipizzare le salmonelle
50 - 2002 Atti della giornata di studio in Cardiologia Veterinaria
51 - 2002 La valutazione del benessere nella specie bovina

FONDAZIONE INIZIATIVE ZOOPROFILATTICHE E ZOOTECNICHE
- BRESCIA -

LA IPOFERTILITÀ DELLA BOVINA DA LATTE

A cura di Giuseppe Bertoni

EDITO A CURA DELLA
FONDAZIONE INIZIATIVE ZOOPROFILATTICHE
E ZOOTECNICHE - BRESCIA
Via A. Bianchi, 1 - 25124 Brescia

© Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche - Brescia, Gennaio 2003
Tipografia Camuna - Brescia 2003

INDICE

AUTORI 9

PRESENTAZIONE 11

PREFAZIONE 13

RINGRAZIAMENTI 15

IPOFERTILITÀ BOVINA: cause e possibili rimedi
(Piacenza, 31-05-02)

A. Bagnato, C. Maltecca
Produttività e riproduzione nei bovini da latte: aspetti genetici 19

G. Bono
L'ipofertilità della bovina da latte post-partum come sintomo di stress: analisi dei meccanismi coinvolti 31

S. Cavirani
Infezioni causa di infertilità nel bovino: recenti acquisizioni e riflessi nella gestione 49

G. Bertoni
Dismetabolie puerperali e rapporti con il sistema immunitario, l'attività epatica e la riproduzione 67

S. Romagnoli
Controlli clinici nel post-partum e gestione dei dati in bovine da latte 93

F. Cairoli
Trattamenti ormonali dei disturbi della fertilità della bovina da latte 101

A. Formigoni, E. Trevisi, A. Gramenzi
Gestione dell'alimentazione nel periparto 113

L. Calamari
Condizioni di benessere: gestione degli animali e controllo del microclima 129

TRANSITION COW: aspetti immunitari, produttivi e riproduttivi
(Rimini, 21-09-01)

BERTONI G.
Introduzione 157

G. GABAI
Adattamenti fisiologici e metabolici nella ghiandola mammaria e conseguenze per la bovina 159

L. BONIZZI, M.L. MENANDRO, D. PASOTTO, S. LAUZI
Transition cow: analisi della risposta immunitaria aspecifica 167

G. SAVOINI, A. AGAZZI
Transition cow: profilassi nutrizionale 175

A. FORMIGONI, E. TREVISI
Transition cow: interazioni con l'attività riproduttiva 179

CONTENTS

CONTRIBUTORS 9

PRESENTATION 11

PREFACE 13

ACKNOWLEDGEMENTS 15

DAIRY COW HYPOFERTILITY: causes and suitable cares
(Piacenza, 31st May 2002)

A. Bagnato, C. Maltecca
Production and Reproduction in Dairy Cattle: Genetic Aspects 19

G. Bono
Subfertility in post partum dairy cow as a stress symptom: analysis of the involved mechanisms 31

S. Cavirani
Infectious diseases involved in reproductive failures in cattle: recent findings and consequences on management 49

G. Bertoni
Metabolic diseases and their relationships with immune, liver and reproductive activities 67

S. Romagnoli
Routine postpartum clinical exams and reproductive management in dairy cows 93

F. Cairoli
Hormonal treatment for dairy cow infertility 101

A. Formigoni, E. Trevisi
Management of diet in the transition period 113

L. Calamari
Welfare conditions: herd management and control of the microclimatic conditions 129

TRANSITION COW: immune, production and reproduction aspects
(Rimini, 21st September 2001)

BERTONI G.
Introduction 157

G. GABAI
Physiological and metabolic adaptations in the mammary gland and consequences for the dairy cow 159

L. BONIZZI, M.L. MENANDRO, D. PASOTTO, S. LAUZI
Transition cow: analysis of non-specific immune response 167

G. SAVOINI, A. AGAZZI
Transition cow: nutritional prophylaxis 175

A. FORMIGONI, E. TREVISI
Transition cow: interaction with fertility 179

AUTORI

A. Agazzi
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Veterinarie per la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi di Milano, Via Celoria 10, 20133 Milano

A. Bagnato
Dipartimento VSA, Università degli Studi di Milano, Via Celoria 10, 20133 Milano

G. Bertoni
Istituto di Zootecnica, Facoltà di Agraria, Università Cattolica del Sacro Cuore
Via Emilia Parmense 84, 29100 Piacenza

L. Bonizzi
Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata e Igiene Veterinaria, Università di Padova, Strada Romea 16, 35020 Agripolis-Legnaro (PD)

G. Bono
Dip. di Scienze sperimentali veterinarie, Università di Padova, Strada Romea 16, Agripolis, 35020 Legnaro (PD)

F. Cairoli
Istituto di Clinica Ostetrica e Ginecologica Veterinaria, Università degli Studi di Milano, Via Celoria 10, 20133 Milano

L. Calamari
Istituto di Zootecnica, Facoltà di Agraria, Università Cattolica del Sacro Cuore, Via Emilia Parmense 84, 29100 Piacenza

S. Cavirani
Dipartimento di Salute Animale, Sezione di Malattie Infettive degli Animali, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Parma, Via del Taglio 8, 43100 Parma

A. Formigoni
Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Teramo, Piazza Aldo Moro, 64100 Teramo

G. Gabai
Dipartimento di Scienze Sperimentali Veterinarie, Università di Padova, Via Romea 16, Agripolis, 35020 Legnaro (PD)

A. Gramenzi
Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Teramo, Piazza Aldo Moro, 64100 Teramo

S. Lauzi
Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata e Igiene Veterinaria, Università di Padova, Strada Romea 16, 35020 Agripolis-Legnaro (PD)

C. Maltecca
Dipartimento VSA, Università degli Studi di Milano, Via Celoria 10, 20133 Milano

M.L. Menandro
Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata e Igiene Veterinaria, Università di Padova, Strada Romea 16, 35020 Agripolis-Legnaro (PD)

D. Pasotto
Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata e Igiene Veterinaria, Università di Padova, Strada Romea 16, 35020 Agripolis-Legnaro (PD)

S. Romagnoli
Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Università di Padova, Strada Romea 12, Agripolis, 35020 Legnaro (PD)

G. Savoini
Dipartimento di Scienze e Tecnologie Veterinarie per la Sicurezza Alimentare, Università degli Studi di Milano, Via Celoria 10, 20133 Milano

E. Trevisi
Istituto di Zootecnica, Facoltà di Agraria, Università Cattolica del Sacro Cuore, Via Emilia Parmense 84, 29100 Piacenza

PRESENTAZIONE

Questo volume vede la luce grazie alla lungimiranza della Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche di Brescia che ha saputo trasformare in strumento di aggiornamento scientifico per il mondo veterinario alcune iniziative della Società Italiana delle Scienze Veterinarie.

Iniziative che, per l'oggetto e la portata, hanno avuto luogo anche grazie alla fattiva collaborazione dell'Associazione Scientifica di Produzione Animale e dell'Istituto Sperimentale Lazzaro Spallanzani.

Benché la Ipofertilità bovina sia, per certi versi, un argomento ormai datato, le conseguenze negative che essa esercita sui nostri allevamenti permangono estremamente onerose, al pari della mastite e delle malattie podali. D'altra parte, l'apparente disinteresse pare motivato soprattutto dall'idea che si tratti di uno scotto quasi ineluttabile agli elevati livelli produttivi ed alla intensificazione degli allevamenti.

La convinzione personale, ma anche una parte della letteratura condivide questa posizione, è che sia necessario un approccio innovativo e di tipo olistico in cui mondo zootecnico e veterinario si confrontino per meglio approfondire le cause ed i meccanismi, per poi addivenire a suggerimenti più efficaci. Si accresce infatti la consapevolezza di una stretta interdipendenza fra condizioni ambientali in senso lato e condizioni di salute che, nel complesso ed unitamente al livello produttivo, possono condizionare lo stato di benessere, ma anche la funzionalità dell'apparato riproduttore.

Secondo questa ottica sono stati trattati i principali aspetti coinvolti, all'interno della Giornata SISVet "Ipofertilità bovina: cause e possibili rimedi", Piacenza 31-05-02. In particolare si è voluto dare sia una valenza prettamente teorica, ma anche una maggiormente applicativa, nell'intento di meglio soddisfare le legittime aspettative del veterinario pratico. La prima parte ha riguardato i rapporti della fertilità con la potenzialità genetica e con lo stato di benessere, ma altresì con le condizioni sanitarie connesse alle malattie infettive ed anche metaboliche. Sul piano applicativo si è operato con una Tavola Rotonda coordinata dal Prof. G. Sali, cui va sincera gratitudine; in essa l'attenzione si è rivolta ai controlli dell'apparato riproduttore nel post-partum ed agli interventi mediante trattamenti ormonali. Ulteriore attenzione è stata rivolta alla gestione alimentare e delle condizioni ambientali con particolare riguardo allo stress termico.

Sempre con riferimento alla Ipofertilità, è ormai una acquisizione comune la consapevolezza che il periodo di transizione, 3 settimane prima e 3 dopo il parto, rappresenti un momento chiave; in grado quindi di condizionare la risposta produttiva della bovina, oltre che la sua longevità. Per questo si è voluto arricchire il volume con i contributi del Workshop "Transition Cow: aspetti immunitari, produttivi e riproduttivi" tenuto a Rimini in occasione del 55° Convegno Nazionale SISVet (20-22 Settembre 2001).

Il Coordinatore
Prof. Giuseppe Bertoni

PREFAZIONE

Con vero piacere la Società Italiana delle Scienze Veterinarie, insieme all'Associazione Scientifica di Produzione Animale e all'Istituto Sperimentale Lazzaro Spallanzani ha colto l'invito del Prof. Bertoni e di altri Esperti del settore ad organizzare una serie di conferenze sulla gestione della bovina da latte e sui problemi riproduttivi che colpiscono questa specie. Tutti temi di estrema importanza per le ripercussioni economiche che hanno nella gestione dell'allevamento bovino.

Sono stati organizzati due incontri scientifici, uno, su «Transition cow: aspetti immunitari, produttivi e riproduttivi» in occasione del LV Convegno S.I.S.Vet. - Rimini 2001; l'altro, su: «Ipofertilità bovina: cause e possibili rimedi», giornata di studio tenutasi a Piacenza nel 2002.

Il Prof. Bertoni, nella veste di Coordinatore di entrambi gli incontri scientifici, grazie alla fattiva collaborazione dei Relatori e ad un approccio interdisciplinare, è riuscito a dare un quadro chiaro, aggiornato ed esauriente dei fattori responsabili dell'efficienza riproduttiva e dei meccanismi tramite i quali questi agiscono, specie in situazioni di ipofertilità, e per tale ragione si è ritenuto utile procedere alla stampa delle relazioni di questi incontri scientifici.

Alla Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche di Brescia e al Prof. Gianluigi Gualandi va formulato un caldo e sentito ringraziamento per essersi assunti l'onere economico ed organizzativo per la stampa di questo volume.

Prof. Eraldo Seren
Presidente Società Italiana
delle Scienze Veterinarie

Pro. Vincenzo Russo
Presidente Associazione Scientifica
di Produzione Animale

Prof. Giuseppe Enne
Presidente Istituto Sperimentale
Lazzaro Spallanzani

RINGRAZIAMENTI

Con viva riconoscenza si ricorda qui la preziosa collaborazione delle Società Scientifiche:
- Società Italiana delle Scienze Veterinarie
- Associazione Scientifica di Produzione Animale
- Istituto Sperimentale Lazzaro Spallanzani

Si ringraziamo altresì gli sponsor che hanno reso possibile l'iniziativa:
- NUOVA PADANA MANGIMI – Rivarolo Mantovano (MN)
- MILK LINE e QUALITY SEMEN – Gariga (PC)
- INTERVET ITALIA – Peschiera Borromeo (MI)
- FATRO – Ozzano Emilia (BO)
- RAGGIO DI SOLE MANGIMI SPA – Fiorenzuola d'Arda (PC)
- TDM – Manerbio (BS)
- VERONESI–VERONA – Quinto (VR)

Giuseppe Bertoni

Piacenza, Novembre 2002

IPOFERTILITÀ BOVINA:
cause e possibili rimedi
(Piacenza, 31-05-02)

DAIRY COW INFERTILITY:
causes and suitable cares
(Piacenza, 31st May 2002)

ALESSANDRO BAGNATO[1], CHRISTIAN MALTECCA[1],

PRODUTTIVITÀ E RIPRODUZIONE NEI BOVINI DA LATTE: ASPETTI GENETICI

PRODUCTION AND REPRODUCTION IN DAIRY CATTLE: GENETIC ASPECTS

[1] Dipartimento VSA, Università degli Studi di Milano
Via Celoria 10, 20133 MILANO, Italy,
Tel 0250318047- Fax 02503178038
Alessandro.Bagnato@unimi.it

RIASSUNTO

I caratteri funzionali, di cui fanno parte quelli riproduttivi, rivestono nell'allevamento odierno una crescente importanza economica. In regime di quote latte il reddito aziendale infatti può essere incrementato soprattutto riducendo i costi di produzione. Inoltre, a causa dell'antagonismo tra produzione e fertilità le performance riproduttive sono peggiorate nel corso degli ultimi due decenni, motivo per cui molti programmi di selezione stanno includendo nei loro indici i caratteri di fertilità. Nella Frisona Italiana l'ereditabilità dei caratteri di fertilità (tasso di concepimento al primo intervento fecondativo, numero di inseminazioni per concepimento, intervallo tra inseminazioni, intervallo parto concepimento) è compresa tra 1% e 3% mentre le correlazioni genetiche con la produzione sono antagoniste. Il carattere tasso di non ritorno, mostra anch'esso ereditabilità limitate (1% / 2%) e una diminuzione del valore medio nel corso dell'ultimo decennio (circa 6% ogni 5 anni). I modelli di valutazione economica indicano per un carattere quale il tasso di concepimento al primo servizio un valore di 2 Euro per punto percentuale. Nella razza Simmental Austriaca l'enfasi relativa per i caratteri di fertilità nell'indice di selezione è del 10%. La selezione per migliorare le caratteristiche riproduttive è possibile anche con basse ereditabilità, facendo attenzione ad inserire negli indici di merito totale i caratteri con il giusto peso.

Parole chiave

fertilità, produzione, bovini da latte, selezione

SUMMARY

Functional traits, including reproductive characteristics, have an increasing role in the nowadays herd management and breeding policies. Because production quotas, farm income can be mainly increased with a reduction in productive costs. Moreover, given the antagonistic relationship between fertility and productive traits, a negative trend for fertility can be observed in the last two decades. Given the reduction in fertility the selection programs of several Countries include in their breeding goals the fertility traits. In the Italian Friesian heritability for fertility traits (first insemination conception rate, number of inseminations per conception, interval between calving and first insemination, interval between services, and days open) are low (between 1% and 3%) with a clear antagonistic relationship with production traits. Non return rate at 56 days shows a low heritability (1% / 2 %) and a decreasing trend in the population average during the last decade (6% per 5 year period). The economic evaluation of conception rate at first service indicates a value of 2 Euro per 1% difference in conception rate. As an example the total merit index of the Austrian Simmental includes fertility traits with a relative economic emphasis of 10%. Selection for fertil-

ity is possible, paying attention to include reproductive traits in total merit indexes according to their economic importance.

Key words
fertility, production, dairy cattle, selection

INTRODUZIONE

Premessa

Il processo di miglioramento delle produzioni zootecniche si pone come obiettivo massimizzare il profitto economico di una azienda. Ciò può essere realizzato sia aumentando la produzione, che diminuendo i costi ad essa connessi. Nei bovini da latte ad esempio la limitazione produttiva determinata dalle quote latte non permette di aumentare il reddito aziendale attraverso l'incremento della produzione. La scelta imprenditoriale deve quindi ricadere su una diminuzione dei costi. La funzionalità dell'animale, e la sua abilità a rimandare l'eliminazione dall'allevamento sono caratteristiche che incidono in modo rilevante sui costi di produzione. Nell'allevamento dei bovini da latte l'accresciuta importanza dei costi di produzione sul reddito ha spinto alla collaborazione numerose istituzioni di ricerca e organizzazioni deputate al miglioramento genetico delle popolazioni, per sviluppare schemi di selezione per i caratteri funzionali. La collaborazione è sfociata in una azione concertata a livello europeo «Genetic improvement of functional traits» (GIFT) che nel triennio 1997-99 ha sviluppato, per i caratteri funzionali, tematiche relative alla registrazione del dato, agli obiettivi di selezione, alla selezione dei riproduttori ed allo schema di selezione (Groen, 1999; Brascamp, 1999) organizzando numerosi incontri di ricerca.

I Caratteri Funzionali

Per caratteri funzionali intendiamo le caratteristiche di un animale che accrescono la sua efficienza economica in seguito ad una riduzione dei costi di input. Li distinguiamo quindi dai caratteri produttivi che aumentano il reddito aziendale grazie ad una maggiore produzione (output).

Tra i caratteri funzionali possiamo includere caratteri di fertilità, sanitari, di efficienza gestionale dell'animale e la longevità. Esempi sono il tasso di concepimento, l'intervallo parto-concepimento, la facilità al parto, la sanità della mammella (mastite clinica e subclinica), i problemi ad arti e piedi, la mungibilità, l'efficienza di trasformazione alimentare. Infine un carattere oggi oggetto di selezione in programmi di molte razze da latte: la longevità funzionale. Quest'ultima generalmente viene definita come la durata della vita produttiva in allevamento corretta per il livello produttivo del singolo animale. In altre parole la longevità funzionale può essere considerata come una misura indiretta di tutti i caratteri funzionali, permettendo di «misurare» quanto un animale sia in grado di rimanere in allevamento grazie all'assenza di problemi sanitari, di fertilità e perché gradito dall'allevatore.

Caratteri funzionali e produttivi

L'accresciuto interesse verso i caratteri funzionali nei bovini da latte si deve anche al grande aumento di produzione avvenuto negli ultimi due decenni grazie al miglioramento genetico. La maggior incidenza di dismetabolie e di problemi sanitari di fertilità si ipotizza sia legato al grande aumento di produzione. Nelle altre specie zootecniche (avicoli e suini) gli effetti indesi-

derati sulle caratteristiche funzionali degli animali sono molto più evidenti (Rauw e coll., 1999). Ad esempio negli avicoli una selezione spinta per i caratteri produttivi ha portato a problemi metabolici (danneggiamento del meccanismo della sazietà), riproduttivi (nel tacchino i maschi sono troppo pesanti per la fecondazione naturale, un aumento nel numero di uova difettose e della percentuale di anormalità) e sanitari (maggior mortalità, problemi agli arti, problemi al cuore e circolatori). Sicuramente i programmi di miglioramento genetico per i caratteri produttivi, particolarmente efficaci in queste specie (si pensi ai brevi intervalli di generazione e all'elevata efficienza riproduttiva), hanno favorito l'insorgenza di effetti indesiderati.

Un problema oggigiorno particolarmente sentito dagli allevatori è la riduzione della fertilità nelle bovine da latte. Ad esempio ad incrementi ragguardevoli nella produzione di latte (+100kg in 20 anni) corrisponde una riduzione del tasso di concepimento nello stesso periodo da .50 a .4, (Darwash 1997; Foote R.H., 1996; Butler e Smith 1989; Butler e coll. 1995.).

Che la fertilità sia una delle maggiori problematiche nell'allevamento dei bovini da latte è una ipotesi confermata dai motivi di eliminazione dall'azienda. Un' indagine svolta nella provincia di Novara in allevamenti di Frisona Italiana (Romeo, 1998) ha permesso di evidenziare che il 38% degli animali viene eliminato per problemi riproduttivi, il 20% per problemi sanitari, il 17% per problemi al parto e solo il 9% per bassa produzione.

Da questi dati emerge che solo il 9% delle vacche viene eliminato volontariamente dagli allevatori a causa di una bassa produzione, mentre il rimanente viene eliminato per cause indipendenti dalla volontà dell'allevatore: ad esempio un allevatore vorrebbe mantenere una bovina in azienda perché buona produttrice, ma si vede costretto all'eliminazione perché non concepisce.

Nei bovini le correlazioni genetiche tra produzione di latte e caratteri di fertilità sanitari e metabolici sono in genere antagoniste. Tuttavia i lunghi intervalli di generazione e la ridotta efficienza riproduttiva hanno limitato la comparsa di effetti indesiderati. La riduzione della funzionalità degli animali inizia tuttavia ad essere evidente. Elevati tassi di rimonta, altrimenti misurabili con una riduzione della vita produttiva delle vacche, hanno fatto si che, da una decina d'anni, negli indici di selezione delle razze da latte siano stati inseriti i caratteri funzionali (fertilità, longevità, cellule somatiche) per contrastare gli effetti indesiderati dovuti ad una esclusiva selezione per la produzione.

I caratteri di fertilità

E' bene puntualizzare che l'importanza dei caratteri di fertilità nei bovini da latte risiede nella tipologia d'allevamento decisamente da riproduzione. La produzione di latte dipende infatti da una efficiente successione di parti. Inoltre una efficiente riproduzione permette una maggior riforma volontaria (per caratteri produttivi) in grado di garantire progressi genetici più elevati (aumento dell'intensità di selezione) per i caratteri oggetto di selezione.

La fertilità può essere migliorata agendo sia su caratteri principalmente legati all'efficienza dell'animale, quali il tasso di concepimento e di non ritorno, il numero di inseminazioni, sia su caratteri legati a decisioni gestionali, quali l'intervallo parto prima inseminazione. Infine caratteri come l'intervallo parto concepimento sono la combinazione di più caratteri come il numero di fecondazioni e l'intervallo parto prima fecondazione

L'andamento di produzione e fertilità è evidenziato nel grafico di Figura 1 per un campione della popolazione di Frisona Italiana. I buoni risultati ottenuti per la produzione di latte (circa 2000 kg in 15 anni) sono accompagnati da un allungamento dell'intervallo parto concepimento, e di conseguenza dell'intervallo interparto, di circa un mese.

A questi caratteri indicatori della fertilità vanno sicuramente aggiunti la facilità di parto (effetto diretto ed effetto materno) e la mortalità neonatale, molto più diffusa di quanto solitamente si immagini.

Nel grafico di Figura 2 è riportato l'andamento del carattere «stillbirth» (vitello nato morto o morto entro 24 ore dal parto) nella razza Frisona. Si noti come questo problema sia in crescita con percentuali che raggiungono il 9% delle nascite (Philipsson 1998). Sicuramente un carattere da non trascurare e che è già presente in alcuni criteri di selezione nazionale.

I parametri genetici

La possibilità di effettuare miglioramento genetico dipende in primo luogo dall'esistenza di variabilità genetica (e fenotipica) tra i soggetti. In particolare è molto più facile effettuare miglioramento genetico quando una larga parte delle differenze fenotipiche osservate è dovuta al genotipo degli individui e non all'ambiente in cui vivono. Nel grafico di Figura 3 sono riportate le ipotetiche distribuzioni di variabilità di un carattere, fenotipica (totale), genetica e dovuta all'ambiente. Posta a 100 la variabilità totale una parte di questa è variabilità genetica, ossia differenze genetiche tra individui. La proporzione tra la variabilità genetica e la totale è un parametro genetico chiamato ereditabilità ($h^2=\sigma^2_G/\sigma^2_T$). Ogni carattere in ogni popolazione ha una sua ereditabilità. Come già accennato, tanto è maggiore l'ereditabilità, tanto è più facile effettuare miglioramento genetico per quel carattere.

Solitamente i caratteri di fertilità hanno basse ereditabilità perché l'influenza ambientale è molto forte. Si pensi al carattere tasso di concepimento sul quale influisce la rilevazione dei calori, il momento della fecondazione, la manipolazione del seme e la manualità dell'operatore.

Quando si parla di selezione per più caratteri, inoltre, si devono considerare le relazioni genetiche tra caratteri che nel caso della produzione di latte e caratteri di fertilità risultano antagoniste.

Fertilità e produzione - parametri genetici

Le relazioni tra caratteri produttivi e di fertilità sono spesso antagoniste. Ciò fa si che selezionando per una maggior produzione si riduca, nella popolazione, la fertilità. In Tabella 1 sono riportate le ereditabilità, le correlazioni genetiche e le correlazioni fenotipiche per il carattere produzione di latte e alcuni caratteri di fertilità nella Frisona Italiana (Bagnato e Oltenacu, 1992)

Le ereditabilità dei caratteri di fertilità sono molto contenute (1% / 3%.). Ciò indica che l'influenza ambientale sulle differenze che si rilevano tra gli animali sono molto elevate e sarà quindi difficile scegliere gli animali migliori per meriti genetici. Tuttavia la variabilità genetica presente nella popolazione (in parentesi sulla diagonale) mostra di essere del tutto comparabile a quella della produzione di latte.

Analizzando le correlazioni genetiche si rileva un netto antagonismo tra produzione di latte e caratteri di fertilità. I valori in tabella indicano infatti che animali maggiormente produttivi tendono ad avere un intervallo parto concepimento più elevato, come risultato di un maggior intervallo tra il parto e la prima inseminazione, un minor tasso di concepimento alla prima inseminazione e di un maggior numero di inseminazioni per concepimento.

Anche a livello fenotipico la relazione tra produttività e fertilità rimane antagonista. Tuttavia una miglior gestione degli animali permette di ridurre l'effetto negativo della produzione sulla fertilità (Bagnato e Oltenacu, 1996).

Patologie riproduttive e tasso di concepimento

Uno studio effettuato nell'ambito del piano contro la ipofertilità in provincia di Milano (Bagnato e coll. 1996) ha permesso di evidenziare che tra le patologie che maggiormente colpiscono l'allevamento bovino la metrite (9.3%) e la presenza di cisti ovariche (3.4%) rap-

presentano le patologie riproduttive a maggior frequenza. La ricerca ha anche rilevato che visite veterinarie regolari permettevano di migliorare il tasso di concepimento aziendale grazie ad un efficiente prevenzione.

Tasso di non ritorno a 56 giorni

Il tasso di non ritorno è un carattere di particolare interesse. E' stato definito dal gruppo di lavoro "AI and Relevant Technologies" dell'International Committee of Animal Recording come "proporzione di femmine che sono inseminate per la prima volta in un dato periodo di tempo e per le quali non è stato registrato alcun successivo intervento fecondativo nei 56 giorno successivi" (Pizzi, comunicazione personale).

Alcuni studi nella razza Frisona Italiana (Pizzi e coll., 1998, 1999; Miglior e Pizzi 1999) hanno studiato il carattere allo scopo di fornire indicazioni, agli allevatori, sulla fertilità delle vacche e, ai centri di FA, sulla fertilità dei tori . La stima dell'ereditabilità di questo carattere risulta, come per la maggior parte dei caratteri di fertilità, molto bassa (1% / 2%).

L'andamento nel tempo del tasso di non ritorno a 56 giorni riportato in Figura 4 mostra una riduzione di circa il 2% in 5 anni (circa il 6% in scala fenotipica) che, in relazione al miglioramento genetico per i caratteri produttivi realizzato nella razza, è una ulteriore indicazione dell'antagonismo tra produzione e fertilità.

In Figura 5 è riportato l'andamento del tasso di non ritorno per diversi ordini di parto nella razza Frisona. Una maggior fertilità nelle manze suggerisce che in assenza di produzione il concepimento avviene più facilmente rispetto agli ordini di parto successivi, dove la produzione in corso è uno dei fattori che maggiormente incidono in modo negativo sulla fertilità degli animali.

Infine Pizzi e coll. (1999) hanno verificato che la fertilità misurata sui giovani tori come tasso di non ritorno a 56 giorni, non è un utile per predire le future performance di fertilità dei tori.

Valore economico della fertilità

In generale l'obiettivo zootecnico-economico di un allevatore è quello di sviluppare animali vitali che assicurino il maggior profitto possibile in future condizioni di mercato. In altri termini i nuovi nati in allevamento non dovrebbero avere problemi alla nascita e nel loro sviluppo, e dovrebbero garantire un profitto il più elevato possibile nelle condizioni di mercato future, condizioni che potrebbero essere differenti dalle odierne.

La selezione dei riproduttori deve quindi avvenire in modo tale che le nuove generazioni di animali permettano di aumentare il reddito aziendale, sia grazie ad incrementi nei ricavi, (es. aumento del latte prodotto), che per una riduzione dei costi (es. miglior fertilità). Il programma di selezione deve quindi essere determinato sulla base di un obiettivo economico e non sul progresso genetico ottenibile per singoli caratteri.

Data per disponibile la valutazione genetica dei riproduttori per ogni carattere di interesse, punto di fondamentale importanza è la stima del loro valore economico relativo. L'inclusione in un unico indice di selezione di più caratteri deve infatti avvenire in base alla loro importanza economica relativa. Ad esempio si deve stabilire se sia economicamente più vantaggioso aumentare la produzione di latte di 100 kg o aumentare il tasso di concepimento del 20%.

La stima di valori economici avviene grazie all'utilizzo di simulazioni che quantificano la differenza in profitto all'aumentare di una unità di un fattore di output, (es. 1 kg di latte) o alla riduzione di una unità di un fattore di input (es. alimento, o tasso di concepimento).

Modelli di questo genere, generalmente denominati "modello allevamento", hanno permesso di quantificare nelle popolazioni in cui sono stati applicati, i valori economici relativi

di diversi caratteri funzionali (Groen e coll. 1995, 1997), inclusi i caratteri di fertilità

Soelkner e coll. (2000) hanno stimato per tre popolazioni di bovini da latte europee i valori economici per i caratteri di fertilità. In particolare hanno valutato il tasso di concepimento alla prima inseminazione. Quest'ultimo carattere se migliorato, permette di ridurre il numero di inseminazioni, di ottenere un intervallo parto concepimento più breve e di migliorare la longevità degli animali. Utilizzando il "modello allevamento" prima descritto molto brevemente Soelkner e coll. (2000) hanno stimato che la differenza in termini economici nello stesso allevamento quando il tasso di concepimento differisce di un punto percentuale è di 2 Euro per vacca per anno. Ciò può sembrare una riduzione di costi molto limitata, ma si pensi, ad esempio, che ridurre il numero di inseminazioni da due ad una per concepimento comporta un cambio nel tasso di concepimento del 50% (100 Euro)

In Figura 6 sono riportati i pesi economici per l'indice di merito totale della razza Simmental Austriaca. La fertilità rappresenta il 10% del valore economico totale. E' da notare che i caratteri funzionali rappresentano quasi il 50% del possibile incremento di reddito per gli allevatori

In termini monetari l'indice di merito totale riportato in Figura 6 garantisce un progresso genetico annuo di 11.89 Euro. Se nella stessa razza l'unico criterio di selezione fosse il carattere latte kg, il progresso genetico sarebbe di soli 10.57 Euro per anno, ossia l'87% del progresso genetico ottenuto con l'indice di merito totale.

CONCLUSIONI E PROSPETTIVE

Il miglioramento genetico si pone come obiettivo di identificare animali in grado di aumentare il reddito della popolazione, e grazie alla riproduzione disperdere i loro geni nella generazione successiva. Tanto più è efficiente la riproduzione tanto più rapidamente si potranno migliorare le caratteristiche della popolazione.

In Figura 7 si può notare che la proporzione di geni nativi nella popolazione Frisona Italiana è diminuita nel corso degli anni; perché la selezione operata dagli allevatori ha fatto si che la composizione genica della popolazione si modificasse nel tempo. Una delle caratteristiche del processo di miglioramento genetico delle popolazioni è infatti che i geni selezionati permangono della popolazione ed il loro beneficio può essere cumulato con quello ottenibile grazie alla selezione in generazioni successive. Ciò ha come conseguenza che il miglioramento delle performance ottenuto attraverso il miglioramento genetico sia permanente. Benché valori contenuti dell'ereditabilità fanno si che la selezione per la fertilità non sia così efficiente come per la produzione di latte, il progresso genetico ottenuto nelle performance degli animali sarebbe permanente.

Di recente la selezione delle principali razze da latte ha incluso nei propri indici di selezione caratteri funzionali. Sicuramente i caratteri di fertilità sono tra i caratteri funzionali più importanti ed alcuni Paesi stanno già effettuando selezione per alcuni caratteri riproduttivi.

Certamente la selezione dei riproduttori per le caratteristiche riproduttive deve avvenire anch'essa nell'ambito di un indice di merito totale, che più di ogni altro riesce a massimizzare il reddito dell'allevamento. Tutto questo senza peraltro scordare che una buona gestione aziendale è senza dubbio fondamentale per migliorare nel breve periodo le performance funzionali degli animali.

RINGRAZIAMENTI

Gli autori ringraziano la Dott.ssa Flavia Pizzi.

	PC1	PPI	TC1	NIC	LK
PC	.03 (7.6)	.47	-.59	.67	.12
PPI	.92	.03 (6.5)	.05	-.06	.11
TC1	-.64	-.33	.01 (6.6)	-.81	-.08
NIC	.54	.22	-.98	.01 (5.4)	.97
LK	.36	.39	-.21	.15	.22 (7.3)

Tabella 1.
Ereditabilità (diagonale), coefficiente di variabilità genetica additiva (diagonale in parentesi), correlazioni genetiche (sotto la diagonale), correlazioni fenotipiche (sopra la diagonale) per alcuni caratteri di fertilità ed il carattere latte kg. (Da Bagnato e Oltenacu 1992). [1)] PC = Parto Concepimento, PPI = Intervallo parto prima inseminazione, TC1 = Tasso di concepimento alla prima inseminazione NIC = Numero di inseminazioni per concepimento LK = Produzione di latte.

Table 1.
Heritability (diagonal), coefficient of additive genetic variation (parenthesis diagonal), genetic correlation (below diagonal) phenotypic correlation (above diagonal) for some fertility traits and milk kg production (from Bagnato and Oltenacu, 1992). [1)] *PC = Days open, PPI = interval between calving and first insemination. NIC = number of insemination per conception, LK = Milk kg.*

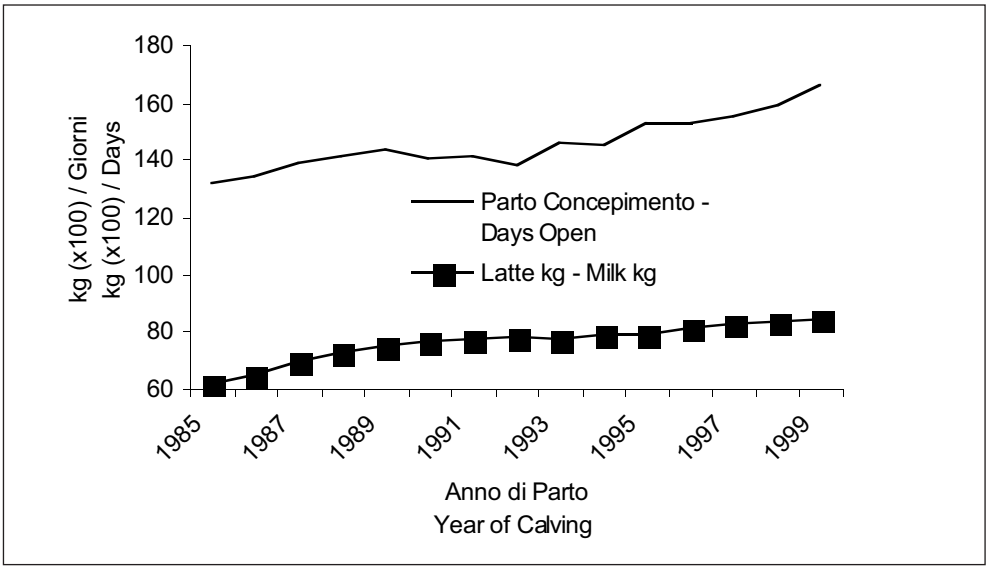

Figura 1. Produzione di latte e intervallo parto concepimento in un campione di razza Frisona Italiana.
Figure 1. Milk production and days open in a sample of Italian Friesian cattle.

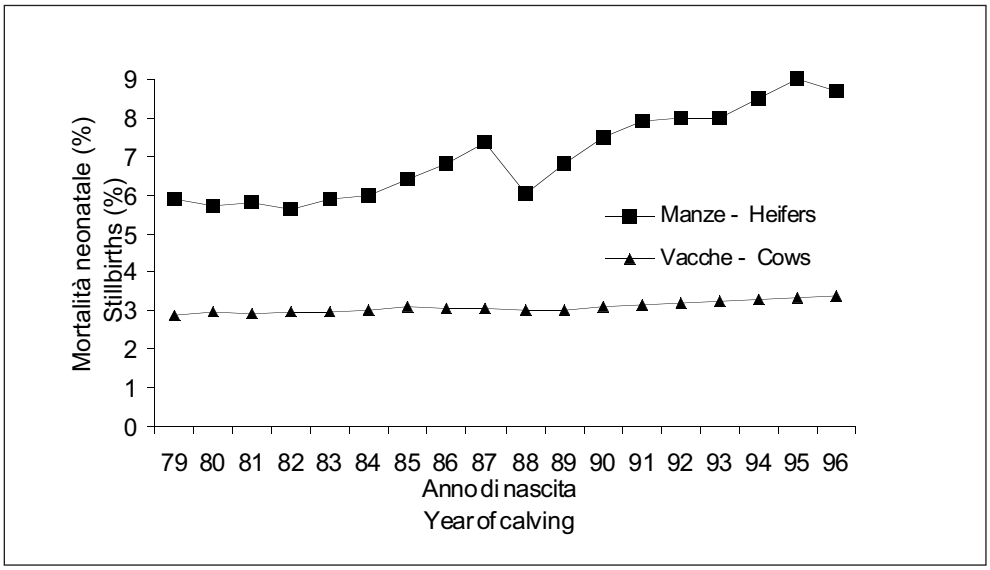

Figura 2. Andamento della media di popolazione per il carattere "Stillbirth" nella Frisona Svedese.
Figure 2. Trend in population average for Stillbirth in Swedish Friesian cattle.

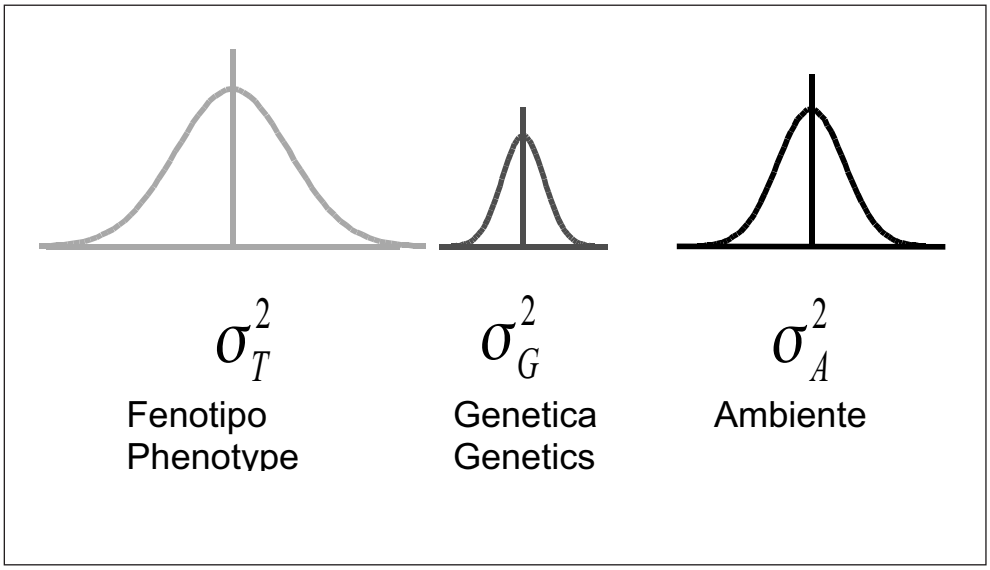

Figura 3. Componenti della varianza
Figure 3. Variance Components.

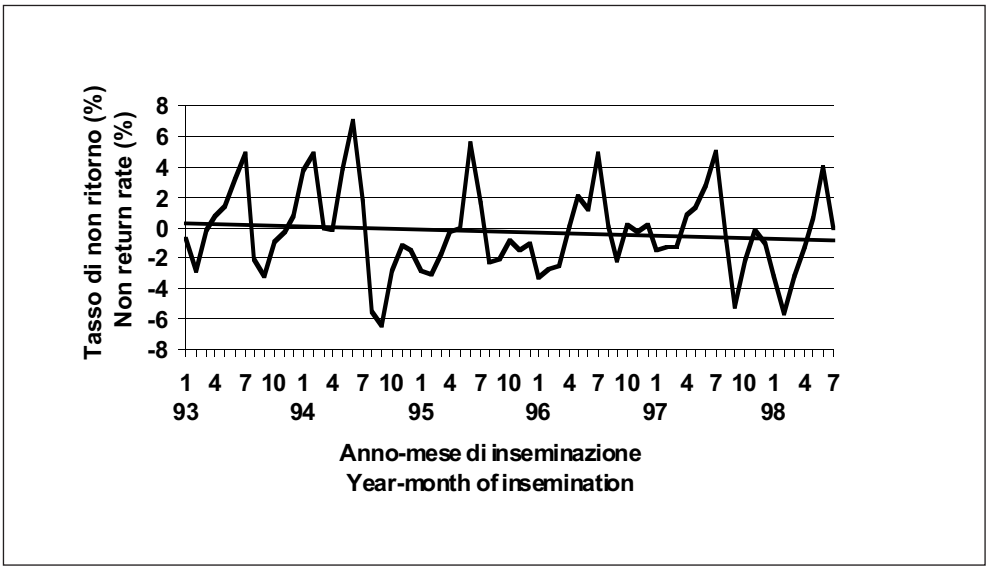

Figura 4. Tasso di non ritorno nella Frisona Italiana (da Pizzi e coll, 1998).
Figure 4. Non return rate in Italian Friesian (from Pizzi et al., 1998).

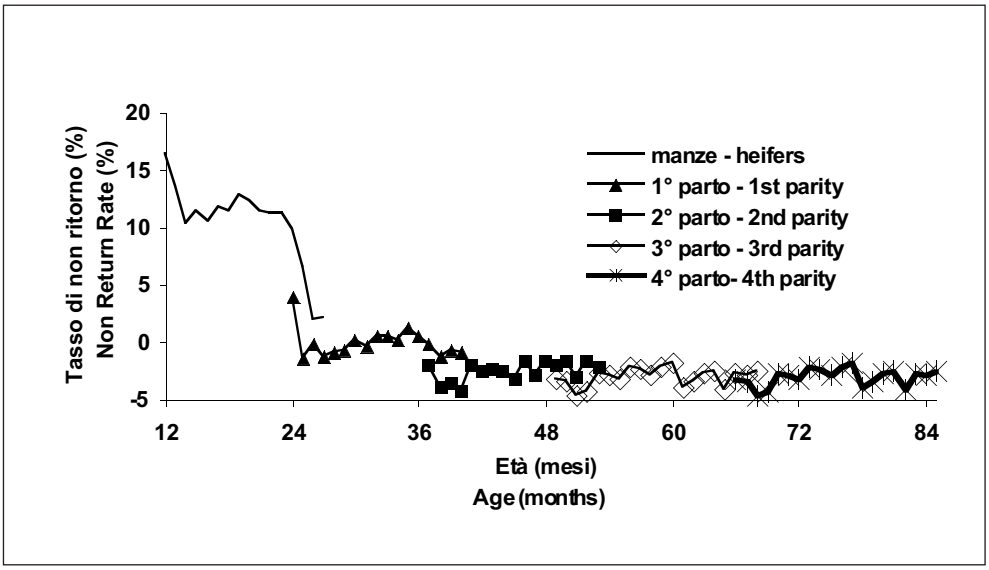

Figura 5. Effetto dell'età all'inseminazione sul tasso di non ritorno a 56 giorni. (da Miglior e Pizzi 1999)
Figure 5. Effect of age at insemination on non return rate at 56 days (from Miglior and Pizzi 1999).

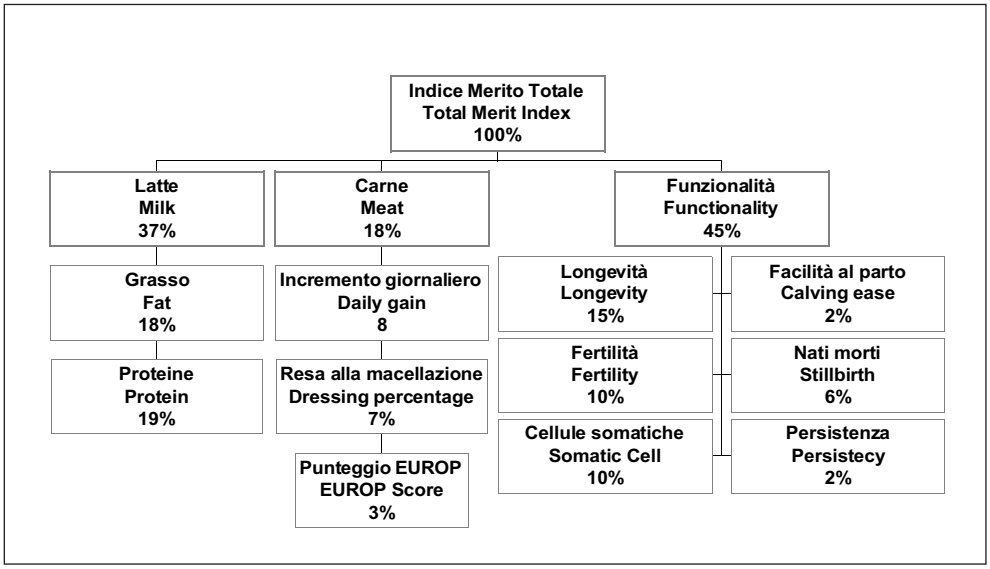

Figura 6. Enfasi economiche relative nell'indice di merito totale della razza Simmental Austriaca. (da Soelkner, 1999)

Figure 6 Relative economic enphasis in total merit index of Austrian Simmental.

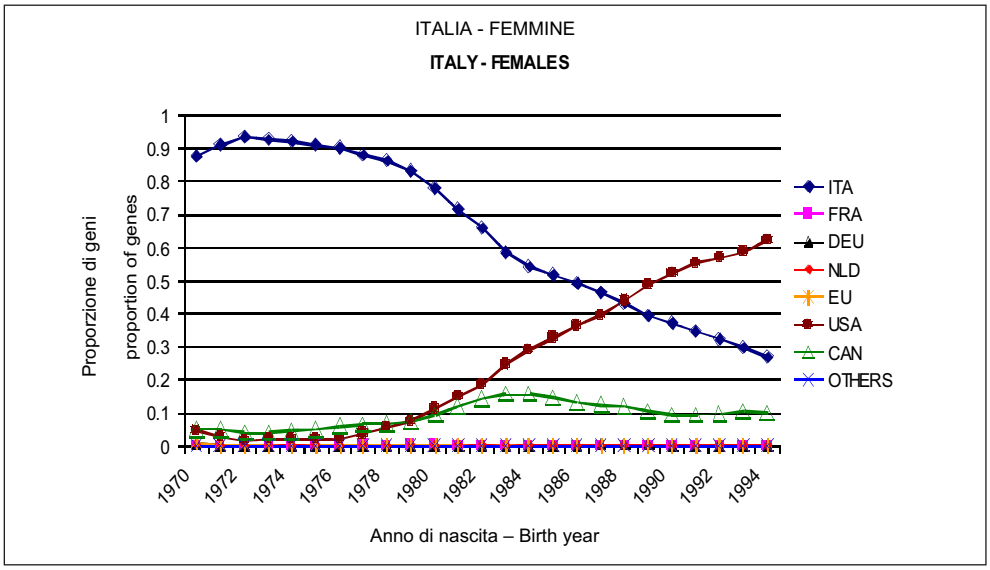

Figura 7. Proporzione di geni di differenti popolazioni femminili di razza Frisona (da Maltecca e coll., 2002)

Figure 7. Proportion of genes in differen female populations of Friesian cattle. (from Matecca et al. 2002).

BIBLIOGRAFIA

1) Bagnato A., Oltenacu P.A. (1992). *Genetic study of fertility traits and production in different parities in Italian Friesian cattle*. J. Anim. Breed. Genet. 110, 126-134.

2) Bagnato A., Oltenacu P.A. (1994). *Phenotypic evaluation of fertility traits and their association with milk production in Italian Friesian cattle*. J. Dairy Sci. 77, 874-882.

3) Bagnato A, Ghiroldi S., Gandini G.C., Pagnacco G., Amodeo P. (1996). *Patologie riproduttive e concepimento al primo servizio nella razza Italiana*. Zootecnia e Produzione Animale 22, 302-309.

4) Brascamp, E., W., (1999). *Genetic improvement of functional traits in cattle- GIFT* Interbull Bulletin 23, 7-10.

5) Butler, W.R. Smith, R.D., (1989). *Interrelation ships between energy balance and postpartum reproductive function in diary cattle*. J. Dairy Sci. 72, 767-783.

6) Butler W.R., Cherney D.J.R., Elrod C.C., (1995). *Milk urea nitrogen analysis: fileld trial results on conception rates and dietary inputs*. Proc. of the Cornell Nutrition Conference, Rochester, NY pp. 89-95.

7) Darwash A.O., Lamming G.E, , Wooliams J.A., (1987). *Identifying Hereditable endocrine parameters associated with fertility in postpartum dairy co*. Interbull Bulletin 18, 40-54.

8) Foote R.H., (1996). *Review: Dairy Cattle Reproductive Physiology Research and Management-Past Progress and Future Prospects*. J. Dairy Sci. 79, 980-990.

9) Groen, A. F., Brandts, A. G. B. M., Jansen, H. H., Kanis, E., (1995). *Economic value and genetic parameters for calving performance in Dutch dairy cattle*. Interbull Bulletin 11.

10) Groen, A. F., Steine T., Coelleau, J. J, Pedersen, J., Pribyl, J., Reinsch, N., (1997). *Economic values in dairy cattle breeding with special reference to functional traits*. Livest. Prod. Sci. 49, 1-21.

11) Groen, A. F., (1999). *Preface: workshop genetic improvement of functional traits in cattle breeding goals and selection schemes*. Interbull Bulletin 23, 1-2.

12) Maltecca C., Canavesi F., Gandini G.C., Bagnato A., (2002). *Pedigree Analysis of Holstein Dairy cattle Populations*. Interbull Bulletin 29, 168-172.

13) Pizzi F., Miglior F., Guaita N. (1998). *Effetto del centro di produzione del seme sulla fertilità dei tori (NRR)*. Proc 10° Meeting nazionale "Studio della efficienza riproduttiva degli animali di interesse zootecnico - Bergamo 12 giugno 1998", 27-31,

14) Miglior F., Pizzi F. (1999) *Effect of inbreeding of service bull and inseminated cow and not return rate in Italian Holstein*. J. Dairy Sci., 82, Suppl. 1, 114-115.

15) Pizzi F., Miglior F. (1999) *Phenotypic evaluation for non return rate of Holstein bulls as service sire*. Proc. of the A.S.P.A. XIII Congress, Piacenza, June 21-24, 1999, 170-172.

16) Philipsson J., Steinbock L., Berglund B., (1998). *Considering stillbirths in the breeding program?* Interbull Bulletin 18, 25-27.

17) Rauw W.M., Kanis, E.,Noordhuizen-Stassen, E. N., Grommers, F. J., (1998). *Undesirable side effects of selection for high production efficiently in farm animal*. Livest. Prod. Sci. 56, 15-33.

18) Romeo L. (1998) *Cause di eliminazione dall'allevamento nella popolazione bovina di razza Frisona Italina*. Tesi di Specializzazione in Miglioramento genetico, Facoltà di Medicina Veterinaria, Milano.

19) Sölkner J., Miesenberger, J., Willam, A., Fürst, Ch., Baumung, R., (2000) *Total merit index in dual purpose cattle*. Archiv für Tierzucht 43(6),597-608.

GABRIELE BONO

L'IPOFERTILITÀ DELLA BOVINA DA LATTE POST-PARTUM COME SINTOMO DI STRESS: ANALISI DEI MECCANISMI COINVOLTI.

SUBFERTILITY IN POST PARTUM DAIRY COW AS A STRESS SYMPTOM: ANALYSIS OF THE INVOLVED MECHANISMS.

Dip. di Scienze sperimentali veterinarie, Università di Padova
Strada Romea 16, , Agripolis,35020 Legnaro (Pd)
Tel. 049.8272670 Fax 049.8272669
e-mail: gabriele.bono@unipd.it

RIASSUNTO

È convinzione molto diffusa che alla base di una ridotta fertilità della bovina post-partum vi sia una condizione di stress collegata alla elevata produzione di latte. Nel periodo di transizione le bovine con maggior produttività tollerano meno i regimi di conduzione non opportuni, soprattutto sul piano alimentare. Il prolungato bilancio energetico negativo può ridurre la pulsatilità dell'LH , ed avere un rapido effetto negativo sulla crescita del follicolo dominante e sulla sua capacità ovulatoria. Il fatto che le bovine più produttive mostrino i peggiori indici di efficienza riproduttiva, giustifica l'ipotesi di un antagonismo genetico tra produzione di latte e fertilità. D'altro canto studi epidemiologici fanno emergere come causa di infertilità oltre all'elevata produzione di latte anche i fattori ambientali in senso lato (stagione e tecnologie di allevamento) e inquadrano le malattie quali «fattori di rischio». Possiamo quindi riferirci allo stress come termine in senso lato (stress metabolico ed ambientale) che limita la piena espressione delle capacita' produttive. L'entità di tali effetti è strettamente dipendente da diversi fattori contestuali (es.: natura, intensità e durata dello stimolo, esposizione pregressa; sesso e fase riproduttiva; stagione; quadro endocrino e metabolico). Gli effetti negativi dello stress sulla riproduzione sono mediati dall'asse ipotalamo-ipofisi-corticosurrenalico (HPA), che a sua volta coinvolge vie di neurotrasmissione centrale complessa, che alterano l'attività dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadale (HPG). Per le specie ruminanti è emerso che gli stressors interferiscono negativamente sui meccanismi che temporizzano l'ovulazione. Stimoli come il trasporto, l'isolamento e la contenzione, l'ipoglicemia, l'ipertermia, riducono i livelli, la frequenza e l'ampiezza delle pulses dell'LH e l'ampiezza del picco ovulatorio ritardandone inoltre la comparsa. Anche la somministrazione di ACTH riduce il rilascio GnRH-indotto di LH. Animali trattati con ACTH nella fase follicolare o sottoposti a stress mostrano inoltre modeste elevazioni del progesterone ematico, indicate come responsabili del ritardo o dell'eliminazione del picco di LH e della formazione di follicoli ovarici persistenti. Risulta sempre più chiaro che per ottenere un'elevata efficienza riproduttiva nel postparto della vacca da latte è necessario non solo prevenire i disordini metabolici e ginecologici, ma anche eliminare il più possibile ogni fonte di stress. Abbiamo ora delle evidenze endocrinologiche che comprovano l'interferenza dello stress con i delicati meccanismi di rilascio degli ormoni riproduttivi. Ciò depriva il follicolo ovarico dell'adeguato supporto gonadotropo e porta ad un'aberrazione dello sviluppo che esita in condizioni note di ipofertilità come l'anestro, l'ipofertilità idiopatica, la persistenza follicolare o cisti.

Parole chiave
stress, fertilità, ormoni, bovina da latte

SUMMARY

It is a widespread belief that reduced fertility in the post-partum dairy cow is caused by the stress linked to high milk yield. In fact, in dairy farms, an increase in milk yields corresponds to a decrease in fertility. Infertility (or subfertility) can be considered not as an illness in itself but as a symptom, and cannot be treated successfully if the real cause is not identified. Subfertility is caused by specific gynaecological disorders, but metabolic disorders and infectious diseases are widespread negative conditions as well. Cows with the highest production are the most sensitive and less tolerant to unsuitable nutritional management during the transition period. A prolonged negative energetic balance (NEB) would cause decrease in LH pulsatility, has a rapid detrimental effect on dominant follicle growth and its ovulatory ability. The most productive cows actually show the worst reproductive efficiency indexes suggesting the existence of genetic antagonism between milk yield and fertility. Otherwise, the wide range epidemiological studies identify not only high milk yield but also generic environmental factors (i.e. season and breeding technologies) as outstanding infertility causes, and set diseases as "risk factors" for fertility. We can hence refer to stress as to a general meaning term (metabolic and environmental stress) which limits the full expression of productive potential. The magnitude of these effects appears strictly dependant on several contextual factors such as: animal species, nature, intensity and duration of the stimulus and eventual previous exposure to it, sex, reproductive cycle phase, season, endocrine and metabolic milieau. The negative effects of stress on reproduction are mediated by the activation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis (HPA), which, in turn, involves pathways of very complex central neurotransmission, which could alter hypothalamo-pituitary-gonadal (HPG) axis activity. From researches carried out on ruminants, stressors result to exert a negative influence on reproductive function by interfering on the mechanisms regulating the finely determined sequence of events which characterise the follicular phase. Stimuli such as transport, hypoglycaemia, isolation and restraint reduce LH basal level, pulse frequency and amplitude both in the female and in the male, and the pulse modulating effects are clearly dependent upon levels of sexual steroids. ACTH administration reduces GnRH-induced LH release as well. Stressful stimuli delay and reduce the magnitude of the ovulatory LH surge. In addition, animals treated with ACTH or subjected to stressors during the follicular phase show a small blood progesterone increase, which as been thought to be responsible for the LH delay or suppression of LH surge generation and for persistency of ovarian follicles. In order to achieve high reproductive efficiency in the postpartum period of dairy cow it is becoming increasingly clear that the reproductive management have to prevent not only metabolic and gynaecological disorders but also have to minimise stress whenever possible. We reached endocrine evidence about the interference of stressors with fine timings of reproductive hormone release. This deprives ovarian follicle of adequate gonadotrophin support leading to aberration of follicular development and exhitating in a number of subfertile conditions such as anestrous, idiopathic subfertility, follicular persistency or ovarian cysts.

Keywords

stress, fertility, hormones, dairy cow

INTRODUZIONE

Fertilità e produzione di latte

È convinzione molto diffusa che alla base di una ridotta fertilità della bovina da latte postpartum vi sia una condizione di stress e che tale condizione sia in qualche modo collegata

alla elevata produzione di latte. In effetti, al crescere della produzione di latte, sostenuta da un management intensivo e spinto, si registra un calo della fertilità. Un confronto significativo al riguardo è riportato in Tab. 1, che riferisce la variazione negativa di prestazioni riproduttive in bovine da latte caratterizzate da produzioni e management notevolmente differenziatisi nel tempo. Anche se questi dati non sono omogenei e standardizzati si possono comunque utilizzare per un confronto relativo.

Il compito per ora arduo è collegare i due aspetti funzionali citati con i relativi meccanismi coinvolti.

Tentando di riordinare le considerazioni più attuali in merito alle cause di ipofertilità della bovina da latte si possono citare alcuni degli approdi dottrinali più significativi al riguardo.

Innanzitutto titolando questa mia relazione ho preso a riferimento l'opinione espressa da Dickey et al. (2000), citata anche da Bertoni et al. (2001), secondo la quale l'infertilità (umana nel caso riferito) non è una malattia, ma semplicemente un sintomo e che come tale non può esser curato e guarito se non si individua la vera causa. E' certamente vero che alla base dell'infertilità ci sono ben precisi disordini riproduttivi rientranti nell'interesse del ginecologo, ma è anche altrettanto vero che disordini metabolici e malattie infettive come le mastiti sono condizioni negative presenti diffusamente.

In particolare, il cosiddetto periodo di transizione, ovvero il periodo che va da circa 3 settimane prima a 3 dopo il parto, è via via apparso come il momento più critico per il successo riproduttivo (un interessante momento di studio sul periodo di transizione è agilmente rintracciabile nel precedente workshop SISVET 2001).

Gli studi epidemiologici più approfonditi sul progressivo declino della fertilità negli allevamenti da latte sono stati condotti in Paesi come gli USA, Irlanda, Regno Unito ed Australia, tra loro peraltro molto diversi per conduzione ed alimentazione degli animali (basti pensare al ruolo del pascolo o all'impiego diffuso di tecnologie come quella del GH ricombinante per lo stimolo della produzione del latte) (Lucy, 2001), ma possiamo senz'altro affermare che la scarsa efficienza riproduttiva è il prezzo pagato in tutto il mondo alla produzione industrializzata del latte. Per avere un riferimento più omogeneo con la situazione della nostra produzione zootecnica ho scelto riferimenti del contesto dell'UE che illustrano sinteticamente il peggioramento degli indici riproduttivi in riferimento a condizioni ritenute stressanti per le bovine (vedi Tabb. 2 e 3).

E' opinione ormai radicata che un'elevata fertilità della bovina da latte può accompagnarsi solo con una drastica o, meglio, totale riduzione di ogni tipo di malattia nel suddetto periodo di transizione (Butler, 1998; Roche et al., 2000; Lucy, 2001).

Un altro dato emerso con attendibilità e consistenza è che le bovine con maggior produttività sono le più esposte e meno tolleranti a regimi di conduzione non opportuni (leggasi in particolare errori dietetici e conseguenti disordini metabolici che hanno portato a formulare il concetto di «stress metabolico») (Knight, 1998; Oldham et al., 1999; Stefanon et al., 2002).

Alcuni Autori si sono spinti a compilare un elenco di effetti negativi conseguenti ad uno stato di prolungato bilancio energetico negativo (BEN) (vedi Roche et al., 2000 e Lucy 2001). Il prolungato BEN provocherebbe: diminuzione della pulsatilità dell'LH; diminuzione del diametro del follicolo dominante e scarsa produzione di estradiolo; diminuzione della quantità e della disponibilità ovarica del IGF; ipersecrezione di GH e sbilancio dei rapporti GH/IGF; diminuzione della glicemia e dell'insulinemia; elevazione dei livelli ematici dei NEFA, del beta-idrossibutirrato e del triacilglicerolo. Altri Autori riferiscono però che il deficit energetico ha un peso decisamente limitato sull'allungamento dell'intervallo parto - prima ovulazione (deVries e Veerkamp, 2000).

Per lungo tempo siamo stati convinti che ci fosse un nesso inscindibile tra infertilità ed elevate produzioni di latte (Butler e Smith, 1989; Bono, 1997).

La domanda che ci si pone ora con convinzione è: esiste, ed in quale grado, un «antagoni-

smo genetico» tra produzione di latte e fertilità, come suggerito da Hansen (2000)?

Ora siamo edotti del fatto che la maggior causa di variabilità del carattere infertilità (97%) non è di tipo genetico e che il concepimento è maggiormente legato alla stagionalità ed alle malattie postparto (Hansen, 2000; Lucy 2001) e che ci sono altri fattori di conduzione di pertinenza più etologica, maggiormente collegati all'alimentazione, come l'appetibilità degli alimenti, la frequenza e le modalità di assunzione alimentare ed il comfort ambientale (Grant e Albright,1995; Albrigth e Arav, 1997).

Fertilità e stress ambientale nell'allevamento da latte

Chiarito che la genetica non è l'imputato numero uno, e che comunque a questa si aggiungono fattori legati alla conduzione degli allevamenti (molto modificata negli ultimi decenni anche nel nostro Paese), mi rivolgo ora ad esaminare un altro degli aspetti «di moda» dello studio attuale: lo stress in senso lato.

Esiste, ed in quale grado, un effetto negativo dello stress sulla fertilità delle bovine da latte?

Sinteticamente si può rispondere che sin dall'inizio del secolo scorso (Selye, 1939) si ipotizzava un effetto negativo dello stress sulla funzione riproduttiva. Le sperimentazioni condotte su animali da laboratorio, soprattutto dagli anni '70, ci hanno innanzitutto dimostrato la complessità dei meccanismi coinvolti e gli effetti opposti (rispettivamente negativo o positivo sulla liberazione dell'LH) a seconda del carattere di cronicità o di acutezza dello stressor. Anche il quadro endocrino al momento dell'applicazione dello stress, ovvero le concentrazioni ematiche degli steroidi gonadali, sono apparsi fondamentali per il tipo di risposta. Inoltre, l'azione a livello ipotalamico è apparsa mediata da vie opiodergiche e catecolaminergiche.

Attualmente nessuno dubita degli effetti negativi dello stress sulla efficienza riproduttiva degli animali di interesse zootecnico. Nel tempo questi si sono potuti chiaramente riferire ad alterazioni delle secrezioni endocrine, soprattutto dell'LH, rispettivamente per stressors fisici, come il caldo, l' immobilizzazione, il trasporto, o per stress da malattia, come le laminiti o le condizioni morbose peripartali o le esposizioni a tossine batteriche. Ma vi sono stati anche casi nei quali lo stressor non ha avuto effetti sulla secrezione di LH. Dall'insieme delle ricerche condotte sulle specie domestiche possiamo dire che è emerso chiaramente il fatto che per una valutazione attendibile degli effetti è richiesta la conoscenza della natura e delle modalità di applicazione dello stimolo, della sua pregressa applicazione, del quadro degli steroidi ovarici, delle condizioni nutrizionali, e che i livelli di azione dello stressor coinvolgono sia l'ipofisi che l'ipotalamo (Phogat et al.,1997a; Dobson e Smith, 2000; Dobson et al., 2001).

In conclusione, le bovine con maggior produzione presentano anche gli indici più negativi di efficienza riproduttiva, ma gli studi epidemiologici condotti su vasta scala fanno emergere come cause di infertilità non solo l'elevata produzione di latte, ma anche i fattori ambientali in senso lato (stagione e tecnologie di allevamento) e inquadrano le malattie quali «fattori di rischio» per la fertilità.

E' fuor di dubbio che la stessa fisiologia delle bovine da latte è notevolmente cambiata per sostenere uno degli adattamenti più drastici conosciuti, come è quello del periodo di transizione. In questa «fisiologia moderna» della bovina da latte i punti focali sui quali si deve concentrare la ricerca sono rappresentati dai seguenti aspetti: 1) i meccanismi di controllo del ciclo estrale (quando fu scoperta l'azione luteolitica della PGF2α, circa 30 anni fa, non avevamo ancora idea dell'esistenza delle onde follicolari); 2) gli effetti metabolici della lattazione sulla riproduzione (scoperta del ruolo del GH/IGF e delle biotecnologie collegate); 3) i legami tra malattia e riproduzione (nesso tra sistema neuroendocrino, immunità e riproduzione); 4) la sopravvivenza dell'embrione ed i relativi meccanismi di riconoscimento materno della gravidanza (dalla pratica dell'I.A. siamo approdati all'uso di biotecnologie di vera e propria «riproduzione artificiale»).

FISIOLOGIA DELLO STRESS E MECCANISMI DI AZIONE SULLA RIPRODUZIONE

Come è già stato puntualizzato, gli effetti negativi dello stress sulla riproduzione sono certamente mediati attraverso l'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-corticosurrenalico (HPA), che a sua volta coinvolgerebbe vie di neurotrasmissione centrale molto complessa, che porterebbe ad alterare l'attività dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadale (HPG). Non bisogna dimenticare che l'entità di tali effetti è apparsa strettamente dipendente da diversi fattori contestuali come: specie animale considerata, natura, intensità, durata dello stimolo ed eventuale esposizione pregressa, sesso e fase del ciclo riproduttivo, stagione, quadro endocrino e metabolico.

Gli effetti dello stress osservati sul campo sono in genere relativi a stressors di tipo cronico. Dal punto di vista sperimentale è però molto più facile studiare le modalità acute; ciò per la loro facile definizione e controllabilità. Sempre per ragioni pratiche, molti dati riferibili alla bovina da latte sono stati estrapolati da altre specie ruminanti come la pecora.

L'attivazione dell'asse HPA causa ipofertilità riducendo fondamentalmente la secrezione di LH dall'ipofisi (Phogat et al., 1997a e b; Dobson e Smith, 1995; Dobson e Smith, 2000; Dobson et al., 2001).

Per comprendere appieno i meccanismi coinvolti è necessario fare un sintetico riferimento all'organizzazione ed all'evoluzione della regolazione della secrezione di GnRH ed LH.

Come è ampiamente noto, la secrezione ipotalamica di GnRH, che nel maschio è esclusivamente pulsatile, nella femmina presenta anche delle variazioni «a picco», precedute da una pusatilità di liberazione ridotta in ampiezza, ma elevata in frequenza, e che sono scatenate da segnali neuronici stimolatori per le specie ad ovulazione provocata e da una cascata di segnali endocrini in quelle ad ovulazione spontanea. Questi eventi hanno il compito di temporizzare accuratamente l'ovulazione, provocata dalla liberazione ipofisaria «a picco» dell'LH, in modo da consentire la fertilizzazione e lo sviluppo successivo del conceptus. Gli steroidi endogeni, la disponibilità di energia, gli stressors e le variazioni fotoperiodiche influenzano questi eventi. Le liberazioni di GnRH e di LH sono sincronizzate e nella fase preovulatoria il picco di LH si esaurisce prima di quello del GnRH, molto probabilmente perché si esaurisce il pool liberabile dell'LH o perché l'ipofisi si desensibilizza. Quindi, alla base della pulsatilità di liberazione dell'LH esiste un meccanismo modulatore neuroumorale ipotalamico. Tutto ciò, ipotizzato da tempo per i risultati ottenuti in specie di laboratorio, è stato provato nelle specie domestiche negli anni '90.

Nelle specie ad ovulazione spontanea lo stimolo per la liberazione a picco del GnRH è rappresentato dall'estradiolo che viene prodotto parallelamente e progressivamente con lo sviluppo del follicolo dominante ovulatorio (feedback positivo). I neuroni che secernono GnRH non hanno però dimostrato di possedere recettori per l'estradiolo e quindi devono esservi interposti sistemi interneuronici regolatori. Le catene neuroniche possono essere sinteticamente schematizzate come segue: 1) soma e terminazioni di neuroni GnRH-secernenti; 2) neuroni «lettori di segnale» sensibili agli estrogeni, a monte di questi; 3) interneuroni di connessione tra 1 e 2. Tutto ciò porta come conseguenza l'esistenza di diversi siti di azione lungo la catena neuronica, con i quali interagiscono i possibili segnali interferenti. Dai dati sperimentali è già emerso che: il progesterone blocca il processo di attivazione del picco molto precocemente, nel periodo di trasmissione dai neuroni Es-sensibili ai neuroni GnRH-secernenti; gli stimoli infiammatori o di natura immunologica e le endotossine focalizzano la loro azione al periodo di «lettura/attivazione»; gli stimoli stressanti più blandi, come il trasporto, portano al blocco molto tardivamente nel processo di attivazione del picco (Evans , 2001) (vedi fig. 1).

La pulsatilità dell'LH è inoltre controllata dal progesterone, come ci dimostra chiaramente

il fatto che la frequenza pulsatile è massima nella fase follicolare e minima in quella luteinica. Il livello di azione del progesterone (feedback negativo) è ipotalamico, più che ipofisario. Ce lo dimostra il fatto che una somministrazione con frequenza elevata di GnRH, che mimi le condizioni fisiologiche, può indurre liberazione di LH superando il blocco del progesterone.

La capacità di liberazione di LH da parte dell'ipofisi in risposta al GnRH è aumentata da una pregressa esposizione al GnRH, si tratta di un processo di auto-innesco, il cosiddetto self-priming. Negli ungulati tale fenomeno si manifesta solo quando l'intervallo è inferiore alle tre ore e non pare influenzato dai livelli degli estrogeni o dalla fase del ciclo. L'azione degli estrogeni è sia di stimolo per la sintesi di LH che di aumento del numero di recettori per il GnRH.

Metodologie di studio delle azioni stressanti sulla riproduzione

Come studiare gli effetti dello stress sulla riproduzione? E' indubbiamente un'impresa ardua.

L'ambiente di allevamento può sottoporre l'animale ad un numero elevato di stimoli ambientali con funzione potenzialmente stressante. Dobbiamo tener conto della variabilità della risposta individuale anche allo stesso tipo di stimolo e considerare che è insito nella capacità/strategie di adattamento dell'animale il carattere di modulabilità delle risposte. Non rimane quindi altra strada che cercare di isolare delle risposte a ben definiti stimoli correlandole alla riproduzione. Ancora una volta possiamo capire la difficoltà che si incontrano cercando di studiare gli effetti cronici dello stress.

L'utilizzo delle specie ruminanti (meglio la pecora per motivi essenzialmente pratici) una volta tanto, ci viene in aiuto, in quanto la loro endocrinologia riproduttiva è ben nota e, diversamente dai roditori, non si manifestano interferenze tra meccanismi di controllo riproduttivo ed attività circadiana surrenalica che li sostiene.

Modalità di risposta del sistema HPA a stimoli stressanti ben definiti

Senza dubbio un approccio di studio valido è quello di utilizzare come modello due tipologie di stimoli: cognitivi e non cognitivi o/e psicologici e fisici. Una prima fase è quella di indagare le caratteristiche della risposta dell'asse HPA ad uno stimolo ben definito. Alcuni Autori (Dobson et al. 2000) hanno sottoposto delle pecore ad uno stress cognitivo (psicologico e fisico), quale il trasporto per 2 ore, e ad uno stress non cognitivo, quale l'ipoglicemia, indotta dalla somministrazione i.v. di insulina. In entrambe le condizioni sono state rilevate le variazioni degli ormoni ipotalamici CRH (Corticotrophin Releasing Hormone) ed AVP (Arginine Vasopressin) (circolo portale), dell'ACTH e del cortisolo (C) (circolo sistemico) che sono apparse concatenate in sequenza. Tutte le concentrazioni ormonali si elevano con evidenza già nella prima mezz'ora.

Nel caso del trasporto, CRH ed AVP presentano il picco di elevazione a 30 min, mantenendosi elevati per tutta la durata del trasporto. L'ACTH segue parallelamente l'aumento dei peptidi ipotalamici raggiungendo il picco sempre a 30 min, ma decrementando più rapidamente. Il C raggiunge il picco a circa 1,5 ore, decrementa lentamente mantenendo concentrazioni superiori all'inizio sino a 2 ore dopo la fine del trasporto. Nel caso dell'ipoglicemia è da precisare che questa si instaura efficacemente (valori < 3 mmol/L o 54,3 mg/dL) dopo circa 30 min dall'iniezione di insulina, giungendo dopo un'ora e mantenendosi per circa 3 ore a valori inferiori a 2 mmol/L. CRH ed AVP presentano il picco di elevazione a circa 1,5 ore dal decremento glicemico ai predetti valori, mantenendosi elevati per circa 3 ore. L'ACTH segue parallelamente l'aumento dei peptidi ipotalamici. Il C raggiunge il picco a circa 2 ore, mantenendo concentrazioni superiori all'inizio sino alla fine. Nel caso del tra-

sporto le variazioni dell'ACTH e del C si esauriscono più rapidamente, l'ACTH incrementa a valori 5 volte più elevati che con l'ipoglicemia ed entrambi gli ormoni iniziano a decrementare prima della fine dello stimolo, mentre sono ancora elevati i livelli dei peptidi ipotalamici. Ciò sembrerebbe deporre per una azione di feedback negativo esercitata più a livello ipofisario che ipotalamico. Nel caso dell'ipoglicemia si sono rilevate elevazioni più pronunciate (x 3) per CRH/AVP, che si mantengono a lungo, ma non sino alla ripresa dei valori glicemici. Le elevazioni dell'ACTH e soprattutto del C sono molto prolungate. Incrementando i tempi di trasporto o di durata dell'ipoglicemia l'elevazione del C non si prolunga con la stessa intensità.

Successivamente si sono valutati gli effetti di un trasporto con intervallo almeno settimanale o giornaliero. Nel primo caso non si manifesta adattamento di risposta per C, nel secondo si hanno invece notevoli variazioni individuali, alcuni soggetti riducono le risposte. Quindi, entrando nell'ambito di una stimolazione con carattere cronico potrebbero emergere adattamenti individuali che possono esser collegati a fattori di tipo genetico od alle cosiddette esperienze precoci neonatali o addirittura prenatali (Lay et al., 1997; Liu et al., 1997).

In conclusione, le sequenze di attivazione dei diversi elementi del sistema HPA non cambiano al cambiare del tipo di stimoli, come ci si aspettava, ma si modificano i patterns della risposta, dimostrando che esiste una variabilità per ciascun livello del sistema che è stimolo-dipendente.

Effetti e meccanismi dello stimolo stressante sulla sfera riproduttiva della bovina

Dal complesso delle ricerche condotte sulle specie ruminanti emerge che gli stressors agiscono negativamente con la funzione riproduttiva interferendo sui meccanismi regolanti la precisa successione di eventi che caratterizzano la fase follicolare. Come si è in parte già accennato, nella femmina con ovulazione spontanea si giunge a temporizzare accuratamente l'ovulazione attraverso una cascata di eventi che vedono venir meno, per effetto della luteolisi, il blocco ipotalamico esercitato dal progesterone e quindi il modificarsi del pattern di secrezione del GnRH e le pulses di LH che, concomitantemente all'azione dell'FSH determinano la crescita follicolare, quindi la secrezione di estradiolo e la conseguente liberazione a picco preovulatoria di LH.

Effetti degli stimoli stressanti sulla pulsatilità e sul picco di secrezione dell'LH

Stimoli come il trasporto, l'isolamento e la contenzione, l'ipoglicemia, l'ipertermia, riducono i livelli, la frequenza e l'ampiezza delle pulses dell'LH sia nel maschio che nella femmina e gli effetti di modulazione della pulsatilità sono chiaramente dipendenti dai livelli degli steroidi sessuali (Dobson et al., 1999a e b; Tilbrook et al., 1999). Nel meccanismo di risposta sono coinvolti circuiti neuronici ipotalamici e di strutture nervose superiori. Anche la somministrazione di ACTH riduce il rilascio GnRH-indotto di LH (Tilbrook et al.,1999). Gli stimoli stressanti (per es. il trasporto e l'ipoglicemia) riducono l'ampiezza del picco ovulatorio ritardandone anche la comparsa (Phogat et al., 1997a; 1999a e b). Ciò per riduzione dei recettori del GnRH e riduzione della secrezione di estradiolo. In pecore sincronizzate con progesterone il picco si ritarda di 14 ore. Indagando poi il coinvolgimento di neurotrasmettitori regolatori si è dimostrata l'implicazione delle vie opiodergiche, in quanto la somministrazione dell'antagonista naloxone abolisce l'effetto ritardo. Non risultano invece coinvolti i recettori sia del progesterone che dei corticoidi, in quanto l'antagonista RU486 non abolisce detto ritardo (Dobson e Smith, 2000).

Effetti della somministrazione di ormoni dell'asse HPA sulla secrezione di gonadotropine

CRH e AVP. Ci sono dati che depongono per un'azione centrale del CRH che deprime la secrezione di GnRH, abbassa i livelli di LH e riduce la recettività sessuale nei ratti (Petraglia et al., 1987). Nei meccanismi di azione sono però emerse notevoli differenze di specie. La somministrazione i.v. di CRH non è comunque apparsa efficace. Nelle specie ruminanti la somministrazione sia intracerebrale che sistemica non ha dimostrato effetti sui livelli di LH in quasi tutti i lavori. Recentemente però Caraty et al. (1997) hanno trovato che la somministrazione intracerebrale di CRH stimola la pulsatilità dell'LH nella pecora e che i livelli degli steroidi gonadali sono determinanti. Questi risultati certamente hanno generato sorpresa negli stessi Autori, poiché è ampiamente provato che il CRH è un neurotrasmettitore della risposta allo stress nella pecora. La spiegazione plausibile è che la somministrazione centrale di CRH attivi i canali di risposta acuta, che normalmente stimolano la secrezione di LH (sono da ricordare al riguardo le esperienze di induzione dell'ovulazione nelle pecore in anestro e della pubertà nelle scrofe) mentre quelli di risposta cronica la deprimono. In altre parole, troverebbe in questo caso riscontro il fatto che in molte specie lo stress ha effetti sia positivi che negativi sull'asse gonadotropo in dipendenza dai caratteri di novità, durata ed intensità dello stimolo. Inoltre, molti stressors cronici possono diventare acuti attraverso l'abituazione o un effetto di «rebound». E' anche da tener presente che possono esserci effetti centrali del CRH sui centri di secrezione del GnRH distinti da quelli indotti dallo stress e che incrementano la secrezione di GnRH e CRH nel circolo portale ipofisario.

Per l'AVP, anche se è nota la sua azione stimolatrice della secrezione di ACTH e beta-endorfine nella pecora, non ci sono prove di un suo coinvolgimento nella regolazione della riproduzione anche se potrebbe esservi coinvolto per un effetto delle beta-endorfine sulla secrezione di GnRH (Petraglia et al., 1986).

ACTH. È nota l'azione soppressiva dell'ACTH sulle funzioni riproduttive delle specie d'allevamento. L'azione diretta sull'ipofisi è stata da alcuni Autori provata e da altri esclusa. In ogni caso sia il peptide sintetico (ACTH $^{1-24}$) che quello nativo (ACTH$^{1-39}$) bloccano la liberazione a picco dell'LH e l'ovulazione sia nella vacca che nella scrofa. Non tutti gli Autori hanno riferito effetti depressori dell'ACTH sui livelli basali dell'LH nelle bovine, forse per diversità nelle procedure sperimentali e nel tipo di frammenti peptidici preparati (vedi disamina di Phogat et al., 1997a), ma come vedremo più oltre le prove sperimentali delle interferenze con l'attività ovarica, conseguenti a variazioni della liberazione pulsatoria dell'LH, si sono recentemente accumulate.

Glucocorticoidi. Anche nel caso dei glucocorticoidi si sono ben dimostrati nel tempo gli effetti negativi sull'attività riproduttiva dei ratti, mediati da soppressione della secrezione dell'LH con azioni dirette sull'ipofisi. Nella specie umana livelli di cortisolo sovrapponibili a quelli riscontrabili in presenza di stress moderato o non eccessivo non hanno modificato invece la frequenza pulsatile dell'LH. Nelle specie ruminanti la maggior parte dei lavori indica che il cortisolo riduce la sensibilità dell'ipofisi al GnRH e che è anche possibile un'azione diretta a livello ipotalamico (vedi disamina di Phogat et al., 1997a).

Effetti della somministrazione prolungata di ACTH sulla secrezione di LH e sulla dinamica follicolare

Come si è visto la somministrazione di ACTH può essere un ottimo modello di studio degli effetti dello stress, in quanto mima le concentrazioni ematiche ottenute fisiologicamente con la presentazione degli stressors (es. trasporto ed ipoglicemia). Il trattamento con ACTH nelle manze, con iniezioni s.c. ripetute con cadenza di 12 ore per 7 giorni, pone gli animali in condizione di stimolazione cronica e gli effetti della stimolazione corticosurrenalica si prolungano

anche dopo la sospensione, come ci dimostrano i livelli ematici dei corticoidi e del progesterone che si mantengono elevati per alcuni giorni. In queste condizioni, si sono potute dimostrare delle evidenti aberrazioni della dinamica follicolare, in particolare un prolungamento della dominanza di 10 giorni ed una persistenza follicolare di ben 20 giorni. In questa circostanza la secrezione di estrogeni non è stata altrettanto persistente, cessando dopo circa 12 giorni, ed ha consentito quindi l'emergere di una nuova onda follicolare. Non è purtroppo ancora chiaro perché, in ogni caso, nei follicoli persistenti (cosiddette cisti) la steroidogenesi sia improvvisamente alterata; essi cessano la secrezione di androstenedione e quindi di estradiolo. Nelle bovine trattate con ACTH la secrezione delle gonadotropine risulta alterata nei ritmi per l'LH, come riferito precedentemente, ma non per l'FSH, rispetto ai controlli (Dobson et al., 2000). Quindi la capacità dell'FSH di stimolare l'emergenza dell'onda follicolare non è influenzata dal trattamento con ACTH, né dalle concentrazioni elevate dei corticoidi. Il profilo del progesterone intorno all'estro è anomalo, la caduta sotto livelli di 1ng/ml non si ha più a 19-20 d, ma a 24-25 d, ciò potrebbe esser dovuto non solo alla secrezione surrenalica, ma anche ad una alterazione dei meccanismi luteolitici (vedi Fig. 2). Dagli studi già riferiti sui recettori per i corticoidi ed il progesterone (uso del RU486) possiamo però concludere che il meccanismo di inibizione della liberazione a picco dell'LH non è sempre dovuto all'effetto del progesterone elevato, ma anche alla sovraesposizione a livelli pur bassi degli estrogeni.

Effetti del trattamento con basse dosi di progesterone sulla dinamica follicolare

Animali trattati durante la fase follicolare con ACTH o sottoposti a stimoli stressanti mostrano modeste elevazioni del progesterone ematico che sono state indicate come responsabili del ritardo o dell'eliminazione del picco di LH e della formazione di follicoli ovarici persistenti (Noble et al., 2000). Tali variazioni del progesterone sono state riferite, da Watson e Munro (1984), ad una secrezione corticosurrenalica. Uno studio successivo ha avuto come obiettivo quello di esporre dei follicoli dominanti della fase finale del ciclo estrale della bovina, a delle modeste concentrazioni di progesterone equivalenti a quelle stress-indotte (0,5 - 1 ng/ml) tramite inserto intravaginale prolungato per 40 d (Noble et al. 2000). Le caratteristiche di questi follicoli resi persistenti per effetto di basse concentrazioni di progesterone, sono risultate analoghe a quelle di strutture ad insorgenza spontanea, per le quali è riferito che la secrezione di estrogeni si mantiene per circa 20 d mentre la loro apparenza ecografica si protrae per 40-65 d (Savio et al., 1990). Anche nel caso sperimentale citato la secrezione di estrogeni persisteva per 18 d mentre l'apparenza ecografica si protraeva per almeno 50 d. Follicoli persistenti con analoghe caratteristiche sono anche stati prodotti da trattamenti con dosi elevate di progesterone ed estrogeni. In conclusione, dall'analisi dei risultati ottenuti, l'induzione della persistenza prolungata appare legata ad un blocco del picco ovulatorio dell'LH per tre diverse condizioni: livelli di progesterone bassi, ma sufficientemente elevati per poter esercitare un blocco; effetti ACTH-indotti che limitano la produzione di estradiolo necessaria per il picco; elevazioni troppo prolungate degli estrogeni. Non abbiamo però idea di quanto queste eziologie compartecipino alla produzione della persistenza prolungata spontanea dei follicoli. Inoltre, per l'evoluzione follicolare sembrano avere grande importanza le variazioni ematiche del progesterone; infatti, i follicoli persistenti che vengano esposti ad incrementi di concentrazione di progesterone di circa 1 ng/ml interrompono la loro secrezione di estradiolo, probabilmente a causa di piccole variazioni di frequenza di pulsatilità dell'LH. Si è osservato che con livelli di progesterone soprabasale (1 - 2 ng/ml) la pulsatilità dell'LH è alta e ciò porta all'avvio dello sviluppo di un follicolo persistente (Stock e Fortune, 1993). Se successivamente le concentrazioni di progesterone aumentano, si abbassa la pulsatilità dell'LH ed il follicolo va in atresia (Fortune, 1994). Tuttavia, nella sperimentazione di Noble et al. (2000) i follicoli persistenti paiono avere un limite massimo di circa 20 giorni di persistenza anche in mancan-

za di incrementi del progesterone. In altre parole, anche dopo aver scoperto il ruolo fondamentale di regolazione esercitato dal progesterone sulla evoluzione follicolare non abbiamo ancora idea del perché i follicoli vadano in atresia. Non solo, ma non sappiamo nemmeno perché in alcune vacche i follicoli persistenti possono ovulare ed in altre no. In effetti in questi animali sono stati riscontrati all'emergenza gli stessi livelli sistemici sia di FSH che di progesterone e di estradiolo ed al tempo di ovulazione gli stessi livelli di estradiolo. La perdita della dominanza è associata all'interruzione della secrezione di estradiolo e, se aumentano i livelli di FSH, possiamo assistere all'emergenza di una nuova onda follicolare 5-7 giorni dopo. Un dato molto interessante è che non vi sono differenze nelle fasi e nella velocità di sviluppo tra follicoli persistenti e no, indipendentemente dall'esito ovulatorio (vedi Tab. 4). Dal punto di vista morfologico la persistenza equivale ad un prolungamento della fase statica, nel quale viene raggiunto lentamente un diametro maggiore di quello normale.

Disamina delle sintomatologie cliniche dell'ipofertilità e delle possibili cause eziologiche stress-dipendenti

Dal complesso delle conoscenze fisiologiche sino ad ora richiamate possiamo passare brevemente in rassegna alcune delle condizioni di ridotta fertilità nelle quali è spinta la bovina da latte mettendole in relazione con le diverse cause stressanti. Il riferimento va inteso in senso lato, come già si è detto, e comprende gli stressors ambientali (fisici e psicologici, etologici e di management), nutrizionali e metabolici e le condizioni apertamente morbose. A proposito di cause eziologiche dell'ipofertilità della bovina, una rassegna molto ampia che classifica le condizioni anovulatorie è stata recentemente redatta dai colleghi del Wisconsin (USA) (Wilbank et al.,2002). Il primo tentativo di schematizzazione riguarda una classificazione dello stress in termini di cadenza temporale e di intensità, da cronico-severo a moderato-meno severo, tentando di individuare l'eziologia, l'evoluzione e l'esito clinico della ridotta fertilità (vedi Tab. 5). In caso di anestro lo stress è di tipo severo, si presenta attività di secrezione pulsatile di GnRH ed LH lenta ed inizia lo sviluppo follicolare, ma con inabilità a continuare; la bovina non cicla. In caso di ipofertilità cosiddetta idiopatica lo stress è meno severo, con pulsatilità del GnRH ed LH sufficientemente veloce, ma suscettibile di interruzione per stimoli in altri casi innocui. L'estro e la fertilità sono normali, ma il conceptus non si sviluppa e quindi la bovina non porta a termine la gravidanza. Anche nel caso della sindrome della cisti ovarica lo stress è moderato, con pulsatilità del GnRH ed LH sufficiente a raggiungere lo stadio del follicolo «large», ma insufficiente per sensibilizzare l'ipofisi e l'ovaio; il picco di LH risulta inadeguato e la produzione di estradiolo insufficiente. Si osserva persistenza follicolare, incapacità ovulatoria ed anche mancata luteinizzazione. Alla prima condizione di ipofertilità paiono maggiormente soggette le primipare, alla seconda indifferentemente le primipare e le multipare, all'ultima condizione (cisti) sembrerebbe correlata più la tipologia di allevamento che il tipo di animale (Cairoli e coll., comunicazione personale).

In caso di **anestro anovulatorio** possiamo poi fare riferimento ad un fattore di rischio molto importante per l'incidenza di malattie metaboliche quale è l'accentuarsi del bilancio energetico negativo (BEN) del periodo peripartale o di transizione. Tale condizione diminuisce la frequenza di pulsatilità dell'LH, la velocità ed il diametro di accrescimento del follicolo dominante (FD) con grande rapidità. In una esperienza acuta di riduzione del livello nutritivo di mantenimento da 1,2 a 0,4 si è riscontrato in media nelle manze: diminuzione della velocità di accrescimento del FD (1,28 vs. 0,96 mm/d); del diametro massimo (13,8 vs. 10,6); del numero di manze non ovulanti (0/21 vs. 10/18); ma nessuna differenza sul numero di follicoli emergenti (10,4 vs. 10,1) (Mackey et al., 1999 rif. da Roche et al., 2000). Anche nel caso del basso BEN si può tentare di schematizzare l'eziologia e l'evoluzione dell'anestro anovulatorio (vedi Fig. 3).

Nel caso invece della rapida ripresa ciclica postparto una delle condizioni più diffuse di anormalità è data dall'**irregolarità del ciclo per un prolungamento della fase luteinica**. In questo caso l'eziologia più accreditata è la ritardata luteolisi. Nella cascata di eventi che temporizzano fisiologicamente questo evento è in gioco la produzione di recettori endometriali per l'oxitocina indotta dell'estradiolo , necessari per la produzione di PGF2α . Tutte le condizioni di infezione o patologia uterina clinicamente rilevata o meno possono essere coinvolte come fattori di rischio elevato (distocie, ritenzioni, infezioni uterine).

Tra gli effetti negativi dell'accentuato BEN dobbiamo anche considerare quello della **ridotta funzionalità del CL**. Da follicoli di diametro ridotto possono originare CL di diametro e funzionalità ridotti, con minor produzione di progesterone. Il prolungato BEN può infatti ridurre la capacità di steroidogenesi del CL, riducendo le concentrazioni di IGF-I. Nei ruminanti è stato infatti dimostrato che l'asse GH/IGF è importante per il controllo della steroidogenesi. Tutto ciò può esitare in una ritardata elevazione del progesterone che è causa di ridotta fertilità (ridotte percentuali di gravidanza) (Larson et al., 1997). In esperienze di Embryo Transfer si è potuto osservare che le bovine con ridotte concentrazioni di progesterone tra 4 e 8 giorni del ciclo hanno i livelli di interferone tau (segnale di riconoscimento materno di gravidanza) significativamente ridotti e si manifestano maggiori perdite embrionali.

RICONOSCIMENTI

Il presente lavoro è stato svolto nell'ambito del Progetto Finalizzato RAIZ (Ministero delle Politiche Agricole e Forestali) nell'ambito della Convenzione di ricerca con l'Istituto Sperimentale Lazzaro Spallanzani, Scheda di ricerca : «Stress cronico e funzionalità riproduttiva della bovina da latte: modello di valutazione», *Responsabile scientifico: prof. G. Bono.*

Tab. 1 - Parametri di bovine da latte nel contesto UE che illustrano sinteticamente il peggioramento degli indici riproduttivi per effetto di condizioni di allevamento ritenute stressanti

Da Fagan e Roche, Opsomer et al.citati da Roche et al., 2000

INDICI DI ATTIVITA' RIPRODUTTIVA	**PRODUZIONE MODERATA** ***Irlanda, 1986***	**PRODUZIONE ELEVATA** ***Olanda, 1998***
n. cicli esaminati	*463*	*448*
% Con profilo normale	78	53
% Con intervallo prolungato Parto-1^{a} ovulazione	7	21
% con profilo alterato dei quali: *% con fase luteinica prolungata (> 20 giorni)*	11 *3*	23 *20*

Tab. 2 - Influenze negative delle condizioni stressanti sugli indici di prestazione riproduttiva.

(modificata da Dobson and Smith, 2000)

INTERVALLO PARTO – CONCEPIMENTO (giorni):			
• Patologie metaboliche (es. Chetosi)	88	vs.	75 controlli
• Fisiche (podali)	100	vs.	86
• Discomfort (cambio di stato sociale)	143	vs.	97
I.A. / CONCEPIMENTO (n.):			
• Patologie metaboliche (es. Chetosi)	1.7	vs.	1.2 controlli
• Fisiche (podali)	2.1	vs.	1.7
• Discomfort (cambio di stato sociale)	2.2	vs.	1.6

Tab. 3 - Indicatori di fertilità correlati alle condizioni cliniche.

Dati di AAVV raccolti da Hilary Dobson

DISTOCIA :	
e' noto ritardo nell'involuzione uterina	
ritardo ripresa ciclo ovarico (*) :	32.2 vs 24.3 d dei controlli
intervallo parto-concepimento :	107 vs 84 d
cicli irregolari :	47 vs 18.5 %
P. CESAREO :	
N. IA / Gravidanza:	3.2 vs 1.6
intervallo parto-concepimento:	137 vs 97 d
intervallo interparto :	417 vs 378 d
LAMINITE :	
N. IA / Gravidanza:	2.3 vs 1.8
% di rimonta :	22 vs 7.0
CHETOSI :	
N. IA / Gravidanza:	1.61-1.82 vs 1.35
intervallo parto-concepimento:	85.1-89.4 vs 75.9 d
MASTITE :	
> 400.000 cell/ml in uno o più controlli mensili PP	
intervallo interparto :	377 ± 5 vs 370 ± 10 d
> 400.000 cell/ml in 5 controlli mensili consecutivi PP	
intervallo interparto :	389.5 vs 370 d
1ma elevazione del P4 PP :	in ritardo di 17 d

(*) calcolato tramite il dosaggio del progesterone (P4)
PP : postparto; d : giorni

Tab. 4 - Caratteristiche evolutive del follicolo dominante in manze di controllo e trattate con basse dosi di progesterone per inserto intravaginale (0.5 PRID) per indurre formazione di follicoli persistenti. * Differenze significative (P< 0.05)

(*da Noble et al., 2000, modificata*)

FASE FOLLICOLARE	**CONTROLLI**	**TRATTATE**
Accrescimento (giorni)	5	5-6
Velocità (mm / giorno)	1,6	1,4
Statica (giorni)	0,8	**11-12 ***
Dominante (giorni)	3	**12-15 ***
Diametro massimo (mm)	15	**17-20 ***
Apparenza ecografica (giorni)	6	**16-34 ***

Tab. 5 - Legame tra severità dello stress, eziologia neuroendocrina dell'ipofertilità e quadri clinici osservabili negli allevamenti del nord Italia (vedi testo).

TIPO DI STRESS	**GnRH & LH pulses**	**CONDIZIONE FUNZIONALE**	**ESITO CLINICO**	**PREDISPO-SIZIONE**
CRONICO SEVERO	lente	inizio sviluppo follicolare, ma inabilità a continuare non ciclano	ANESTRO	Primipare ++++ Multipare ++
MODERATO MENO SEVERO	Sufficientemente veloci, ma suscettibili di interruzione per stimoli innocui in altri casi	Estro e fertilità normali Mancato sviluppo del conceptus Niente gravidanza	IPOFERTILITA' IDIOPATICA	Primipare +++ Multipare +++
MODERATO MENO SEVERO	Sufficiente per raggiungere lo stadio di follicolo "large", ma insufficiente per sensibilizzare ipofisi od ovaio picco di LH inadeguato, E_2 insufficiente	Persistenza follicolare No ovulazione No luteinizzazione *Perché non vanno in atresia ?*	SINDROME DELLA CISTI OVARICA	Tipologia Allevamento +++ Tipologia Animale + / -

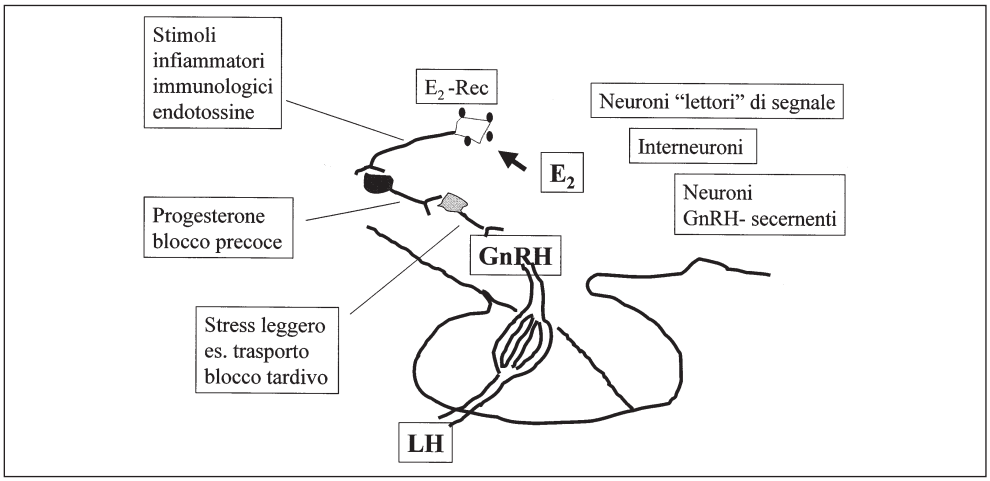

Fig. 1 - L'ovulazione è accuratamente temporizzata da una sequenza di segnali endocrini. Il GnRH gioca un ruolo deterministico e la sua secrezione è necessaria per indurre la liberazione a picco dell'LH e quindi l'ovulazione nei ruminanti. I neuroni che secernono il GnRH non possiedono recettori per gli estrogeni, che invece sono presenti su dei neuroni «lettori» di segnale. Il controllo del picco preovulatorio di GnRH ed LH avviene attraverso catene neuroniche che rappresentano punti distinti di regolazione sensibili ai diversi tipi di stressors. E2 : estradiolo; Rec : recettore.

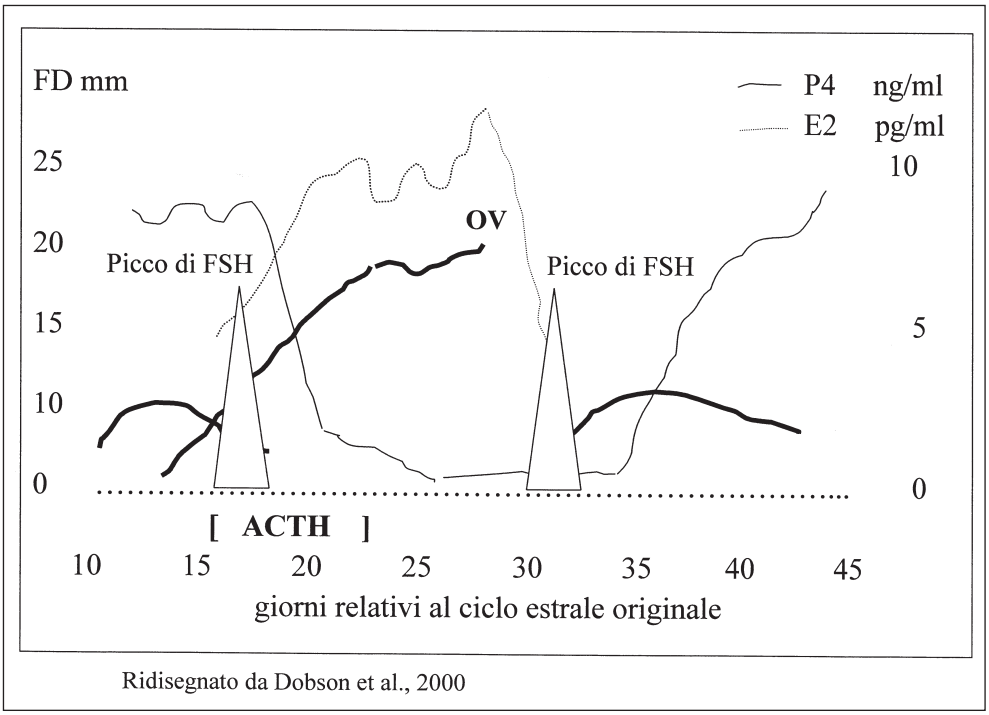

Fig. 2 - Variazioni della concentrazione ematica del progesterone (P4), dell'estradiolo (E2) e del diametro del follicolo dominante (FD) in una manza nella quale si è indotta persistenza follicolare prolungata per effetto di un trattamento con 100 u.i. di ACTH ogni 12 ore per 7 giorni durante la fase follicolare. Notare che la capacità dell'FSH di determinare l'emergenza follicolare non è soppressa, come dimostra la presenza del picco. La secrezione basale di LH è invece ridotta e la pulsatilità soppressa (il dato non è però presente in figura) e la dominanza prolungata coincide con il prolungarsi della secrezione di E2. Il profilo del P4 è anomalo intorno all'estro, con una caduta sotto livelli di 1 ng/ml a 24-25 giorni invece che a 19-20 giorni.

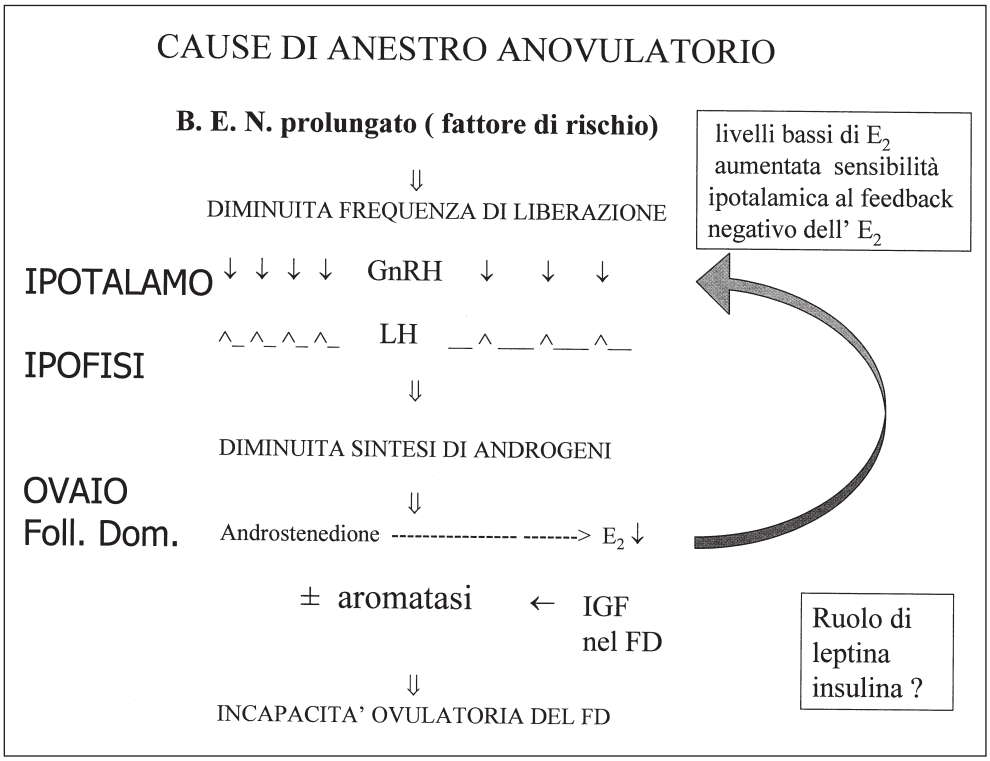

Fig. 3 - In caso di anestro anovulatorio un fattore di rischio molto importante è rappresentato dall'accentuarsi del bilancio energetico negativo (BEN) nel periodo di transizione. Tale condizione diminuisce la frequenza di pulsatilità dell'LH, la velocità ed il diametro di accrescimento del follicolo dominante (FD) con grande rapidità. Come conseguenza abbiamo una diminuita sintesi di androgeni da parte del follicolo che porta alla diminuita sintesi di estradiolo (E2) ritenuta causa di incapacità ovulatoria soprattutto per l'azione negativa a livello ipotalamico. L'ipotalamo diverrebbe più sensibile al feedback negativo dell' E2 , che presenta livelli più bassi. La conversione di androgeni ad estrogeni è controllata inoltre dall'enzima aromatasi, che a sua volta risente della diminuita concentrazione di IGF follicolare prodotta dallo stato metabolico negativo che deprime tale attività enzimatica. Altri segnali metabolici ritenuti importanti per la regolazione dell'asse ipotalamo-ipofisario sono l'insulina e la leptina, ma i relativi meccanismi d'azione non sono ancora stati chiariti.

BIBLIOGRAFIA

1) ALBRIGTH JL e ARAVE CW, 1997. *The behaviour of cattle*. Oxford, CAB International,

2) BERTONI G, TREVISI E e HAN XT, 2001. *Relationship between the liver activity in the puerperium and fertility in dairy cows*, 52nd Annual Meeting EAAP, Budapest, 26-29 August 2001. bertoni@pc.unicatt.it

3) BONO G., 1997. *Lactation and the resumption of reproductive activity during the postpartum period in high yielding dairy cows*. Agro-Ciencias 13, 19-29.

4) BUTLER WR, 1998. *Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle*. J. Dairy Sci., 81, 2533-2539.

5) BUTLER WR e SMITH RD, 1989. *Interrelatinships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle*, J. Dairy Sci., 72, 767-783.

6) CARATY A, MILLER DW, DELALEU B e MARTIN GB,1997. *Stimulation of LH secretion in sheep by central administration of CRH*, J. Reprod. Fertility, 111, 249-257.

7) DEVRIES MJ e VEERKAMP RF, 2000. *Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility*. J. Dairy Sci. 83, 62-69.

8) DICKEY RP, TAYLOR SN, RYE PH, LU PY e SARTOR BM, 2000. *Infertility is a symptom, not a disease (Comment)*, Fertility and Sterility, 74, 398.

9) DOBSON H e SMITH RF, 1995. *Stress and reproduction in farm animals*. J. Reprod. Fertility, 49, 451-461.

10) DOBSON H e SMITH RF, 2000. *What is stress, and how does it affect reproduction?* Animal Reprod. Sci., 60-61, 743-752.

11) DOBSON H, TEBBLE JE, PHOGAT PB e SMITH RF, 1999a. *Effect of transport on pulsatile and surge secretion of LH in ewes in the breeding season*, J. Reprod. Fertility, 116, 1-8.

12) DOBSON H, TEBBLE JE, OZTURK M e SMITH RF, 1999b. *Effect of transport on pulsatile LH release in ovariectomized ewes in different seasons of the year*, J. Reprod. Fertility, 117, 213-222.

13) DOBSON H, RIBADU AY, NOBLE KM, TEBBLE JE e WARD WR, 2000. *Ultrasonography and hormone profiles of ACTH-induced persistent ovarian follicles (cysts) in cattle*, J. Reprod. Fertility, 120, 405-410.

14) DOBSON H, TEBBLE JE, SMITH RF e WARD WR, 2001. *Is stress really all that important?*, Theriogenology, 55, 65-73.

15) EVANS NP, 2001. *How do gonadal steroids and other physiological factors regulate yhe GnRH surge?*, 5th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction, ESDAR Newsletter, 6, 28.

16) FORTUNE JE, 1994. *Ovarian follicular growth and development in mammals*, Biology of Reproduction, 50, 225-232.

17) GRANT RJ e ALBRIGHT JL, 1995. *Feeding behavior and management factors during the transition period in dairy cattle*. J.Anim. Sci. 73, 2791-2803.

18) HANSEN LB, 2000. *Consequences of selection for milk yeld from a geneticist's viewpoint*. J. Dairy Sci., 83, 1145-1150.

19) KNIGTH CH, 1998. *Extended lactation*. Hannah Research Instutute Yearbook, 30-39.

20) LARSON SF, BUTLER WR e CURRIE WB, 1997. *Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows*, J. Dairy Sci.,80, 1288-1295.

21) LAY DC, RANDEL RD, FRIEND TH, CARROL JA, WELSH TH, JENKINS OC, NEUENDORFF DA e BUSHONG DM, 1997. *Effects of prenatal stress on the fetal calf*, Dom. Anim. Endocrinol., 14, 73-80.

22) LIU D, DIORIO J, TANNENBAUM B, CALDJI C, FRANCIS D, FREEDMAN A, SHARMA S e PEARSON D, 1997. *Maternal care, hyppocampal glucocorticoid receptors, and hypotalamic - pituitary - adrenal responses to stress*. Science, 277, 1659-1662.

23) Lucy MC, 2001. *Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end?* ASDA Foundation Scholar Award, J. Dairy Sci., 84, 1277-1293.

24) Noble KM, Tebble JE, Harvey D e Dobson H, 2000. *Ultrasonography and hormone profiles of persistent ovarian follicles (cysts) induced with low doses of progesterone in cattle*, J. Reprod. Fertility, 120, 361-366.

25) Oldham JD, Sim G, Groen AF, Nielsen BL, Pryce JE e Lawrence TLJ (ed.), 1999. *Metabolic stress in dairy cows*, Occasional Pubblication N. 24, BSAS.

26) Petraglia F, Vale W e Rivier C, 1986. *Opioids act centrally to modulate stress-induced decrease in LH in the rat*, Endocrinology, 119, 2445-2450.

27) Petraglia F, Sutton S, Vale W e Plotsky PM, 1987. *Corticotropin releasing factor decreases plasma LH levels in female rats by inhibiting GnRH release into hypophyseal portal circulation*, Endocrinology, 120,1083-1088.

28) Phogat JB, Smith RE e Dobson H, 1997a. *The influence of stress on neuroendocrine control of the hypotalamic-pituitary-ovarian axis*, Veterinary Bulletin, 67, 551-567.

29) Phogat JB, Smith RE e Dobson H, 1997b. *Effect of ACTH on GnRH-induced LH secretion in vitro*, Anim. Reprod. Sci., 48, 53-65.

30) Phogat JB, Smith RE e Dobson H, 1999a. *Effect of ACTH (1-24) on ovine pituitary gland responsiviness to exogenous pulsatile GnRH and estradiol-induced LH release in vivo*, Anim. Reprod. Sci., 55, 193-203.

31) Phogat JB, Smith RE e Dobson H, 1999 b. *Effect of transport on pituitary responsiviness to exogenous pulsatile GnRH and estradiol-induced LH release in intact ewes*, J. Reprod. Fertility, 116, 9-18.

32) Roche JF, Mackey D e Diskin MD, 2000. *Reproductive management of postpartum cows*. Animal Reprod. Sci., 60-61, 703-712.

33) Savio JD, Boland MP, Hynes N e Roche JF, 1990. *Resumpion of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows*, J. Reprod. Fertility, 88, 569-579.

34) Selye H, 1939. *The effect of adaptation to various damaging agents on the female sex organs in the rat*. Endocrinology 25, 615-624.

35) SISVET, 2001. *«Trasition cow»: aspetti immunitari, produttivi e riproduttivi*, in Tavola Rotonda e Workshop Rimini 2001, scaricabile da www.sisvet.it (in attesa di pubblicazione).

36) Stefanon B, Colitti M, Gabai G, Knigth CH e Wilde CJ, 2002. *Mammary apoptosis and lactation persistency in dairy animals*, J. Dairy Res., 69, 37-52.

37) Stock AE e Fortune JE, 1993. *Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters*, Endocrinology, 132, 1108-1114.

38) Tilbrook AJ, Canny BJ, Serapiglia MD, Ambrose TJ e Clarke IJ, 1999. *Suppression of the secretion of LH due to isolation/restraint stress in gonadectomised rams and ewes is influenced by sex steroids*, J. Endocrinology 160, 469-481.

39) Watson ED e Munro CD,1984. *Adrenal progesterone production in the cow*, British Veterinary Journal, 140, 300-306.

40) Wiltbank MC, Gümen A e Sartori R, 2002. *Physiological classification of anovulatory conditions in cattle*, Theriogenology, 57, 21-52.

SANDRO CAVIRANI

INFEZIONI CAUSA DI INFERTILITA' NELLA BOVINA: RECENTI ACQUISIZIONI E RIFLESSI NELLA GESTIONE

INFECTIOUS DISEASES INVOLVED IN REPRODUCTIVE FAILURES IN CATTLE: RECENT FINDINGS AND CONSEQUENCES ON MANAGEMENT

Dipartimento di Salute Animale, Sezione di Malattie Infettive degli Animali,
Facoltà di Medicina Veterinaria – Università degli Studi di Parma
Via del Taglio, 8 - 43100 PARMA
Telefono: 0521-902667
Fax: 0521-902672
e-mail: cavirani@unipr.it

RIASSUNTO

La presente rassegna sintetica prende in esame i principali agenti microbici causa di infertilità nella specie bovina, producendo un aggiornamento in tema di eziologia. Vengono esposti i criteri di diagnosi diretta e indiretta, con particolare riferimento all'impiego della sierologia. Alla luce dell'interazione tra infertilità ed alte produzioni, è rivisitata l'impostazione dei protocolli vaccinali verso infezioni causa di turbe riproduttive nella bovina da latte.

Parole chiave

bovino, infertilità, agenti microbici

SUMMARY

This review is aimed at examining the main microbial causes of reproductive failures in cattle, providing an update on the aetiological aspects. The criteria of direct and indirect diagnosis, particularly serology, are described. Considering the relationship between infertility and high productive performances, it is revised the protocols of vaccination towards agents of reproductive failures in dairy cattle.

Key words

cattle, infertility, infectious diseases

INTRODUZIONE

Un obiettivo prioritario perseguito dall'allevamento del bovino in cui è prevista la fase riproduttiva è quello di ottenere un vitello vitale e sano all'anno da ogni bovina allevata. Tutto ciò che interferisce negativamente con il raggiungimento dell'obiettivo deve essere annoverato quale causa di infertilità. Tra le svariate cause che concorrono a determinare infertilità rientrano a pieno titolo componenti di natura infettiva.

Dal punto di vista clinico, le fenomenologie implicate nel complesso infertilità sono riconducibili a aborto, riassorbimento embrionale, metrite, cervicite, vulvo-vaginite, ovarite, nella femmina; balanopostite e alterazioni spermatiche, nel maschio.

Al determinismo di detti quadri patologici concorrono infezioni primarie, ovvero quelle sostenute da microrganismi patogeni di per sé in grado di indurre patologia franca, ma anche infezioni secondarie, che trovano espressione in seguito al verificarsi di condizioni favorenti l'estrinsecarsi del loro potere patogeno. In particolare, detto evento può realizzarsi in seguito

all'instaurarsi di stati patologici localizzati ai diversi distretti genitali o in seguito a stati di immunocompromissione locale e sistemica, evocati da infezioni a carattere primario. Va comunque ravvisato come stati di immunocompromissione non siano ad esclusivo appannaggio di processi di natura infettiva ma siano piuttosto da inquadrare nel contesto dei risvolti tecnopatici legati all'allevamento del bovino da latte connotato da elevati livelli produttivi.

In considerazione di quanto precede e segnatamente agli aspetti clinici caratterizzanti la problematica infertilità, ci pare opportuno meglio definire ciò che ricade sotto l'accezione di aborto.

Secondo quanto enunciato nel 1972 dal Comitato del *Bovine Reproductive Nomenclature*, l'evento aborto è definito come una interruzione di gravidanza che si verifica in un periodo compreso tra il 42° (corrispondente alla diagnosi mediante esplorazione rettale) ed il 260° giorno di gestazione. Tale definizione, rispetto ad una più limitativa accezione del termine aborto che tende a circoscrivere detto evento all'espulsione del vitello nato morto o che viene a morte entro le prime 48 ore dalla nascita, risulta comprensiva dei fenomeni di interruzione precoce della gestazione che rivestono un ruolo di rilievo nell'ampio contesto delle turbe riproduttive nella specie bovina.

Il danno arrecato non è circoscrivibile alla mera perdita del vitello, seppur rilevante in caso di materiale genetico di alto pregio, ma un computo corretto deve tener conto delle perdite in termini di mancata produzione di latte e, in caso di complicanze post-aborto (mancato secondamento, metrite), di connessa infertilità.

Per quanto attiene al complesso eziologico che sottende all'infertilità bovina, si ritiene che le componenti di natura infettiva, comprendendo nel novero anche i parassiti, svolgano, ancora oggi, un ruolo di primo piano. In questo ambito, a fianco di microrganismi tradizionalmente ritenuti agenti d'infertilità, è segnalata la crescente prevalenza di patogeni emergenti, ritenuti in passato opportunisti e/o patogeni occasionali, il cui ruolo è per buona parte in via di definizione.

Stante la dinamicità che connota il panorama eziologico dell'infertilità di natura infettiva nel bovino, assume compiuto significato un'azione di monitoraggio, attraverso l'attività diagnostica condotta sistematicamente su "allevamenti problema"; attività che, di fatto, risulta frustrata dalla larga percentuale di casi irrisolti. Al riguardo, basti pensare che il tasso di successo diagnostico in corso di focolai di aborto, ossia il raggiungimento attraverso accertamenti di laboratorio di una risultato accreditabile di significato eziologico, è stato per anni attestato su valori oscillanti tra 6% e 30% ed ancora oggi, pur avendo subìto un significativo incremento, non supera il 42% dei casi esaminati (2, 8).

Nell'ambito dell'intervento diagnostico si tende a riconoscere un ruolo cardine al coordinamento tra il veterinario che agisce in campo e la figura corrispondente che opera in seno al laboratorio. La scelta, la tempistica nella raccolta dei campione, l'ampliamento della gamma dei patogeni oggetto di indagine diretta ed indiretta, associati alla valutazione collegiale dei dati clinici, epidemiologici e di laboratorio, rappresentano la razionale risposta al *deficit* di riscontri diagnostici significativi.

La presente relazione si prefigge il compito di produrre un contributo alla conoscenza del panorama eziologico dell'infertilità bovina, producendo indicazioni circa la prassi diagnostica e spunti in ordine alle strategie di controllo.

ASPETTI EZIOLOGICI

Come sottolineato in premessa, la componente rappresentata da agenti diffusivi, siano essi virus, batteri, parassiti, continua a rivestire un ruolo preponderante in seno ai determinanti di infertilità nella specie bovina.

Diversi sono i meccanismi messi in atto da detti agenti che portano alla realizzazione di turbe riproduttive, fra i quali annoveriamo:

- aggressione del feto e produzione di danni letali da parte del microrganismo e/o relativi prodotti ad azione tossica;
- compromissione dell'integrità anatomica e della funzionalità placentare;
- danno ovarico, in particolare attività luteolitica;
- azione sistemica, compromissoria dell'integrità del circolo e dell'omeostasi ormonale;
- compromissione della mucose genitali e dell'endometrio;
- patologie della sfera genitale maschile (balanopostite, epididimite-orchite)

Di seguito verrà prodotta una sintetica descrizione sulle principali patologie di natura infettiva e parassitaria responsabili di aborto nella specie bovina.

Brucellosi

È sostenuta da batteri appartenenti al genere *Brucella* che sono responsabili di infezioni a carattere zoonosico e nella bovina gravida inducono l'aborto. L'aborto brucellare, che in passato rappresentava un costante rischio per gli allevamenti bovini italiani, tende ad assumere sempre più valore storico. A giustificare tale assunto valga citare come, a seguito dell'applicazione del piano nazionale di eradicazione, la prevalenza d'infezione su base nazionale sia oggi assestata su circa l'1,3% per quanto attiene agli allevamenti e 0,3% se riferita ai bovini da latte oggetto di controllo. La situazione epidemiologica nazionale presenta tuttavia differenze anche significative, nel senso che a fianco di province ufficialmente indenni da molti anni esistono aree del Paese in cui la prevalenza si discosta significativamente dal dato medio nazionale.

Per quanto attiene allo specifico dell'eziologia dell'aborto brucellare, a fianco di *B. abortus*, è da annoverarsi *B. melitensis*. Quest'ultima, tradizionalmente correlata all'infezione negli ovi-caprini, viene indicata quale responsabile di focolai d'infezione nel bovino, in seguito ad avvenuto contatto diretto ed indiretto, spesso incidentale, con greggi infetti.

L'infezione avviene attraverso contatto con animali portatori, feti ed invogli (al momento dell'aborto sono eliminate 1.000-10.000 miliardi di brucelle), secrezioni utero-genitali, latte, materiale seminale, locali infetti. La penetrazione del germe avviene attraverso il complesso mucosale, a cui segue localizzazione uterina, linfatica e mammaria. Consegue placentite a carattere fibrinoso-necrotico-purulento, anossia e setticemia a carico del feto. Ricordiamo, a tal proposito, lo spiccato tropismo delle brucelle, per la placenta ed il quarto stomaco fetale, legato all'elevata presenza in queste sedi di eritritolo. L'elevata concentrazione di tale carboidrato, oltre 120 giorni di gestazione, viene invocata a giustificare la prevalente collocazione dell'aborto brucellare nell'ultimo trimestre di gravidanza; aborto a cui, in seguito al verificarsi di tenaci aderenze di natura flogistica tra corion e matrice, consegue ritenzione placentare (27).

Concorre a determinare quadri di infertilità, la capacità del microrganismo in parola di interessare l'apparato genitale maschile evocativo di orchite-epididimite.

Leptospirosi

Allo stregua della brucellosi, anche la leptospirosi assume un connotato zoonosico. In questo caso si annoverano leptospire saprofite ed altre, fra le quali quelle responsabili di aborto nella specie bovina ed a connotato spiccatamente patogeno. E' opinione diffusa che, al contrario di quanto segnalato per la brucellosi, la prevalenza della leptospirosi nella specie bovina, e di concerto le turbe riferibili a detto patogeno, siano in seppur tendenziale incremento.

Nonostante la considerazione che per leptospirosi bovina in senso stretto debba intendersi l'infezione sostenuta da *L. hardjo*, della quale il bovino è l'ospite primario di manteni-

mento, non si può trascurare l'intervento in focolai di leptospirosi bovina delle sierovarianti *pomona* e, con minor frequenza, *canicola* e *tarassovi*.

Il contagio avviene attraverso le mucose, a seguito di contatto con urine, contenuto uterino e latte infetti. Si verifica colonizzazione dell'utero gravido e in particolare *L. hardjo* induce processi necrotici nei villi dei cotiledoni ed edema del tessuto intercotiledonare. L'aborto, tardivo, si manifesta da 1 a 3 mesi dopo contagio ed il feto, venuto morte a seguito di setticemia, è spesso in preda a fenomeni autolitici, evidenziando limitate lesioni macroscopiche riconducibili a nefrite interstiziale e necrosi epatica centrolobulare. Segue ritenzione placentare. Nei focolai di leptospirosi all'aborto si associano nascita di vitelli prematuri, disvitali, comparsa di episodi mastitici atipici (mammella flaccida con latte denso, similcolostrale) e ipofertilità (26).

Campilobatteriosi

Campylobacter fetus subsp. *venerealis*, già *Vibrio fetus*, rappresenta un tipico agente a trasmissione venerea in quanto ospite obbligato dell'apparato genitale del bovino. A seguito di impiego estensivo della fecondazione artificiale si è assistito ad una radicale contrazione della prevalenza di detta infezione (8, 13, 28).

Il contagio attraverso l'accoppiamento è favorito dalla persistenza del germe negli animali con infezione subclinica, a livello di cripte prepuziali e di mucosa uterina. L'infezione esita nella colonizzazione dell'utero, dove l'instaurarsi di un processo infiammatorio catarrale pregiudica l'impianto dell'ovulo fecondato e compromette lo sviluppo embrionale. Talora, in bovine parzialmente immuni, lo sviluppo dell'embrione procede, fino a che il processo infiammatorio dell'utero e della placenta causa la morte fetale e la relativa espulsione, che ha luogo verso il 6° mese. Il feto può presentare autolisi, mummificazione, pleurite fibrinosa, peritonite, pericardite. Tra le ipotesi patogenetiche delle turbe gravidiche imputabili a campilobatteriosi si annoverano una condizione di anossia indotta dalla migrazione del germe in utero durante la fase luteinica del ciclo estrale e un'azione sottrattiva delle sostanze nutritive dettata dalle necessità metaboliche del batterio: fattori entrambi da non sottovalutare, ma da ritenersi, più ragionevolmente, quali concause aggravanti gli esiti del processo infiammatorio conseguente alla colonizzazione batterica dell'utero.

L'ingresso dell'infezione in un allevamento indenne vede la comparsa di aborti, talora sporadici, tra il 4° e il 6° mese di gestazione. Il dato clinico saliente si riferisce a grave infertilità, in particolare nelle manze, che tendono a manifestare vaginite, con secrezione catarrale. In assenza di terapia, la fenomenologia clinica può perdurare alcuni mesi. La situazione nell'ambito del gruppo infetto tende a normalizzarsi nell'arco di 6 mesi dall'esordio dei primi sintomi (14).

Clamidiosi

Vede l'intervento di microrganismi appartenenti al genere *Chlamydiophila* che sostengono infezione in mammiferi diversi, uomo incluso.

Nonostante la capacità di *C. psittaci* ad evocare aborto nella specie bovina sia da tempo un dato acquisito (31), il ruolo epidemiologico svolto dal microrganismo nell'ambito degli agenti infettivi causa di aborto nei nostri allevamenti è ancora *sub-iudice*. Al riguardo, si deve indicare come l'epidemiologia dell'infezione, che vede l'ampia diffusione di infezioni enteriche responsabili di positività sierologica in assenza di connotazione clinica, di fatto, inficia il significato prospettico, in termini di correlazione patogenetica, di gran parte dei dati siero-epidemiologici indicativi di una rilevante presenza d'infezione nei nostri allevamenti da latte.

Solo di recente, attraverso l'allestimento di uno studio caso-controllo condotto su oltre 600 sieri da bovine con aborto e da altrettanti animali scelti a caso, è stato possibile dimo-

strare una correlazione statisticamente significativa tra sieropositività per *C. psittaci* ed evento aborto in allevamenti da latte nell'area padana, consentendo di inserire detto germe nel novero dei fattori infettivi di rischio per aborto bovino nell'area considerata (9).

Anche in ordine alla patogenesi dell'infezione non tutto risulta ancora chiarito. Si ritiene che *C. psittaci* infetti le cellule epiteliali della mucosa oro-faringea, enterica e respiratoria. Di qui, attraverso la via linfo-ematogena, sarebbe in grado di pervenire ai vari organi ed apparati, fra cui l'utero gravido. Il quadro patologico che si instaura è riconducibile ad infiammazione della placenta che appare edematosa, con essudazione giallo-brunastra a livello inter- e peri-cotiledonare.

I feti abortiti intorno al 6° mese presentano un diffuso edema emorragico sottocutaneo, versamenti giallo-rossastri in cavità toraco-addominale; il fegato appare aumentato di volume, di colore rosso-giallastro con la superficie bozzellata ed irregolare.

L'infezione sperimentale, evocando endometrite franca, ha confermato il ruolo primario di *C. psittaci* nel determinismo di infertilità nella bovina (37).

Febbre Q

È sostenuta da *Coxiella burnetii* che infetta specie animali diverse e l'uomo. Pur riconoscendo come bersaglio preferenziale gli ovi-caprini, *C. burnetii* trova nel bovino l'ospite elettivo. Al pari di altre rickettsie, nella trasmissione del microrganismo svolgono un ruolo attivo le zecche. Oltre che tramite punture di artropodi, l'infezione può essere acquisita mediante assunzione orale della coxiella contenuta in feti abortiti, lochiazioni, secreti ed escreti, latte compreso, ed escrementi di artropodi. Nella diffusione dell'infezione gioca un ruolo di rilievo la naturale resistenza del microrganismo nell'ambiente. Il cane si infetta per ingestione di materiale infetto (invogli fetali) ed elimina *C. burnetii* per oltre 2 mesi.

Anche in questo caso, nella bovina gravida, a seguito dell'infezione, spesso asintomatica, si assiste a comparsa di placentite, anossia e setticemia a carico del feto. L'aborto è tardivo e, di frequente, possono verificarsi parti prematuri. Il germe può essere repertato anche in vitelli nati a termine. Bovine colpite dall'infezione presentano spesso metrite *post-partum*, che talora assume carattere epidemico all'interno del gruppo infetto (38).

Micoplasmosi

Sotto questa comune accezione trovano collocazione infezioni sostenute da *Mycoplasma bovigenitalium*, *Mycoplasma bovis* e *Ureaplasma diversum*. Detti microrganismi sono accomunati da una notevole diffusione tra gli animali allevati, anche in virtù della scarsa reazione immunitaria sistemica che evocano nei soggetti infetti. In particolare, il toro infetto presenta localizzazione del germe alle strutture ghiandolari accessorie all'apparato genitale che esita in infezioni, per lo più a carattere cronico (vescicolite seminale), con eventuale ridotta motilità spermatica. I micoplasmi sono in grado di sopravvivere nel seme congelato per oltre 18 mesi (16).

La bovina infettata presenta turbe riproduttive imputabili, di volta in volta, a vaginite, endometrite, salpingite, a cui residua infertilità.

E' segnalata la possibilità di trasmissione verticale dell'infezione dalla bovina gravida al feto, che esita in placentite, morte fetale, aborto, nascita di vitelli disvitali (23).

Altre infezioni batteriche

Nell'ambito dei reperti che esitano dagli accertamenti di laboratorio su materiale patologico di origine genitale, si rileva la presenza di un vasto numero di batteri il cui significato epidemiologico nell'ambito di episodi di infertilità, aborto in particolare, non è di agevole interpretazione.

Fermo restando l'elevata frequenza di isolamenti da feti abortiti di batteri, in particolare

enterobatteri, che rappresentano il frutto di contaminazione ambientale, ci si riferisce altresì a reperti non viziati da detta tanto indesiderata, quanto inevitabile, evenienza. Si tratta di patogeni a tropismo non tipicamente genitale o patogeni occasionali, il cui crescente isolamento in termini assoluti o il reperto su più feti nell'ambito dello stesso focolaio avvalorano l'ipotesi essere accreditabili di un ruolo primario nel determinismo dell'aborto nel bovino.

Ci limiteremo in questa sede ad una mera elencazione passibile di continua integrazione, stante la dinamicità con cui evolve la microbiologia dell'aborto bovino e la vastità della casistica prodotta dai laboratori a cui fanno capi i diversi bacini d'utenza:

Actinomyces pyogenes, Listeria monocytogenes, Haemophilus somnus, Salmonella spp., *Pasteurella* spp., *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp..

Che si tratti di agenti primari di aborto nella specie bovina è ampiamente documentato su base sperimentale (26) ed è altrettanto noto come la localizzazione genitale consegua, nella gran parte dei casi, ad una fase batteriemica. A questo riguardo ed al fine di modulare l'attività patogena in sede genitale di detti microrganismi, pare giochino un ruolo fondamentale le perturbative dell'omeostasi del sistema immunitario ed il verificarsi di condizioni favorenti-scatenanti sviluppo, colonizzazione e diffusione sistemica di uno specifico microrganismo.

Rinotracheite infettiva del bovino

Nota come IBR, è sostenuta da *Bovine herpesvirus* tipo 1 (BHV-1). In particolare il sottotipo 1.1 è ritenuto responsabile di malattia respiratoria ed aborto, diversamente i sottotipi 1.2a e 1.2b sono stati riscontrati in corso di patologia genitale, segnatamente vulvovaginite e balanopostite, entrambe a carattere pustoloso.

In considerazione dei suoi specifici connotati clinici, nel caso dell'IBR il contagio avviene per via aerogena e l'aborto è ritenuto conseguente ad infezione respiratoria che, non necessariamente, trova un riscontro clinicamente manifesto negli animali colpiti.

Il rischio di trasmissione attraverso l'inseminazione, nelle attuali condizioni zoosanitarie, è da escludere se l'intervento fecondativo avviene strumentalmente; tuttavia nel caso di impiego di tori aziendali in allevamenti infetti, l'evento diviene tutt'altro che improbabile. Per quanto attiene agli embrioni oggetto di trapianto, il rischio di trasmissione connesso risulta praticamente annullato facendo ricorso a donatrici e riceventi indenni, se fecondate artificialmente, e sottoponendo l'embrione a lavaggi con tripsina a bassi dosaggi.

Nella complessa epidemiologia dell'IBR e dei virus erpetici in genere, va considerata l'evenienza di infezioni latenti a cui vanno soggetti tutti gli animali infettati, che possono risultare sierologicamente negativi trascorso molto tempo dall'infezione o se infettati in presenza di anticorpi materni (19).

L'aborto si verifica solitamente dopo il 150° giorno di gestazione, a seguito di viremia e passaggio transplacentare del virus. Il feto, venuto a morte, è espulso trascorsi 15-60 giorni dall'infezione materna, in preda a fenomeni autolitici o mummificazione, talora può manifestare lesioni necrotico-emorragiche, a fegato, reni, linfonodi. La localizzazione del virus a livello uterino può evocare metrite *post-partum* ed infertilità (20).

Distinti meccanismi patogenetici presiedono a fenomeni d'infertilità conseguenti all'infezione da BHV-1. In particolare, se la viremia ha luogo immediatamente dopo l'estro, il virus produce un'infezione litica del corpo luteo; trascorsi 7 giorni dopo l'ovulazione il danno luteale è minimo, tuttavia il virus può essere trasmesso attraverso l'epitelio uterino e causare infezione letale del prodotto del concepimento (23, 24). Un simile effetto è stato ottenuto anche a seguito dell'inoculazione di stipiti vaccinali vivi-attenuati (25).

Diarrea virale bovina

Sostenuta da *Bovine Viral Diarrhea Virus* (BVDV), è malattia dai risvolti patogenetici assai complessi in ragione della variabilità biotipica del virus, che vede l'esistenza di stipiti

citopatogeni e non citopatogeni. Al riguardo, è ampiamente noto come l'infezione della bovina gravida, non immune, nel corso dei primi 4 mesi di gestazione, se sostenuta da BVDV non citopatogeno, evochi la nascita di progenie immunotollerante, viremica persistente e sieronegativa; animali che, in attività riproduttiva, perpetuano nella discendenza la condizione di immunotolleranza. Riveste un ruolo epidemiologico cardine nell'epidemiologia dell'infezione il maschio riproduttore che, qualora immunotollerante, produce una continua escrezione virale attraverso il seme.

E' di comune assunto che l'aborto consegua all'esposizione del feto a virus citopatogeno entro il primo quadrimestre di gestazione con espulsione fetale 10 a 90 giorni post-infezione. Successivamente, tra il 100° ed il 150° giorno di gravidanza l'infezione esiterebbe in teratogenesi: aplasia polmonare, alopecia parziale, anomalie oculari (microftalmia, cataratta, insufficiente pigmentazione dell'iride, uveite), anomalie nervose (idrocefalia, ipoplasia cerebellare) che comportano difficoltà di stazione, tremori, opistotono. Nel caso d'infezione dopo il 170° giorno di gravidanza, il vitello nasce vitale e, avendo subìto una fase viremica prenatale, risulta sieropositivo prima dell'assunzione del colostro.

Il dato complessivo che vede nello stipite citopatogeno la causa dei quadri sopraindicati è in contrasto, seppur parziale, con l'asserzione che circoscriverebbe la capacità a superare la barriera transplacentare al solo stipite non citopatogeno (29). Ciò rappresenta un indubbio elemento di riflessione in ordine all'eccesso di schematismo a cui è stata ricondotta detta infezione che, per la suddetta intrinseca complessità, in particolare per quanto attiene ai risvolti patogenetici, mal si presta a forzosi interventi di semplificazione.

Come nel caso di BHV-1, di recente, si sono resi disponibili dati sperimentali che indicano un'interferenza di BVDV a livello di funzionalità ovarica. L'infezione di bovine in fase pre- e post-ovulatoria ha esitato in infezione ovarica e conseguente riduzione del diametro dei follicoli dominanti (15), del numero di corpi lutei palpabili, del numero e della qualità degli embrioni (17), comportando l'ottenimento di oociti infetti (32).

L'elevata frequenza di contaminazione da parte di BVDV non citopatogeno, di tipo I e II, riscontrata in lotti di siero fetale bovino realizza il rischio di contaminazione degli embrioni oggetto di trapianto (3).

Bovine herpesvirus 4

BHV-4 è un *gammaherpevirus*, dotato di caratteristiche spiccatamente linfotrope, ampiamente diffuso in tutto il mondo, con caratteristiche antigeniche e biologiche in grado di differenziarlo dagli altri virus erpetici. I monociti rappresentano le cellule bersaglio del virus che sono oggetto d'infezione persistente e latenza virale. BHV-4 è stato isolato in corso di una vasta gamma di situazioni cliniche, di cui buona parte a connotato cronico, tuttavia l'infezione sperimentale del bovino con stipiti di campo ha raramente riprodotto la malattia clinica originale.

L'infezione avviene attraverso la via respiratoria, ed essendo segnalata la localizzazione testicolare del virus, non è da sottovalutare la via venerea, anche attraverso l'inseminazione strumentale: evento tutt'altro che remoto, stante l'elevata prevalenza di tori sieropositivi non sottoposti ad alcuna misura restrittiva (7).

Il virus, veicolato dai monociti, raggiunge l'utero gravido. Isolamento di BHV-4 è stato ottenuto da feti abortiti a diversi stadi di gravidanza (36). Di recente, attraverso uno studio caso-controllo, è stato ribadita la correlazione statistica tra aborto e positività sierologica verso BHV-4, contribuendo a fornire ulteriore credito alle tesi che annoverano detto virus tra le cause primarie di aborto nella specie bovina, in particolare durante il terzo trimestre di gravidanza (10).

All'evento aborto o parto a termine trova riscontro l'insorgenza di metrite che, in relazione alla scarsa propensione del virus ad autolimitarsi attraverso l'induzione di una attiva ri-

sposta immune nell'ospite, tende ad assumere carattere cronico, pregiudicando il ripristino della normale attività riproduttiva (35).

Altre virosi

La conformazione anatomica dell'apparato genitale, la contiguità con l'esterno, in particolare durante la fasi di pervietà cervicale, le condizioni di spiccata vulnerabilità dell'utero nel *post-partum*, assimilabile di fatto ad una ferita aperta, rappresentano fattori favorenti l'instaurarsi di infezioni. Nel caso specifico delle virosi, gran parte delle quali presentano una fase viremica, risulta atteso il passaggio transplacentare, la veicolazione e la localizzazione genitale. In caso di gravidanza, il destino del prodotto del concepimento è legato all'attività patogena del virus ed alla reattività immunitaria del feto che, come noto, inizia ad essere immunocompetente, con attività progressivamente in crescita, a partire dal 5° mese di gestazione. Il fatto è documentato oltre che dall'isolamento incidentale di agenti virali diversi (parvovirus, adenovirus, paramixovirs) da feti abortiti anche dal rilievo di sieropositità in vitelli testati prima dell'assunzione del colostro.

Tricomoniasi

E' sostenuta da un protozoo, *Tritrichomonas foetus*. In considerazione della esclusiva trasmissione venerea dell'infezione, *T. fetus* rappresenta oggi una causa storica di aborto, infatti con l'estensiva applicazione della fecondazione artificiale, si è assistito ad una pressochè scomparsa del patogeno negli allevamenti da latte e la persistenza di alcune residuali sacche d'infezione limitatamente ad allevamenti che perseguono la linea vacca-vitello.

T. foetus è in grado di colonizzare nell'apparato riproduttore della bovina, evocando in una prima fase una vaginite catarrale acuta che non impedisce la fecondazione e tende a risolversi spontaneamente. In seguito, trascorsi circa mesi, il parassita invade la cavità uterina provocando endometrite a cui consegue aborto e infertilità. La precocità dell'aborto, che avviene di regola entro i primi 100 giorni di gravidanza, quando il feto ha dimensioni ridotte, rende ragione del ridotto numero di segnalazioni diagnostiche in ordine alla dimostrazione del parassita in corso di episodi abortivi.

La condizione di portatore che coinvolge la bovina infetta è transitoria, 6-9 settimane dopo il parto. Nel toro, dove il protozoo instaura una infezione inapparente a livello di guaina peniena, sono segnalati casi di sterilità conseguenti all'infezione (4).

Neosporosi

Neospora caninum è anch'esso un protozoo. Scoperto nel 1988 è assai simile a toxoplasma, peraltro ritenuto anch'esso responsabile di aborto nel bovino. In seguito alla scoperta del parassita ne è stata accertata la vasta gamma di ospiti, fra cui il bovino. Dopo la prima dimostrazione della presenza di *N. caninum* in un feto bovino, avvenuta nel 1989 (32), e la immediatamente successiva indicazione di carattere epidemiologico che ha individuato in questo protozoo la principale causa di aborto bovino in California (1), numerose segnalazioni ed indagini epidemiologiche, relativamente al ruolo di *N. caninum* nel determinismo di aborto a carattere endemico ed epidemico nel bovino, si sono succedute rapidamente in tutto il mondo, Italia compresa (12, 22).

Il ciclo del parassita appare complesso e non ancora completamente chiarito. Solo di recente è stato dimostrato che il cane rappresenta l'ospite definitivo di *N. caninum* (21). Ciò autorizza l'ipotesi secondo la quale il bovino potrebbe assumere il contagio o reinfettarsi attraverso l'assunzione di alimenti contaminati con le oocisti eliminate dal cane. Pur non potendo essere esclusa la trasmissione orizzontale dell'infezione tramite lochiazioni *post-partum* o post-aborto, di fondamentale importanza nell'epidemiologia della neosporosi bovina deve essere considerata la trasmissione congenita del parassita dalla bovina gravida al feto.

Se l'evento non esita in aborto, la gravidanza giunge al termine e il vitello può nascere infetto, anche se apparentemente sano. L'infezione così congenitamente acquisita, caratterizzata dalla presenza di cisti tissutali contenenti i bradizoiti che possono andare incontro a rottura, è in grado di perpetuare la neosporosi nella mandria per anni.

Gli aborti, che avvengono di norma dopo il 3° mese di gravidanza, possono assumere carattere sporadico, epidemico, endemico e coinvolgere la stessa bovina in gravidanze successive. Il feto presenta lesioni degenerative ed infiammatorie localizzate a sistema nervoso centrale (encefalomielite non suppurativa con necrosi multifocale), cuore, muscoli scheletrici e fegato.

E' di comune assunto come la bovina che abortisce un feto affetto da neosporosi abbia subìto una infezione congenita e che l'aborto non sia necessariamente la conseguenza di una recente esposizione ambientale al parassita. Alti titoli anticorpali verso *N. caninum* rilevati nella bovina dopo l'aborto sarebbero pertanto da imputare a reinfezione o riattivazione a seguito di eventi stressanti o infezioni intercorrenti, comunque causa di immunocompromissione (34).

Infezioni micotiche

La conoscenza dell'attività abortigena dei funghi risale all'inizio del secolo. I miceti isolati in corso di aborto bovino appartengono a numerose specie, fra cui prevalgono *Aspergillus fumigatus*, *Absidia ramosa*, *Absidia corymbifera*, *Mortierella wolfii*., *Rhizopus* spp., *Mucor* spp., *Candida* spp. (5, 18).

Nel contesto delle micosi responsabili di aborto è opportuno operare un distinguo tra le patologie che derivano dall'azione dei miceti con o senza secrezione di micotossine, in cui il ruolo patogetico prevalente è svolto dal micelio, e le micotossicosi che sono dovute all'attività di micotossine introdotte nell'organismo, con o senza fungo.

L'aborto di origine micotica si manifesta in forma sporadica, principalmente nelle stagione invernale e negli anni con estati particolarmente piovose. Il fenomeno tende a ripresentarsi in condizioni di scarsa aerazione ed elevata umidità, fattori che favoriscono lo sviluppo ambientale dei miceti. Costituiscono ulteriori elementi di rischio lo stoccaggio di foraggio umido e la somministrazione di alimenti ammuffiti.

L'infezione ha luogo per via digerente, anche se non sono da escludere a priori le vie respiratoria e genitale, che in condizioni sperimentali non hanno consentito di riprodurre l'aborto. Le spore, entrate in circolo attraverso lesioni gastroenteriche (o alveoli polmonari) raggiungono la placenta ed il feto, dove a livello di cotiledoni e liquido amniotico trovano le condizioni favorevoli ad un intenso sviluppo.

Gli aborti sono piuttosto tardivi, confinati al 7°-8° mese di gravidanza, spesso seguiti da ritenzione degli annessi, mai preceduti da sintomi premonitori. E' presente placentite necrotica ed emorragica, con cotiledoni addensati, giallastri, necrotici e zone intercotiledonari ispessite. Il feto presenta lesioni cutanee riconducibili a dermatite paracheratosica con placche grigiastre in rilievo, blefarite, lesioni organiche. Le placche, localizzate in prevalenza a collo e porzione interna della coscia, si distaccano mediante sfregamento. Ife fungine, dal caratteristico aspetto piumato, sono talvolta repertabili a livello di cotiledoni e liquido amniotico.

Altre parassitosi

Sulla scorta della considerazione generale in ordine ad una scarsa sorveglianza epidemiologica sulle cause di aborto nel bovino, è razionalmente ipotizzabile che la quota di aborti la cui eziologia sia da ricondurre all'intervento di parassiti risulti mal definita e, con buona probabilità, sottostimata. Ad ogni buon conto va rimarcato come il panorama delle cause parassitarie di aborto bovino non trovi esaustiva trattazione in quanto già esposto.

In particolare, riteniamo opportuno porre l'accento nell'ambito delle cause di aborto precoce (primi 4-5 mesi di gravidanza) il ruolo svolto da infezioni protozoarie. Si fa specifico riferimento a sarcocistosi e toxoplasmosi.

Nel primo caso, tre specie risultano in grado di infettare il bovino, *Sarcocystis cruzi*, *S. hirsuta* e *S. hominis*, di cui la prima è ritenuta responsabile di aborto nel bovino e riconosce come ospite i canidi, mentre le altre due il gatto e l'uomo, rispettivamente. Le sporocisti, eliminate per via fecale dall'ospite definitivo, sono immediatamente infestanti per il bovino che le assume per via orale. La fase proliferativa del parassita, che risulta particolarmente acuta alla prima infestazione o in corrispondenza d'infestazione massiva (>100.000 sporocisti), determina sarcosporidiosi viscerale, interessa l'utero, evocando placentite e, di concerto, aborto.

Per quanto attiene a *Toxoplasma gondii*, pur essendo comprovata l'attitudine abortigena del parassita per diversi mammiferi, bovino compreso, gli scarsi dati epidemiolgici disponibili ne indicherebbero un ruolo marginale nell'ambito delle cause di aborto a carattere enzootico (11). In questo caso l'ospite definitivo è stato, da lungo tempo, individuato nel gatto. Il bovino acquisisce la toxoplasmosi in seguito all'ingestione di alimenti contaminati da oocisti eliminate dal gatto. I tachizoiti possono raggiungere il feto per via transplacentare, infettarlo producendo malformazioni ed aborto.

Mastite

I rapporti che possono intercorrere tra patologia mammaria e infertilità sono rimasti per lungo tempo in una sorta di limbo. In effetti è sempre risultato comodo ritenere i due comparti come entità autonome anche se è noto da tempo come esistano fattori ormonali che subiscono una pesante interferenza da parte di stati patologici che interessano vuoi l'apparato riproduttore, vuoi quello mammario.

Solo di recente è stato prodotto un tentativo di valutare su basi scientifiche gli eventuali rapporti tra mastite, in particolare subclinica, e infertilità nella specie bovina (30). L'indagine che ha avuto un respiro di pluriennale, ha preso considerazione l'interferenza su alcuni parametri riproduttivi (primo intervento fecondativo, mancato concepimento, rapporto fecondazioni/concepimento) in soggetti con mastite clinica e subclinica, in comparazione con animali sani. La valutazione statistica dei dati ottenuti ha indicato come nel caso dei soggetti mastitici si evidenzi una significativa compromissione dei parametri di fertilità.

Le ipotesi avanzate a giustificare detta interferenza imputano ad endotossine batteriche l'induzione di ipertermia, compromissoria della formazione di blastocisti, la soppressione di LH, ostativa della maturazione degli oociti e l'aumento di PGF2alfa che provoca persistenza dei follicoli.

CRITERI DIAGNOSTICI

Che la diagnosi microbiologica di infertilità passi per l'esecuzione di pratiche di laboratorio è concetto ormai assolutamente consolidato. Tuttavia, non si deve perdere di vista gli aspetti clinici e con esso il valore di una corretta anamnesi di allevamento. Ci si riferisce in particolare ad una valutazione dinamico-temporale della fenomenologia clinica, nei suoi diversi aspetti caratterizzanti, della logistica degli animali e della movimentazione degli stessi, dei protocolli vaccinali adottati.

Al fine di produrre una organica trattazione dei criteri che presiedono alla definizione diagnostica del complesso infertilità bovina, si rende necessaria una trattazione parcellizzata che prevede l'evento aborto, l'infertilità clinica e l'infertilità *sine materia*.

Aborto

Il tipo e la qualità dei campioni diagnostici, associati ad una adeguata tempistica nel prelievo, costituiscono elementi essenziali al fine di ottenere un successo in termini diagnostici. In effetti, è da ricondurre a fallanze nel contesto di detti aspetti che trova, seppur in parte, giustificazione l'elevata quota di mancate diagnosi nell'ambito degli aborti del bovino.

Nella gestione sanitaria degli allevamenti bovini in cui è presente il momento riproduttivo è da ritenere indispensabile il continuo monitoraggio degli aborti ed il rilievo delle relative cause. L'azione si concretizza necessariamente attraverso l'esame sistematico di tutti i feti che è possibile recuperare, senza trascurare l'aborto sporadico, che è da ritenersi evento atteso nell'ambito di una popolazione in attività riproduttiva. Tuttavia, l'incidentalità dell'episodio è definibile solo a posteriori e, di fatto, ogni singolo episodio richiede un livello d'attenzione come se, potenzialmente, rappresentasse il prodromo di una serie successiva di eventi abortivi ("*abortion storming*") e di conseguenti turbe riproduttive. Inoltre, stante l'alta frequenza di insuccesso diagnostico, va ribadito come, in caso di più eventi abortivi concentrati in un breve lasso temporale, si renda necessario procedere all'invio di più feti al laboratorio. Ciò al duplice scopo di ottenere un reperto diagnostico e, nella gran parte dei casi, di attribuire un significato epidemiologicamente compiuto agli esiti di laboratorio.

Allo scopo di ottimizzare l'*iter* diagnostico è consigliabile inoltrare al laboratorio il feto intero. In effetti, l'invio di tessuti o fluidi fetali assume carattere limitante sia per quanto attiene all'acquisizione di informazioni derivanti dal quadro anatomo-patologico d'insieme, sia in ordine agli accertamenti strumentali che risulterebbero circoscritti ad alcuni organi: elementi tutti che concorrono all'ottenimento di esiti falsamente negativi.

A tal riguardo paiono vincolanti le condizioni generali del feto che, in gran parte dei casi risulta interessato da autolisi, il cui grado è dipendente dal tempo che intercorre tra morte fetale ed espulsione del feto (6, 8). Il processo autolitico dovrebbe avvenire in modo asettico, tuttavia, il frequente isolamento di batteri opportunisti sta ad indicare una pervietà del canale cervicale che consente il contatto con l'esterno e l'ingresso in ambito uterino di germi ambientali.

La presenza di processi autolitici, se marcata, rappresenta un serio limite in corso di procedure di isolamento, in particolare di agenti virali. In ogni caso, del grado di autolisi va tenuto conto al fine di una valutazione predittiva su eventuali risultati negativi ottenuti a seguito di accertamenti di laboratorio. Per l'accentuarsi delle condizioni di cui sopra, si ritengono superflui accertamenti eseguiti su feti in preda a mummificazione.

Le indagini di laboratorio devono essere precedute da un'accurata valutazione delle lesioni macroscopiche eventualmente presenti, rilevabili attraverso ispezione esterna ed esame necroscopico. In seguito, deve essere esperita l'intera gamma di accertamenti diagnostici che comprende:

a) Esame batteriologico mediante impiego di terreni selettivi-differenziali, arricchiti per l'isolamento di germi abortigeni che esigono per la loro crescita di adeguati supplementi. L'eventualità che nel determinismo dell'aborto intervengano micoplasmi, deve indirizzare verso un impiego sistematico di terreni di coltura idonei, tenendo in debito conto i lunghi tempi (oltre 2 settimane) necessari per addivenire a isolamento e identificazione del germe. La gamma degli accertamenti batteriologici prevede, inoltre, l'inoculazione del materiale in linee cellulari sensibili all'infezione da clamidie o l'impiego di sieri iperimmuni coniugati. Appare altresì strategica ai fini diagnostici la scelta degli organi da processare. Al riguardo, basti ricordare l'utilità degli accertamenti colturali sul contenuto del quarto stomaco, nel caso di isolamento brucellare.
b) Esame virologico mediante isolamento su colture primarie o linee cellulari di origine bovina. La presenza dell'antigene è evidenziabile direttamente nei tessuti fetali, utilizzando

anticorpi marcati (immunofluorescenza e immunoperossidasi). Mentre nel primo caso è indispensabile che il virus sia dotato di capacità replicativa, nell'altro è sufficiente la presenza e l'integrità degli antigeni di superficie del virus. Ciò queste ultime metodiche idonee ad accertamenti diagnostici anche in condizioni di autolisi fetale. Anche l'applicazione di reazione a catena della polimerasi (PCR), producendo l'amplificazione di un tratto bersaglio del genoma virale, consente di rilevare la presenza di antigeni virali specifici anche in tessuti con elevato grado di autolisi. In considerazione della presenza di agenti virali sprovvisti di attività citopatogena, quale BVDV, è auspicabile il saggio delle colture cellulari inoculate, esenti da effetto citopatico, con sieri immuni coniugati.

c) Esame parassitologico comprensivo di indagini rivolte alla dimostrazione di miceti attraverso esame microscopico previa colorazione, accertamenti colturali su idoneo terreno ed eventuale immunofluorescenza, a scopo identificativo. Sulla scorta di valutazioni di carattere epidemiologico, particolare attenzione va rivolta alla dimostrazione di neosporosi fetale. In considerazione della indaginosità delle tecniche colturali su linee cellulari, risultano meglio applicabili l'esame immunoistochimico e la reazione a catena della polimerasi; quest'ultima metodica, amplificando un tratto bersaglio del genoma virale, è in grado di dimostrare la presenza del parassita, che è assai labile, anche in presenza di fenomeni autolitici e su tessuti congelati.

L'invio della placenta al laboratorio rappresenta un supporto fondamentale alla diagnosi eziologica di aborto infettivo. Ciò trova il suo razionale nella considerazione che nel caso di numerose infezioni batteriche e micotiche l'aborto è conseguente a placentite e la colonizzazione del feto può anche non essere presente, nel qual caso il mancato invio delle placenta pregiudica il raggiungimento della diagnosi. Operativamente si procede secondo quanto già indicato per il feto.

Per quanto attiene alla diagnosi indiretta mediante ricerca di reazione anticorpale specifica nella bovina che ha abortito, questo rappresenta un capitolo assai delicato, soprattutto in ordine agli aspetti interpretativi.

L'indagine sierologica condotta mediante singolo prelievo, eseguito in prossimità dell'aborto, produce informazioni in ordine ad un avvenuto contatto con l'antigene. E' bene rimarcare come nel caso di taluni patogeni, quali brucelle e leptospire, la semplice rilevazione di sieropositività assuma di per sé valore diagnostico compiuto, trovando successivo riscontro in codificate misure di controllo.

Nella gran parte dei casi, l'interpretazione del dato sierologico risulta ben più indaginoso. Si configura quindi il ricorso al doppio campionamento di emosiero che prevede un primo prelievo in fase acuta di malattia ed un secondo in fase convalescente. Andrà pertanto considerata l'eventuale comparsa di sieroconversione verso un determinato antigene oggetto d'indagine.

Al riguardo, in caso di aborto si è portati a considerare il momento espulsivo del feto quale fase acuta di malattia. In considerazione di elementi di natura patogenetica, tuttavia, detta fase acuta di malattia non sempre corrisponde alla fase acuta d'infezione che risulta antecedente, anche diverse settimane prima, e comunque rappresenta il reale innesco della stimolazione immunitaria. Ne consegue che al momento dell'aborto la reazione immunitaria ha già avuto corso e, dal punto di vista della produzione anticorpale, la bovina si trova in situazione convalescente. Inoltre, va messo in debito conto come al momento dell'aborto, soprattutto se tardivo, si inneschino parte degli eventi fisiologici connessi al parto, fra cui un massivo richiamo di immunoglobuline dal circolo ematico alla mammella, che può portare ad un temporaneo *blanketing anticorpale sierologico*. Il dato trova riscontro applicativo nella diagnosi di aborto brucellare, dove è indicata, tra l'altro, la ricerca degli anticorpi nel latte, mediante prova dell'anello (*ring test*) con antigene costituito da una sospensione di brucelle inattivate e colorate.

Da tutto quanto precede discende la considerazione che una valutazione acritica delle sieroconversione può produrre interpretazioni scorrette e risultati falsamente negativi.

Il quadro risulta ulteriormente complicato dalla presenza di infezioni a carattere endemico e di interventi vaccinali. In questi casi, stante l'ampia diffusione di sieropositività, risulta ancora più indaginoso ottenere informazioni utilizzabili ai fini diagnostici.

A seppur parziale superamento di queste oggettive difficoltà vanno considerati quali possibili parziali rimedi, l'ampiezza della gamma di antigeni oggetto di monitoraggio sierologico, la valutazione dello stato sierologico di gruppo e lo studio dei titoli anticorpali osservati.

Nel primo caso è necessario procedere alla valutazione della reazione sierologica nei confronti degli antigeni più comunemente implicati nel determinismo di aborto nell'area considerata. Attualmente l'orientamento che ci pare più razionale indica di procedere alla determinazione anticorpale quantitativa (titolo anticorpale sierologico) nei confronti di *Brucella abortus*, *Leptospira* ser., *Chlamydia psittaci*, BHV-1, BVDV, BHV-4, *Neospora caninum*. Dette indagini devono interessare animali che hanno abortito, comprendendo nel novero sia gli aborti recenti che quelli verificatesi nel corso dell'ultimo semestre. In considerazione di quanto premesso, l'indagine sierologica può essere estesa ad animali sospetti di aborto silente o riassorbimento fetale. In aggiunta, è da prendere in considerazione un campione della popolazione di controllo, rappresentato da bovine che non hanno manifestato problemi genitali specifici e manze di età diversa. In ognuno dei gruppi di animali così costituiti, deve essere valutato il titolo anticorpale nei confronti degli antigeni di cui in precedenza.

Risulta evidente che, pur nei limiti insiti nella mancanza di un doppio campionamento, lo studio delle variabili anticorpali (presenza di elevati titoli anticorpali verso un determinato antigene tra gli animali che hanno abortito rispetto al restante della popolazione presente in allevamento) costituisce un utile elemento di riflessione volto a perseguire anche un adeguato approfondimento in termini di individuazione (isolamento) del patogeno emerso nel corso dei riscontri sierologici .

La capacità del feto a reagire attivamente e con intensità crescente nei confronti di un antigene, a partire dal 4° mese di gestazione, consente di eseguire indagini sierologiche su sangue e fluidi fetali. Il rilievo di sieropositività, stante la caratteristica della placentazione del bovino che non prevede il contatto tra sangue materno e feto e quindi il passaggio passivo di anticorpi durante la gravidanza, può essere assunto come indice di infezione fetale.

Infertilità clinica

Sotto detta accezione si considerano stati di infertilità associati ad evidenti segni clinici in sede genitale, quali vulvo-vaginite e metrite.

In dette situazioni appare strategico il ricorso all'esecuzione di tamponi genitali eseguiti su soggetti clinicamente significativi.

All'ottenimento di un risultato diagnostico attendibile concorre lo stato di conservazione del materiale che dovrà prevedere un mezzo di trasporto (idoneo terreno), la refrigerazione dello stesso e la consegna al laboratorio in tempi brevi.

La prassi diagnostica diretta deve prevedere la ricerca di batteri e virus che vedono nell'isolamento su idonei substrati il momento qualificante.

Nel caso sia presente una chiara fase acuta di malattia può essere proficuamente perseguita la diagnosi indiretta, sierologica, mediante doppio campione, acuto-convalescente. Diversamente, in caso di patologia cronica, segnatamente metrite *post-partum*, la prassi sierologica su singolo campione può assumere una certa valenza operando sulla completezza degli antigeni saggiati, la valutazione dei titoli anticorpali rilevati e la relativa comparazione con animali clinicamente sani e nell'ambito delle diverse categorie produttive.

Infertilità sine materia

Si tratta di una alterazione dei parametri riproduttivi che vengono considerati al fine di determinare la condizione di fertilità della singola bovina con naturale estensione al complesso degli animali allevati. L'alterazione che può riguardare singoli parametri, ma solitamente assume carattere multiplo, è valutabile attraverso un computo matematico, pertanto risulta ben quantificabile e suscettibile di valutazione comparativa in senso temporale. Non sono riscontrabili sintomatologie cliniche a carico dell'apparato genitale, da cui discende la definizione di infertilità *sine materia*.

La definizione eziologica in questo caso appare assai indaginosa, soprattutto per quanto attiene al peso reale svolto da microrganismi nel determinismo del fenomeno.

Mancando una patologia conclamata non risulta praticabile il prelievo di campioni patologici (feti, tamponi genitali) idonei a perseguire la prassi diagnostica diretta. Parimenti, per quanto attiene alla diagnosi indiretta, sierologica, non essendo evidenziabile una fase acuta di malattia, viene a mancare il primo presupposto a sostegno di un doppio campionamento di emosiero che qualora eseguito rileverebbe variazioni da ritenersi casuali, quindi non interpretabili.

Detto ciò, la valutazione dello stato anticorpale verso i più comuni agenti di infertilità, eseguito su singolo campione, assume valore di *screening*. Ancora una volta, la valutazione dei titoli anticorpali verso i singoli agenti e la comparazione degli stessi nel contesto delle diverse categorie di animali presenti in allevamento possono costituire elementi di riflessione al fine diagnostico, fornendo indicazioni circa le misure di carattere profilattico-immunizzante da adottare o già poste in essere.

GESTIONE DEL MOMENTO INFETTIVO

La gestione dell'infertilità passa attraverso una corretta definizione delle cause relative, in particolare di quelle infettive. Risulta pertanto ovvio come sia da considerare vincolante il raggiungimento di una corretta diagnosi, secondo i criteri già enunciati.

Nella gestione del momento infettivo devono valere i criteri generali che informano il controllo delle malattie a carattere diffusivo.

In particolare, si fa riferimento alle misure di profilassi diretta che ricadono sotto l'accezione di misure igienico-sanitarie. In tale senso va indicato come risulti di fondamentale importanza perseguire il mantenimento dello stato sanitario acquisito dall'allevamento. Il fatto assume particolare rilievo in corso di introduzione di animali in allevamento. Appare pertanto ovvio come la base di partenza sia rappresentata da un monitoraggio d'allevamento che produca una fotografia sullo stato sanitario di mandria nei confronti della presenza-prevalenza degli agenti d'infezione di cui in precedenza. In tal senso l'indagine sierologica è in grado di fornire preziose indicazioni. A questo punto risulta determinante la valutazione dello stato sanitario degli animali da introdurre in allevamento. Se ciò risulta previsto per legge almeno per quanto attiene a malattie oggetto di profilassi pianificata (brucellosi, tubercolosi e leucosi), è lasciato alla discrezione dei singoli nel caso di altre malattie, comunque a carattere diffusivo. La condizione di portatore asintomatico che connota numerose infezioni rappresenta un serio rischio di introduzione di patogeni in allevamento; rischio troppo spesso sottostimato, se non addirittura ignorato.

Nel contesto delle misure di profilassi indiretta, la vaccinazione rappresenta senza dubbio una strategia razionale volta a contenere l'entità delle manifestazioni cliniche e nel contempo ridurre la prevalenza d'infezione, limitando la circolazione del patogeno.

Nel caso specifico degli agenti d'infertilità si riconosce la possibilità operativa di interve-

nire con vaccini nel caso di BHV-1, BVDV e *C. psittaci*. In altri Paesi sono disponibili presìdi immunizzanti verso *Leptospira* ser. e *Neospora caninum*.

Per la profilassi di BHV-1 si sono resi disponibili vaccini *marker*, dotati di delezione a carico delle glicoproteina virale gE, che consentono di determinare su base sierologica la prevalenza d'infezione, seppur in presenza di vaccinazione.

Il principio che informa la pratica vaccinale in genere è quello di indurre il sistema immunitario a produrre una risposta specifica nei confronti del patogeno a cui il vaccino è dedicato.

È pertanto ovvio come la partita vaccinale si giochi tra un presìdio dotato di attività immunizzante che interagisce con un sistema immunitario pienamente reattivo.

Un elemento che sta emergendo nella pratica zootecnica dei nostri giorni si riferisce al fatto di come le alte produzioni che connotano oggi gran parte dell'allevamento intensivo della vacca da latte esercitino una sorta di "prepotenza produttiva" che ha come risvolto inquietante uno stato di immunodeficienza seppur a carattere tendenziale. La selezione ha fatto si che buona parte delle risorse alimentari siano dirottate verso tessuti o apparati legati ai parametri produttivi. Il sistema immunitario non rientra senza dubbio in tale novero, per cui viene penalizzato in corso di attività produttiva. Ora, risulta evidente come una vaccinazione posizionata in corso di lattazione perda di potenzialità in quanto la componente immunizzante specifica, legata all'antigene, e aspecifica, legata all'adjuvante, qualora previsto, vengono ad interagire con un sistema immunitario non pienamente reattivo. Il risultato è una riduzione dell'attività immunizzante del vaccino, con conseguenze facilmente deducibili in ordine al controllo delle patologie connesse.

Alla luce di quanto precede è opportuno valutare la possibilità di configurare una revisione dei protocolli vaccinali con l'intendimento di ottimizzarne la resa. A tal proposito, vale considerare le potenzialità offerte dalla fase di asciutta.

Durante la fase di asciutta, infatti, vengono di fatto a cadere le condizioni di "prepotenza produttiva" che connotano la lattazione. La fase di asciutta quindi ben si presta a realizzare la ricostituzione del sistema immunitario attraverso la via naturale quale è quella alimentare, se opportunamente gestita in senso quali-quantitativo.

Ne discende come il momento vaccinale possa essere configurato durante, o meglio nelle fasi avanzate dell'asciutta. La vaccinazione in asciutta dovrà comunque prevedere un'adeguata azione di sensibilizzazione vaccinale (*priming* e *booster*) da eseguirsi sui giovani animali, tenendo in considerazione la possibile interferenza da parte di anticorpi passivi di origine colostrale. Allo stato è da verificare l'efficacia di detto protocollo in comparazione con quello più tradizionale che prevede richiami eseguiti a cadenza periodica, solitamente semestrale.

CONCLUSIONI

Il quadro che emerge da una disamina della problematica infertilità bovina nel suo complesso e delle cause infettive in particolare, porta a formulare alcune considerazioni da cui discendono modalità operative, soprattutto per quanto attiene all'*iter* diagnostico nelle sue diverse fasi.

Senza dubbio i dati ricavati dalla letteratura nazionale ed internazionale prodotta sull'argomento indicano un ampio ventaglio di cause infettive e parassitarie implicate nel determinismo di infertilità. Detto ventaglio assume configurazione dinamica. E' infatti evidente come a fronte di un generale ridimensionamento di patologie, quali brucellosi e campilobatteriosi tradizionalmente legate a turbe riproduttive, aborto in particolare, permangano di attualità infezioni ampiamente note, quali leptospirosi e clamidiosi, che richiedono comunque una continua sorveglianza epidemiologica. Emergono, altresì, ulteriori agenti abortigeni, il

cui ruolo necessita di definizione. Costituisce un esempio calzante *N. caninum*, protozoo che emerso come agente di aborto bovino nei primi anni '90, ha assunto, attraverso il succedersi delle segnalazioni e degli studi sperimentali, un ruolo di primaria importanza nel panorama delle cause infettive di aborto nel bovino, tanto che appare legittimo, nell'ambito dei riscontri diagnostici in caso di aborto bovino, parlare di "era pre- e post-neospora".

Come sottolineato, quanto osservato nel caso di *N. caninum* rappresenta un evento di rilievo che, al di là della specificità distrettuale dalla patologia evocata, indica la necessità di non cristallizzare in sede di prassi diagnostica il rapporto causa-effetto patologico. Vale a dire che a fronte di determinati quadri clinici (aborto, metrite, vulvovaginite) la diagnosi non può essere circoscritta a patogeni determinati, considerando piuttosto il panorama eziologico come un processo bio-patologico in continuo divenire. La considerazione non vale solo per l'infertilità bovina ma è estensibile alla patologia in genere. Ciò impone un costante e sistematico monitoraggio diagnostico sui casi di malattia. Tale azione di monitoraggio trova la massima espressione diagnostica nell'isolamento dell'agente, in quanto è ovvio che solo detta prassi consente di individuare il coinvolgimento di un "nuovo" patogeno nel contesto di un quadro clinico determinato. Le pratiche diagnostiche indirette forniranno sì indicazioni circa presenza e prevalenza di una infezione determinata ma non potranno mai svelare la presenza di una variabile eziologica sconosciuta o comunque non considerata nel novero degli antigeni oggetto di monitoraggio diagnostico.

Il ricorso alla sierologia nei confronti dei principali agenti responsabili di infertilità, prodotta su diverse categorie di animali presenti in allevamento ed utilizzando metodiche che consentano un'adeguata valutazione dei titoli anticorpali, va ritenuta utile a fornire lumi circa presenza, prevalenza e circolazione di un patogeno nell'allevamento o nell'ambito di determinate categorie di animali, risultando strategica al fine di indirizzare l'approfondimento diagnostico verso l'applicazione in seno al focolaio di metodiche mirate all'isolamento di agenti determinati. Sulla scorta di una schietta valutazione costo-beneficio in ordine alla applicazione della sierologia, ci pare realistico ipotizzare un impiego sistematico dell'indagine sierologica nell'ambito del complesso delle operazioni diagnostiche rivolte alla soluzione delle cause di infertilità nella specie bovina.

Per quanto riguarda la gestione del momento infettivo, in particolare le applicazioni vaccinali, si ribadisce come un consapevole utilizzo della vaccinazione debba considerare la finalità insita nella pratica in parola, rappresentata da una attiva stimolazione antigene-specifica evocata dalla vaccinazione stessa. Pertanto, al raggiungimento dell'obiettivo appare fondamentale la piena reattività del sistema immunitario al momento dell'intervento vaccinale. Detto assunto impone una rivisitazione critica dei protocolli vaccinali di allevamento che tenga conto delle situazioni organiche degli animali allevati in rapporto allo stato produttivo della mandria.

BIBLIOGRAFIA

1) Barr B., Anderson M., Blanchard P., Daft B., Kinde H., Conrad P. (1990). Vet. Path. 27, 354-360.
2) Barr B. e Anderson M. (1998). Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract. 9, 343-349.
3) Bolin S. e Ridpath J. (1998). J. Vet. Diagn. Invest., 10, 135-140.
4) BonDurant J. (1985). Compend. Cont. Educ. Pract. Vet. 7, 179-183.
5) Bourdoiseau G. (1997). Le Point Veterinaire 28, 27-33.
6) Caldow G., Buxton D., Spencer J., Holisz J. (1996). Proc. World Buiatrics Congress 19, 191-195.
7) Cavirani S., Allegri G., Flammini C.F. (1989). Atti Soc. Ital. Buiatria 21, 99-103.
8) Cavirani S., Foni E., Ferrari A., Donofrio G., Cabassi C.S., Scatozza F. (1998). Proc. World Buiatrics Congress 20, 1116-1120.
9) Cavirani S., Cabassi C.S., Donofrio G., De Iaco B., Taddei S., Flammini C.F. (2001). Prev. Vet. Med. 50, 203-210.
10) Czaplicki G. e Thiry E. (1998). Prev. Vet. Med. 33, 235-241.
11) Dubey J. (1986). Vet. Parassitol. 22, 177-188.
12) Ferrari A., Donofrio G., Dellepiane M., Carbonaro M., Cabassi C.S., Bigliardi E., Cavirani S. (1997). Atti Soc. Ital. Buiatria 29, 223-229.
13) Foni E., Gelmetti D., Guadagnini P.F., Meliota F. (1992). Praxis 7, 9-12.
14) Garcia M., Eaglesome M., Rigby C. (1983). Vet. Bull. 53, 793-805.
15) Grooms D., Brock K., Pate J., Day M. (1998). Theriogenology 49, 595-602.
16) Hirth R., Plastridge W., Tourlotte M. (1967). Am. J. Vet. Res. 28, 97-102.
17) Kafi M., McGowan M., Kirkland P., Jellella D. (1997). Theriogenology 48, 985-993.
18) Knudson W. e Kirbride C. (1992). J. Diagn. Invest. 4, 181-186.
19) Lemaire M., Meyer G., Ernst E., Van Herrewhehe V., Limbourg B., Pastoret P., Thiry E. (1995). Vet. Rec. 137, 70-76.
20) Lomba F., Bienfet V., Wellemans G. (1976). Br. Vet. J. 132, 178-183.
21) McAllister M., Dubey J., Lindsay D., Jolley W., Wills R., McGuire A. (1998). Int. J. Parassitol. 28, 1473-1482.
22) Magnino S., Fabbi M., Rosignoli C., Marocchi L., Vezzoli F., Alborali L., Cammi G., Colombo N., Colombo M., Bergami C., Mellini A. (1998). Atti Soc. Ital. Buiatria 30, 287-292.
23) Miller R., Ruhnke H., Doig P., Poitras B., Palmer N. (1983). Theriogenology 20, 367-372.
24) Miller J. e Van Der Maaten M. (1986). Am. J. Vet. Res. 47, 223-229.
25) Miller J., Van Der Maaten M., Whetstone C. (1989). Am. J. Vet. Res., 50, 551-554.
26) Miller M. e Turk J. (1990). *Infectious causes of infertility and abortion*. In: Smith BP (ed) Large Animal International Medicine. Philadelphia WB Saunders, 1397-1412.
27) Nicoletti P. (1990). *Bovine abortion caused by Brucella sp*. In Kirkbride CA (ed): Laboratory Diagnosis of Livestock Abortion, ed 3. Ames, Iowa State University Press, 86-99.
28) Nigrelli A.D., Gatti R., Meliota F., Mantovani R. (1994). O.D.V. 5, 67-73.
29) Pastoret P., Hamers C., Lecomte C., Lambot M. (1998). Summa 6, 33-38.
30) Schrick F., Hockett M, Saxton A., Lewis M., Dowlen H., Oliver S. (2001). J. Dairy Sci. 84, 1407-1412.
31) Storz J. (1972). *Chlamydia and Chlamydia induced diseases*. Charles C. Thomas, Publ. Co. Springfield, 111-122.
32) Thilsted J. e Dubey J. (1989). J. Vet. Diagn. Invest. 1, 205-210.
33) Tsuboi T. e Imada T. (1998). Vet. Rec. 142, 114-121.

34) Thurmond M., Hietala S., Blanchard P., DeBey S. (1995). Proc. Am. Meet. Am. Ass. Vet. Lab. Diagn. 38, 97-99.

35) Wellemans G., Antoine H., Broes A., Charlier G., Van Opdenbosch E. (1984). Ann. Méd. Vét. 128, 65-71.

36) Wellemans G. e Van Opdenbosch E. (1989). Ann. Méd. Vét. 133, 347-352.

37) Wittenbrink M., Schoon H., Schoon D., Mansfeld D., Bisping W. (1993). J. Vet. Med. 40, 437-342.

38) Woldehiwet Z., Aitken I. (1993). *Coxiellosis (Q fever)*. In: Woldehiwet Z. and Ristic M., Rickettsial and Chlamydial diseases of domestic animals. Pergamon Press, 131-148.

GIUSEPPE BERTONI

DISMETABOLIE PUERPERALI E RAPPORTI CON IL SISTEMA IMMUNITARIO, L'ATTIVITÀ EPATICA E LA RIPRODUZIONE

METABOLIC DISEASES AND THEIR RELATIONSHIPS WITH IMMUNE, LIVER AND REPRODUCTIVE ACTIVITIES

Istituto di Zootecnica - Facoltà di Agraria - Università Cattolica del Sacro Cuore
Via Emilia Parmense, 84 - 29100 Piacenza
tel. 0523/599277; fax 0523/599276; e-mail: giuseppe.bertoni@unicatt.it

RIASSUNTO

La ipofertilità bovina trova da tempo una crescente difficoltà nell'essere spiegata a fondo da semplici errori alimentari o dalla produzione sempre più elevata, si fa invece strada l'ipotesi che vi sia un concorso di colpa fra le precedenti e condizioni di malattia, specie se si verificano nel puerperio. In questa fase – ormai definita come transizione – è d'altra parte frequente un calo delle difese immunitarie per ragioni fisiologiche, per difetti alimentari, ma anche per l'insorgenza di stati infiammatori connessi con le fasi terminali della gravidanza, con il parto ecc.. Lo stato di malattia, anche se non grave, provoca – insieme a malessere – una minore ingestione di alimenti ed una deviazione delle sintesi di proteine epatiche (tutti effetti delle citochine pro-infiammatorie); di qui, soprattutto in una fase a rischio come la transizione, il più facile instaurasti di steatosi del fegato. Questa ultima situazione, il deficit di nutrienti e l'azione negativa diretta delle citochine sulla liberazione dell'LH e sulla sopravvivenza del corpo luteo, possono spiegare assai meglio la ipofertilità e la sua relazione con gli stati di malattia. E' pertanto imperativo prevenire con ogni mezzo qualsiasi forma di malattia, specie in prossimità del parto.

Parole chiave

fertilità, bovine da latte, immunità, attività epatica, malattie, ingestione alimenti

SUMMARY

There are growing difficulties to properly explain the fertility reduction of dairy cows through simple feeding mistakes and high milk yield. It seems otherwise more probable that the previous causes together any disease stress – namely in the transition period – could be the responsibles of the low fertility. In the transition it is recognized a drop of immunitary capacity for physiological reasons, for nutrient deficiencies, but also for some inflammatory situations that are more frequent at the end of pregnancy, during calving etc.. The diseases despite sub-clinical, can cause a release of pro-inflammatory cytokines and consequently a reduction of welfare and of feed intake while a deviation of the liver protein synthesis can occur. All these effects, particularly in a risky situation like transition period, can impair liver activity through a lipidosis. The contemporary nutrient deficiency, liver lipidosis and the direct effects of cytokines on the reproduction apparatus (namely a delay of LH release and a luteolytic activity) can better explain many hypofertility cases and their relationship with the disease situations. Any kind of diseases must be therefore prevented with a great care, particularly around calving time.

Key words

fertility, dairy cattle, immunity, liver activity, disease, feed intake.

Nel momento in cui si deve affrontare il problema zootecnico della ridotta fertilità nella bovina da latte ad alta produzione (VAP = vacca alta produzione), l'attenzione viene polarizzata essenzialmente su:

a) relazione negativa fra produttività e fertilità;
b) difetto di energia (chetosi);
c) eccesso di proteine (urea elevata).

Per quanto la personale opinione sia leggermente diversa, non si può sottacere la circostanza che esiste una relazione fra aumento del livello produttivo e calo della fertilità (Butler, 2000; Royal e coll., 2002). La relazione potrebbe tuttavia essere indiretta e connettersi ai due aspetti nutrizionali; il difetto energetico delle prime fasi di lattazione – tanto più evidente quanto più grande è la produzione – è da tempo considerato causa di ritardo nella prima ovulazione (Butler, 2000) e comunque di riduzione del tasso di concepimento, entrambi in relazione con la velocità di dimagrimento (calo BCS) come rilevato da Gillund e coll. (2001) e da Pryce e coll. (2001). Analogamente, pur con qualche distinguo, l'eccesso proteico associato spesso agli alti livelli produttivi e denunciato dagli elevati livelli di urea nel latte (oltre 35 mg/100 ml) parrebbe causare minor fertilità, forse per una anomalia funzionale riscontrabile a livello uterino (Butler, 1998).

Ciò non toglie che, per giustificare sul piano alimentare l'ipofertilità, si faccia spesso riferimento anche a carenze vitaminiche, minerali ecc. od anche a sostanze tossiche (micotossine, nitrati, pesticidi, metalli pesanti ecc.).

Tutte queste sono indubbiamente cause importanti e, con ogni mezzo (genetico, alimentare, gestionale), l'allevatore deve porre i suoi animali nelle condizioni di esprimere al meglio le loro potenzialità produttive senza soffrirne sul piano riproduttivo e della salute, quindi del benessere. Non è tuttavia da oggi che la scuola di Piacenza insiste in altre direzioni al fine di prevenire la compromissione dell'attività riproduttiva della VAP (Vacca Alta Produzione); in particolare ci si riferisce ai fattori di stress in senso lato ed allo stress da malattia in particolare (Bertoni, 1990). Quest'ultimo aspetto è stato da noi meglio precisato con riferimento alle conseguenze metaboliche e sul sistema riproduttivo da parte delle endotossine o comunque di altre cause di rilascio delle citochine, sostanze ormonali del sistema immunitario (Bertoni e Calamari, 1996); mentre ancora più recentemente (Bertoni e coll., 2000) si è tentato un maggiore approfondimento dei meccanismi di rilascio di tali citochine e soprattutto dei meccanismi con cui esse possono compromettere l'attività epatica, nonché la funzionalità riproduttiva.

Nello stesso lasso temporale, si è andata affermando la stretta relazione reciproca fra talune malattie (infettive e/o metaboliche), con implicite conseguenze sulla fertilità, soprattutto a seguito di indagini epidemiologiche (Erb e Gröhn, 1988). Tale tipo di relazione si è poi andato sempre meglio precisando, anche con riferimento alla fertilità, circa le malattie del periparto (Bertoni e coll., 1997; Calamari e coll., 1997; Markusfeld e coll., 1997; Trevisi e coll., 1998; Beaudeau e coll., 2000; Schrick e coll., 2001). Oggi si giunge a ritenere che siano assai più rilevanti gli indici di malattia, che non quelli produttivi, per la previsione della risposta riproduttiva (Lucy, 2001); affermazione che parrebbe condivisa da Roche e coll. (2000): "una elevata efficienza riproduttiva nella bovina da latte richiede un periodo di transizione senza alcun tipo di malattia …".

Entra così il concetto di "periodo di transizione", in passato chiamato "periparto" (Bertoni 1979), che è riconosciuto essere spesso una esperienza disastrosa per la vacca (Goff e Horst, 1997) e viene definito essere il tempo compreso fra le 3 settimane prima e le 3 dopo il parto (Grummer, 1995). Alla luce di quanto detto in precedenza, si comprende l'affermazione di Drackley (1999): "Il successo del periodo di transizione determina in modo consistente la redditività della bovina durante l'intera lattazione che con esso inizia". Non da oggi, abbiamo pochi dubbi sulla veridicità di una tale affermazione; risulta invece importante

comprendere cosa accade in questo periodo, specie a seguito di "malattie", sul sistema immunitario, sulle condizioni metaboliche con particolare riguardo alla attività del fegato e sull'apparato riproduttore.

"Transition period", nutrizione e sistema immunitario

La capacità immunitaria della bovina è notoriamente ridotta nel periodo del periparto, in passato si riteneva a causa della perdita di anticorpi con il colostro; la circostanza non può essere esclusa, ma numerosi lavori depongono per una specifica riduzione dell'attività dei neutrofili e dei linfociti (Kehrli e coll., 1989a; Kehrli e coll., 1989b). Un'ampia sintesi sulle anomalie riscontrabili, pre e post partum nella attività delle diverse cellule che contribuiscono alla difesa immunitaria, è riportata da Persson Waller (2000). In particolare, ciò che per i neutrofili differisce nel periparto, rispetto alle comuni situazioni, parrebbero essere le funzioni di sorveglianza, di migrazione e di produzione dell'effetto ossidativo (Detilleux e coll., 1994); il loro numero e la capacità fagocitaria non paiono infatti diminuite, per cui sorge il sospetto di un coinvolgimento dei geni deputati a queste specifiche funzioni dei leucociti. L'esperienza di Burton e coll. (2001) ha dimostrato che al parto vi è una ridotta espressione di circa 30 geni in ciò coinvolti e molti di questi è noto che sono repressi dagli ormoni steroidei, connessi alla gravidanza avanzata ed ai fenomeni di stress, notoriamente modificati nel periparto. Simili indicazioni sono riportate anche da Persson Waller (2000) che peraltro richiama l'influenza della nutrizione sul sistema immunitario e ben sappiamo come, nella fase del periparto, vi possano essere condizioni particolari anzitutto con riferimento alla inadeguata disponibilità di energia e proteine, ma talora di vitamine ed oligominerali. Inoltre, gli alti livelli di NEFA (acidi grassi non esterificati) paiono avere un effetto inibente sulla immunità umorale e cellulare, mentre il BOHB (acido b-idrossibutirrico e la lipidosi avrebbero in particolare effetto negativo sui neutrofili (Bernabucci e coll., 2002; Lacetera e coll., 2002). D'altra parte, è da tempo nota la relazione osservata da Curtis (1989) fra tenore lipidico del fegato e mastite nelle fasi iniziali della lattazione (fig 1).

Circa l'inadeguata disponibilità di specifici nutrienti, particolare importanza avrebbero la glutamina, alcune vitamine (A ed E) ed alcuni oligoelementi (Se, Cu e Zn), come richiamato da Persson Waller (2000); tuttavia, non sempre è chiaramente definito il rapporto fra parto ed inadeguatezza di questi nutrienti. Essa è certa per la glutamina, il cui livello si riduce sensibilmente in occasione del parto per ragioni non ben definite (forse è semplicemente accresciuto il fabbisogno – dovendo questo animoacido fornire energia a vari organi fra cui il digerente, per la sintesi di acidi nucleici e di proteine ecc. – non coperto dalla produzione inalterata) (Pond e Newsholm, 1999); altrettanto certa lo è per vitamine ed oligoelementi che si riducono al parto quali vitamina A, E e Zn (Galimberti e coll., 1978; Bertoni e coll., 1983; Cappa e coll., 1989). Per questi ultimi, tuttavia, non sempre trattasi di carenza primaria come da noi più volte dimostrato (Bertoni e coll., 1983; Cappa e coll., 1989), quanto piuttosto di conseguenze dello stato fisiologico (es. calo delle lipoproteine che veicolano le sostanze liposolubili; Bertoni e coll., 1984) o di fatti infiammatori pure tipici del periparto (Cappa e coll., 1989; Alsemgoest e coll., 1993) per effetto della involuzione uterina o di non rare, quanto "lievi", infezioni dello stesso utero (Sheldon e coll., 2001).

Queste osservazioni pongono in risalto il fatto che l'alimentazione ha una sua rilevanza nel modulare il sistema immunitario, ma al tempo stesso che non è unicamente il razionamento in sé ad interferire con la disponibilità dei nutrienti essenziali al s. immunitario. Vi sono infatti 2 forme di stress che possono modificare non poco la situazione:

- il cosiddetto stress metabolico (in pratica le conseguenze ineluttabili della esasperazione produttiva, almeno secondo una lettura piuttosto riduttiva) cui la British Society of Animal Science ha dedicato il proprio meeting annuale del 1999 (BSAS, 1999) e che viene

definito da Pond e Newsholme (1999) come: "Lo stress metabolico può verificarsi quando il fabbisogno per la cura parentale (latte) è talmente elevato da indebolire la capacità della madre di combattere le malattie". Una simile definizione potrebbe indurre a ritenere questo tipo di stress esclusivo delle bovine ad altissima potenzialità genetica; ciò non è necessariamente vero anche se Knight e coll. (1999) asseriscono che corrono maggiori rischi le bovine ad alta potenzialità. Gli stessi autori confermano infatti quanto da noi sostenuto in passato (Bertoni, 1996) e richiamato nella fig. 2: un buon management può evitare molti problemi anche negli animali ad alto merito genetico. D'altro canto, ancora Knight e coll. (1999) affermano che lo stress metabolico può aversi anche nelle forme di allevamento estensive per inadeguata disponibilità di alimenti, indipendentemente dal livello produttivo. Infatti, Ward e Parker (1999) affermano correttamente che negli allevamenti intensivi si tratta di far "correre" a velocità simili il miglioramento genetico e le capacità manageriali degli allevatori;

- il cosiddetto stress da malattia che, con la liberazione di citochine pro-infiammatorie (IL-1, IL-6 e TNF_{α}), provoca una riduzione di alimenti ingeriti (febbre e anoressia, anche se non sempre evidenti) e quindi una minore disponibilità di nutrienti (fig. 3) dei quali si ha un maggiore fabbisogno per effetto dello stesso stress da malattia (fig. 4). D'altro canto, le citochine pro-infiammatorie anzidette tendono – a lungo termine e con l'intervento fra l'altro degli eicosanoidi di cui le citochine provocano il rilascio – a diminuire la capacità del sistema immunitario e quindi a perpetuare il ciclo perverso che inizia col processo infiammatorio (fig. 5).

Da queste 2 osservazioni appare evidente l'importanza diretta ed indiretta della nutrizione nel ridurre lo stress metabolico e nel rendere massima la capacità immunitaria in un periodo tanto critico quale è il "transition period". Ma ciò non esaurisce l'interesse per la nutrizione poiché il tipo di reazione dell'organismo agli stress ed in particolare alle malattie può essere più o meno "energico" (fig. 6). In particolare si nota la probabile componente genetica insieme a fattori alimentari connessi al bilancio più o meno favorevole fra cause di stress ossidativo e capacità antiossidante (vitamine, oligoelementi e aminoacidi solforati), ma anche al tipo di lipidi (acidi grassi ω_6/ω_3, CLA ecc.) e quindi di eicosanoidi indotti (fig. 5). Il diverso "risultato clinico" che ne fa seguito, ha ovviamente conseguenze diverse sul metabolismo, sull'appetito e sui processi infiammatori "cronici". Di qui l'interesse sempre più manifesto, almeno a livello di ricerca, per ottenere quanto indicato da Elsasser e coll. (1997): "La nutrizione è in grado di modulare la liberazione di citochine a seguito di stress da malattia"; ciò al fine di attenuare il paradosso di danni spesso superiori, rispetto a quelli provocati dal "patogeno", a causa proprio della reazione infiammatoria dell'organismo. Esempi di questo tipo sono i recenti approcci nel campo della nutraceutica, in cui la associazione di acidi grassi poliinsaturi ω_3, di alcuni aminoacidi, di minerali e vitamine, unitamente a nuovi criteri di razionamento dell'asciutta, possono sortire il predetto risultato. Risultato che è quindi frutto di svariati fattori diversi, a conferma della complessità del sistema immunitario, per cui non ci si può limitare ad evitare il deficit energetico (ed ai conseguenti livelli elevati di NEFA e BOHB), peraltro tipici delle fasi iniziali della lattazione; infatti anche Perkins e coll. (2001), al termine delle loro ricerche, affermano: "il bilancio energetico negativo non è il più importante fattore di immunosoppressione nel periparto".

Stress da malattia
(Malattie, conseguenze metaboliche, funzione epatica)

Le malattie, siano esse metaboliche o infettive, provocano uno stress da malattia per effetto delle citochine (fig. 7 e tab. 1) e ciò condiziona negativamente la capacità immunitaria; tuttavia, non sempre risulta evidente che ad innescare questo ciclo perverso: malattia → ma-

lessere → immunodepressione → malattia …, possono essere situazioni non particolarmente evidenti e quindi spesso trascurate. Oltre ai fatti infettivi e parassitari classici ed alle ferite-lesioni gravi, ricordiamo qui i traumi, ad esempio frutto di distocia più frequente nelle primipare, le infiammazioni uterine a volte non particolarmente gravi, ma diffuse e favorite dal periodo con bassi livelli di estrogeni, nonché dalle endotossine originate da blande infezioni di Gram (-) opportunisti (Bondurant, 2001). Da non trascurare quali causa di rilascio di citochine, sono poi gli stress, e fra questi il termico, che provocano danni di tipo ossidativo. Infine, un posto a sé merita la possibilità di avere assorbimento di endotossine o addirittura traslocazione microbica per superamento della barriera intestinale (fig. 8), a causa di sua minore efficienza per ipossia (Shah e Walker, 2000), per anomalie del pH (acidosi), per presenza di microrganismi patogeni o per altre cause di malfunzionamento della barriera intestinale cui fra l'altro contribuisce l'azione di fatti infiammatori (es. LPS o endotossine) altrove attivi (Waunemuehler, 1995). Da notare che una migliore azione barriera a livello intestinale si consegue con un opportuno rapporto ω_6/ω_3, con l'adeguata disponibilità di glutamina (Alexander, 1998; Pond e Newsholme, 1999). In particolare, nella fig. 9 tratta da Grimble (2001), si possono seguire le conseguenze del rilascio delle citochine ed alcune interazioni con i nutrienti.

Volendo ora riferirci al parto, è da tempo noto (Cappa e coll., 1989) che nelle settimane successive si riscontrano variazioni ematiche tipiche dei fatti infiammatori (riduzione temporanea dello zinco, innalzamento della ceruloplasmina, calo delle albumine e della vitamina A = RBP o "retinol binding protein", ipocalcemia ecc.), le possibili cause – almeno nei casi apparentemente normali – sono da ricercare nel pur leggero traumatismo del parto, nel completamento della mammogenesi, nella involuzione uterina in sé o non di rado con possibile presenza di microflora come recentemente confermato da Sheldon e coll. (2001). Se poi si inseriscono forme di tipo infettivo quali mastiti, metriti, endometriti, ma anche semplicemente di tipo dismetabolico: ritenzione di placenta, edema mammario, collasso puerperale, lesioni podali, disturbi digestivi ecc., si ha un evidente ampliamento dei casi con aggravamento dei predetti fenomeni infiammatori.

Se numerose e non sempre note sono le cause di "stress da malattia", ancor meno chiaro è il paradosso insito nel sistema di difesa "immunoinfiammatorio" già richiamato; appare quindi utile citare quanto affermano Riollet e coll., (2000): "Le citochine, che svolgono un ruolo chiave nel sistema immunitario, sono anche i più importanti mediatori delle conseguenze patologiche che accompagnano le infezioni. Un esempio eclatante è quello dello shock septico da Gram (-) che può essere evitato neutralizzando, con la somministrazione di IL-10, le citochine pro-infiammatorie fra cui troviamo IL-1, IL-6 e TNF_α". Fra gli effetti di tipo metabolico, da tempo noti (tab. 1) anche se la loro conoscenza non è particolarmente diffusa, ci soffermeremo brevemente sulla ingestione di alimenti e sulla funzionalità epatica, ma ovviamente anche sulla attività riproduttiva.

Capacità di ingestione

Si è già precedentemente sottolineato e mostrato (fig. 3 e 4) come le citochine pro-infiammatorie siano causa di riduzione della capacità di ingestione; né merita essere ricordato con particolare enfasi come una buona ingestione di s.s. assuma un ruolo essenziale per il rapido superamento della "crisi" da lattazione iniziale. Pur essendo tanto noto che già se ne parlava molti anni fa (Bertoni, 1979), si continua a ripeterlo oggi (Drackley, 1999; Lucy e coll., 2001) perché il problema rimane sostanzialmente irrisolto; il punto è che sino ad ora ne è stata fatta soprattutto una questione di razionamento ante e post-partum: qualità degli alimenti, tenore in fibra fisicamente efficace, rapporti fra carboidrati e proteine per massimizzare l'attività microbica nel rumine, uso di sostanze prebiotiche o di probiotici, integra-

tori più o meno efficaci, modalità alimentari fra cui lo "steaming-up" ecc..

La nostra opinione è che tutto ciò sia necessario, ma non bastevole, in accordo con quanto affermato da Goff e Horst (1997): "L'incapacità di adattamento metabolico alla lattazione può essere inspiegabile oppure essere secondaria alla minore ingestione dovuta a malattie (steatosi, chetosi, mastite, collasso puerperale), a complicazioni durante il parto (distocia e ritenzione di placenta), all'ambiente (stress termico) o a gestione inadeguata (razione scadente)". I primi aspetti sottolineati da Goff e Horst (1997), sono certamente all'origine di rilascio di citochine, per cui si ritorna a quanto detto in precedenza e da noi sostenuto da tempo (Bertoni, 1990). La relazione fra fenomeni di tipo infiammatorio e capacità di ingestione è da tempo nota e recentemente confermata (Trevisi e coll., 2002); abbiamo infatti osservato che, soprattutto nella fase che precede il parto (fig. 10) ed in quella che lo segue immediatamente, le bovine caratterizzate da calo di ingestione hanno mostrato variazioni ematiche tipiche degli stati infiammatori: riduzione dello zinco ed aumento di aptoglobina e ceruloplasmina, pur senza manifestazioni cliniche evidenti. Questi risultati sono molto utili poiché sono sempre stati numerosi i dubbi circa il fatto che siano unicamente motivazioni di capacità fisica a spiegare la non infrequente riduzione di ingestione nel periodo che precede il parto (Park e coll., 2001). Ma soprattutto, se confermati, toglierebbero di mezzo la spesso riconosciuta ineluttabilità al calo di ingestione nelle ultime 2-3 settimane di gravidanza - ritenendolo pari al 30% circa - come paiono fare Bertics e coll. (1992) e Grummer (1995) e come pare confermare Schouvert (2001).

Il medesimo tipo di problema, calo di ingestione nel puerperio per effetto della liberazione di citochine, è ancor più probabile rispetto al pre-parto e le conseguenze per la bovina possono essere ancora più gravi. Non è peraltro facile da documentare perché, salvo gravi problemi, l'animale ha comunque una ingestione in aumento.

Funzionalità epatica

In generale, la funzionalità del fegato non è per sé compromessa nel periodo di asciutta, se si eccettua quanto accade nella fase che già rientra nel "transition period" (ultime 2-3 settimane di gravidanza). Ciò vogliamo evidenziare poiché troppo spesso, a seguito di recrudescenza dei casi di steatosi e/o chetosi nel puerperio, vi è la richiesta di verificare la presenza di anomalie epatiche negli animali in asciutta, specie se tendenzialmente grassi, circostanza che solo raramente si verifica. D'altra parte, Herdt (1988) riporta che la lipidosi ha una evoluzione molto rapida e riporta prove effettuate su pecore che dimostrano come possa essere indotta in circa 48 h. Con riferimento alla bovina nel periparto, è ovvio che lipidosi e/o chetosi siano le cause primarie di minore funzionalità epatica e, per quanto attiene alla prima, ha inizio prima del parto (Herdt, 1988) spesso associata a calo di ingestione di s.s. e forte aumento dei NEFA (Grummer, 1993; Vasquez-Añon e coll., 1994).

In buona sostanza, il 1° giorno dopo il parto (fig. 11) è caratterizzato da lipidosi piuttosto seria (TG oltre il 20% della s.s.) o lieve (TG fra 10 e 20% s.s.) nel 50-60% delle bovine (Grummer, 1993). Per quanto questa lipidosi si sia vista associata a minore ingestione di sostanza secca, non pare proprio che il deficit energetico ne sia una delle cause principali; infatti, già l'innalzamento dei NEFA nel pre-parto è frutto di aumentata sensibilità del t. adiposo agli ormoni lipolitici (catecolamine e GH), come riportato da McNamara (1988) e da noi confermato (Bertoni e coll., 1995).

Ma soprattutto riteniamo utile sottolineare l'osservazione di Young e coll. (1990) riferita alla chetosi clinica, ma che a maggior ragione si attaglia alla lipidosi (che gli stessi autori ritengono precedere la chetosi): "L'idea che un deficit energetico da solo non causi chetosi clinica è supportata dal fatto che, riducendo del 25-50% l'energia ingerita da bovine alla 4-7ª settimana di lattazione, provoca iperchetonemia e non chetosi clinica".

D'altra parte, è sempre stata una nostra personale convinzione (Bertoni, 1990) che le conseguenze del difetto energetico in sé non siano tanto gravi, a differenza di quelle associate ad una alterazione del metabolismo lipidico con chetosi e steatosi come riportato da Watson (1989). Appare a questo punto opportuno richiamare quanto abbiamo avuto recentemente modo di raccogliere in letteratura (Bertoni, 1996), circa le cause di lipidosi epatica della lattifera. Il fenomeno è ritenuto conseguenza della mancata od inadeguata asportazione dei trigliceridi dal fegato, oltre che della minore attività dello stesso. Tale difficoltà nell'asportazione è una caratteristica dei ruminanti (Pullen e coll. 1990) che li differenzia dai monogastrici, come osservato nelle pecore (Herdt e coll. 1988), nelle capre (Kleppe e coll. 1988) e prospettato anche nelle bovine (Grummer, 1993). I trigliceridi sono a loro volta la risultante della riesterificazione dei NEFA provenienti dalla lipomobilizzazione – particolarmente rilevante a partire da fine gravidanza e nelle prime settimane di lattazione (Bertoni e coll. 1995) – che non trovano completa ossidazione nei tessuti periferici e nel fegato. In particolare, secondo Drackley (1999) e Drackley e coll. (2001), ancor più importante sarebbe l'incapacità del fegato di ossidare tali NEFA all'interno dei perossisomi (fig. 12), sede di demolizione del 50% circa dei NEFA e senza l'effetto limitante della carnitina (necessaria per l'enzima carnitina transferasi) come accade per il mitocondrio. Questa ridotta ossidazione condurrebbe inevitabilmente ad una maggiore produzione di trigliceridi (TG) da riversare poi nel sangue, sottoforma di lipoproteine a densità molto bassa (VLDL) (fig. 13), pena l'accumulo nel citoplasma e quindi il rischio di steatosi.

Già a questo stadio, pare utile richiamare il collegamento con l'effetto delle citochine; oltre all'effetto anoressizzante, da cui maggiore mobilizzazione delle riserve, l'aumento dei NEFA sarebbe indotto in maniera diretta per effetto del TNF sulla lipolisi (Vernon e Houseknecht, 2000). Inoltre il TNF sarebbe capace di ridurre l'ossidazione dei NEFA nei perossisomi, mentre quest'ultimo processo, secondo Drackley e coll. (2001), contribuisce a ridurre i NEFA in generale e l'accumulo di corpi chetonici e di trigliceridi – da essi derivati – nel fegato (fig. 12).

Tuttavia, l'aumento dei NEFA e la loro conversione a triglicerdi, ancora non sarebbe sufficiente a giustificare i problemi; infatti, secondo Emery e coll. (1992), la riesterificazione avviene nelle bovine con un ritmo simile a quello di altre specie, assai più limitata sarebbe la velocità con cui i trigliceridi vengono secreti, specie in talune situazioni che portano appunto alla lipidosi (Reid e coll., 1986). In particolare appare pressochè certa una minor produzione di apolipoproteine, specie la apoB-100 e la apo-AI, come osservato da Uchida e coll., (1992) e da Oikawa e coll. (1997) e più recentemente da Bernardini (2002). Questa riduzione della sintesi di frazioni proteiche e di enzimi importanti per il metabolismo lipidico (es. la lecitina colesterolo aciltransferasi), pare verificarsi comunemente nelle prime fasi della lattazione (Uchida e coll., 1995), specie negli animali con lipidosi epatica. Il comportamento sarebbe in accordo con un fenomeno noto da tempo: a fine gravidanza ed inizio lattazione si osserva un calo ematico di colesterolo (Bertoni e coll., 1984), ma anche della vitamina A (Bertoni e coll., 1983; Calamari e coll., 1989) e della vitamina E (Calamari e coll., 1989), vitamine in qualche modo legate ai livelli ematici di lipoproteine.

Il fenomeno della ridotta secrezione delle lipoproteine, che per motivi non ancora chiariti si è detto essere quasi connaturato nei ruminanti, si comporta tuttavia in modo molto diverso negli individui e nelle situazioni, per cui merita di essere esaminato più a fondo ed alla luce di conoscenze relativamente recenti. L'aspetto più interessante è rappresentato da quanto riportato da Reid e coll. (1986): la difficoltà delle bovine al parto nella secrezione epatica delle lipoproteine si accompagna a maggiore frequenza di malattie del puerperio e ad aumento nel sangue delle proteine della fase acuta. In nostre esperienze del passato (Cappa e coll., 1989), si è ugualmente osservato che nelle fasi iniziali della lattazione si verificano variazioni ematiche tipiche della fase acuta (temporanea riduzione della Zn e au-

mento della ceruloplasmina), assai più marcate nelle stalle con problemi (fig. 14); con esse si è significativamente osservata una riduzione più o meno sensibile del colesterolo (lipoproteine) e della vitamina A nel post-partum.

Non pare a questo punto azzardata l'ipotesi che un importante fattore causale della lipidosi sia insito nella minor sintesi epatica di apolipoproteine per effetto di fenomeni che inducono la liberazione di citochine e quindi la cosiddetta risposta di fase acuta. Una relazione fra presenza od aumento di proteine della fase acuta e riduzione delle normali sintesi proteiche, (esempio albumine e Retinol Binding Protein da cui calo della vitamina A, ma anche lipoproteine) era da noi stata avanzata da tempo (Bertoni e coll., 1985; Bertoni e coll., 1986; Bertoni e coll., 1989). Ne è così scaturito l'adattamento della fig. 15, a partire da quella di Cousins (1985), sin dal 1990 (Bertoni, 1990); con essa si tende sostanzialmente ad evidenziare che le citochine (nello specifico la IL-1) provocano una deviazione nella sintesi di proteine da parte del fegato che, pur continuando a funzionare, non produce sufficienti quantità di apolipoproteine accrescendo il rischio di steatosi. Qualcosa di analogo paiono intuire Oikawa e coll., (1997) quando scrivono che "in talune circostanze, un fattore o più fattori diversi dai trigliceridi, NEFA e BOHB (β-idrossibutirrato), paiono ridurre la sintesi di apolipoproteine o la loro secrezione, da cui la conseguente lipidosi epatica associata o meno a chetosi".

In conclusione, volendo limitarci al problema della lipidosi epatica, non è quindi difficile ricondurlo – almeno parzialmente – agli effetti delle citochine se, come pare ampiamente dimostrato, queste causano anoressia, lipolisi, minore degradazione perissosomica dei NEFA e rallentamento nella produzione di lipoproteine.

Attività riproduttiva

Una relazione fra ipofertilità e stato generale di salute, in particolare delle condizioni di tipo infiammatorio, è da tempo oggetto della nostra attenzione (Bertoni, 1990). Tuttavia, solo recentemente vi sono stati specifici riscontri nelle ricerche; così abbiamo mostrato che valori elevati di aptoglobina (proteina della fase acuta) nei primi 15 giorni di lattazione si accompagnano a ritardo nel concepimento, specie nelle bovine ad alta potenzialità genetica (Calamari e coll., 1997). Inoltre, con Trevisi e coll. (1998), abbiamo rilevato che bovine con ridotta attività epatica nel puerperio (bassi albumine, colesterolo e "Retinol Binding Protein" o RBP = vitamina A) sono portatrici di fatti infiammatori (aptoglobina e globuline elevate), mentre denotano un forte calo della efficienza riproduttiva. In via recente (Bertoni e coll., 2001), questi ultimi risultati sono stati confermati su oltre 100 capi appartenenti a 3 allevamenti; in questo caso, per meglio stimare la funzionalità del fegato, è stato individuato un indice della attività epatica (Liver Activity Index = LAI) basato sui livelli ematici di albumine, lipoproteine (colesterolo) e "retinol binding protein" (espresso come vitamina A) nella prime 4 settimane di lattazione. Le bovine con basso valore di LAI hanno avuto un tasso di concepimento inferiore al 1° intervento (37% vs. 61%) rispetto a quelle con LAI elevato, mentre il rapporto salti:concepimenti è stato rispettivamente di 2,1 vs. 1,6; contemporaneamente, cosa non meno interessante, gli indici dei fatti infiammatori (tab. 2) sono risultati più elevati.

Tali indicazioni, ben si associano alla affermazione di Roche e coll. (2000): "una elevata efficienza riproduttiva nelle bovine da latte richiede un periodo di transizione senza malattie"; analogamente Lucy (2001) afferma che: "Studi epidemiologici dimostrano che i parametri di malattia (es. da chetosi, mastite, ritenzione di placenta, ovaie cistiche) hanno un notevole effetto nel ridurre la fertilità rispetto ai parametri di tipo produttivo (quantità di latte, BCS)". D'altro canto, una netta relazione fra malattie metaboliche od infettive del puerperio e ridotta fertilità è stata riscontrata – come riferito nell'introduzione – da Markusfeld e coll.

(1997), Beaudeau e coll. (2000) Jorritsma e coll. (2000), Opsomer e coll. (2000), Schrick e coll. (2001).

Se questo affermano i risultati di tipo epidemiologico, anche ai fini di un più appropriato intervento correttivo, pare utile tentare una miglior definizione dei meccanismi attraverso i quali lo "stress da malattia" incide negativamente sulla fertilità. Verosimilmente sono più d'uno, ma ci pare utile sottolineare e discutere i seguenti effetti delle citochine: l'anoressia con peggioramento del già precario equilibrio energetico-proteico, l'azione diretta sull'apparato riproduttore e l'azione indiretta (mediata soprattutto dal fegato) che si estrinseca ancora sui precedenti apparati: digerente e riproduttore.

Minore ingestione: è ben nota quale causa di accresciuto rischio di deficit energetico-proteico (Butler, 2000; Roche e coll., 2000) e già si è detto dell'influenza negativa delle citochine. Tuttavia esistono anche numerosi lavori che vedono gli eccessi alimentari, soprattutto di proteine, fra le cause di minor efficienza riproduttiva: O'Callaghan e Boland (1999), Butler (2000). Vanno quindi studiati caso per caso.

Azione diretta sull'apparato riproduttore: solo in tempi relativamente recenti si è giunti ad individuare la possibilità di un rapporto diretto fra citochine e riproduzione. Già dalla fig. 15 appare la possibilità che vi possa essere una elevata liberazione di $PGF_{2\alpha}$ con effetto luteolitico; la circostanza non è sorprendente poiché gli eicosanoidi, cui appartengono le prostaglandine, sono liberati per effetto delle citochine. Una ulteriore possibilità di intervento delle citochine è quella evidenziata da Trevisi e coll. (1996): le endotossine possono determinare uno "spike" di progesterone (surrenalico) e ciò può modificare il prosieguo dello stesso ciclo estrale. Infine, studi più recenti, dimostrano che, soprattutto l'IL-1, provoca un improvviso rilascio di LH e questo può interferire con la normale pulsatilità dell'LH, quindi con la funzionalità ovarica (Braden e coll., 1998). Ancora più recenti gli studi di Suzuki e coll. (2001) secondo cui le endotossine provocano, nella fase di proestro, un minore innalzamento di 17β estradiolo ritardando il picco di LH e l'ovulazione (l'azione sarebbe sia a livello ipofisario che ovarico).

Azione indiretta: danni epatici: abbiamo in precedenza illustrato i modi con cui le citochine possono essere causa di "disturbi" epatici ed in particolare di accumulo di TG, quindi di steatosi. Insieme all'aumento di NEFA con la lipolisi, ne riducono l'ossidazione ed ugualmente impediscono il rilascio dei trigliceridi in forma di lipoproteine, il loro conseguente accumulo nel fegato non costituisce inizialmente un problema serio, ma lo diviene oltre il 15-20% poiché rallenta molti processi tipici dell'organo; secondo Overton e Piepenbrink (2001), tale accumulo riduce l'ureagenesi (Strang e coll., 1998) e quindi la capacità gluconeogenetica, inoltre causa minore ingestione e produzione di latte, mentre aumenta l'incidenza di malattie da cui ridotta fertilità. L'intervento sul digerente è evidente, nota essendo l'importanza del fegato nei processi digestivi e metabolici; per contro, il meccanismo con cui la lipidosi si ripercuote sulla riproduzione non è per nulla chiaro (ancorché evidente), come concludono Rukkwamsuk e coll. (1999) e Rukkwamsuk e coll. (1999), se cioè siano i NEFA, i corpi chetonici o il malfunzionamento epatico. Così stando le cose, per evitare i problemi epatici al parto, non ci si può limitare ad assicurare la buona disponibilità – pure importante - di carnitina e di fattori lipotropi (metionina, colina, betaina), nonché di energia e proteine nei modi dovuti. Essenziale sarà infatti agire al fine di prevenire o contenere gli effetti delle citochine (fig. 6).

Considerazioni conclusive

Alla luce di quanto precedentemente esposto, pare più agevole tentare l'individuazione di un nesso, sia pure caratterizzato da una molteplicità di implicazioni, fra le "malattie" occorrenti nel peri-parto e la riduzione dell'attività riproduttiva. Infatti, le citochine liberate

dalle cellule del sistema immunitario e finalizzate ad una reciproca azione di coordinamento, nonché a determinare i processi infiammatori e metabolici utili a contrastare i patogeni, hanno in sé un paradosso: sono i principali mediatori dei processi patologici che accompagnano le infezioni (Riollet e coll., 2000). Fra queste conseguenze negative in precedenza richiamate (tab. 1) e con particolare riferimento alla fertilità (fig. 16), troviamo:

a) la riduzione di appetito che ha rilevanza soprattutto in prossimità del parto (prima e dopo). Merita quindi approfondimento l'opinione assai diffusa (Schouvert, 2001) e tratta da prove sperimentali (Grummer e coll., 1995), secondo cui il calo di ingestione nelle 2-3 settimane terminali di gravidanza sia ineluttabile. Una maggiore attenzione a questi fatti (infiammatori), come si dirà poi, potrebbe infatti ridurre l'incidenza del fenomeno con non poco vantaggio per una "partenza pronta" della bovina dopo il parto;
b) la predisposizione a fenomeni di lipidosi epatica legati da un lato al maggior rilascio e dall'altro alla minore ossidazione dei NEFA, di qui accresciuta disponibilità per il processo di esterificazione con sovrabbondanza di TG; fondamentale è tuttavia la minor produzione di apolipoproteine, e quindi di VLDL, l'unico mezzo per sottrarre al fegato i TG formatisi. Il conseguente accumulo dei TG (lipidosi o steatosi), ha poi varie conseguenze negative, fra cui la minor produzione di urea con accumulo di ammoniaca e minor formazione di glucosio dagli aminoacidi, per cui si complica il metabolismo lipidico e si accresce la lipolisi (circolo vizioso);
c) la compromissione dell'attività riproduttiva sia quale conseguenza dei predetti fenomeni (aggravamento dello squilibrio energetico-proteico) e sia per un effetto diretto delle citochine (e/o eicosanoidi) nel determinare luteolisi, variazioni "erratiche" di progesterone ed LH, ecc.

Per concludere, appare così inevitabile il richiamo a due importanti strumenti atti a ridurre gli effetti dello stress da malattia: prevenirne le cause (cioè le malattie) e modulare la risposta del sistema immunitario.

In sintesi, prevenire le cause significa:

- escludere per quanto possibile i fatti infettivi operando sul piano dell'igiene in ogni fase e soprattutto nel puerperio, delle vaccinazioni e della ottimizzazione del sistema immunitario (meno stress e corretta alimentazione anche per vitamine ed oligoelementi, nonchè alcuni aminoacidi quali glutamina, arginina e solforati);
- evitare le cause di ferite e/o traumi quali sporgenze metalliche, cemento con spigoli vivi, dimensioni inadeguate di cuccette, corridoi ecc., eccessivo affollamento, inadeguata distribuzione degli alimenti o dei punti abbeverata che provocano accentuata competizione. In particolare, ogni cura va rivolta a non avere lesioni agli arti (corretto pareggiamento unghioni alla messa in asciutta e comunque cura tempestiva dei fatti manifesti) e traumilesioni al parto scegliendo tori con vitelli "piccoli", favorendo una buona preparazione al parto ed operando per un parto spontaneo nei limiti del possibile;
- assicurare l'ottimale funzionamento dell'apparato digerente, sia a livello del rumine che del grosso intestino poiché microlesioni – a volte favorite dalla silice e complessi lignocellulosici di taluni alimenti (Klasing, 2000) – nella parete e l'abbondanza di microbi produttori di endotossine possono portare ad un loro assorbimento con l'avvio del ciclo perverso delle citochine pro-infiammatorie. Oltre ai tamponi, pure importanti possono essere i probiotici (e/o i prebiotici), quali i lieviti, per migliorare la micropopolazione "positiva" di cui è nota la cooperazione con la mucosa nel formare la barriera intestinale;
- benché meno frequenti, anche gli eccessi termici e talune sostanze tossiche da inquinamento possono provocare nuclei di avvio dei fenomeni di tipo infiammatorio (in genere dando origine a problemi di stress ossidativo, per cui una corretta alimentazione per fornire vitamine, oligoelementi, aminoacidi ecc. implicati nei processi antiossidanti sarà quanto mai opportuna).

Assai meno noto è l'argomento relativo alla modulazione del sistema immunitario, vuoi perché di acquisizione assai più recente e vuoi perché implica interventi non convenzionali. In linea di massima si tratta di agire anzitutto per ottimizzarlo con gli interventi manageriali, in particolare alimentari, di cui già si è detto. Per il futuro non potranno tuttavia mancare interventi rivolti a ridurre per quanto possibile la risposta immunitaria (o meglio quella infiammatoria), agendo:

- sui meccanismi genetici (fig. 6);
- sulla composizione delle membrane cellulari e quindi sul tipo di eicosanoidi prodotti (es. uso di ω_3 per ridurre il rapporto con gli ω_6/ω_3);
- attenuare i processi ossidativi, anche agendo sul livello energetico (meno carboidrati?), in particolare durante l'asciutta;
- approfittando della cosiddetta "refrattarietà" temporanea alle endotossine?
  Al riguardo serve tuttavia nuova attività di ricerca e sperimentazione.

Tab. 1 – Azioni della risposta delle citochine all'infezione e alle endotossine per modificare ed alterare i processi metabolici (Elsasser e coll., 2000)

Promuovono	**Depressione o alterazione**
Rimodellamento di cartilagini ed ossa	Produzione di cartilagini e allungamento delle ossa lunghe
Attività osteoclasti	Attività osteoblasti
Ipocalcemia	Ematopoiesi
Risposta infiammatoria via:	Numero cellule progenitrici/stromali di T-, B
Risposta di macrofagi, cellule di Kupffer e tessuti locali	
Inizio della cascata citochine-acido arachidonico	
Rimodellamento tissutale e sostituzione del tessuto senescente	Miogenesi
Apoptosi	Rilascio ipofisario di GH (specie specifico)
Sintesi epatica proteine della fase acuta	Ingestione alimentare volontaria
Generazione di ossido, superossido e perossido nitrico	Metabolismo energetico per la crescita e la lattazione
Febbre/rilascio dei pirogeni endogeni	Sintesi delle proteine muscoli scheletrici
Protezione antivirale/antiparassitaria	Ferro e zinco nel plasma
Secrezione ACTH/glucocorticoidi	Anabolismo
Ridistribuzione della priorità ematica degli organi	Meccanismi di traduzione attraverso messaggero secondario e terziario tessuto specifico
Glicogenolisi	Accumulo di grasso
Metabolismo energetico per la risposta Febbrile (catabolismo)	
Flusso aminoacidico transmembranario in tessuti specifici	

Tab. 2 – Andamento di alcuni parametri ematici nel 1° mese di lattazione di bovine con attività epatica diversa in relazione a fatti infiammatori (Bertoni e Trevisi, 2001)

Giorni lattazione / Parametro	Buona funzionalità epatica (n° 28)			Precaria funzionalità epatica (n° 38)		
	7	14	28	7	14	28
Albumine (g/l)	33,7	34,4	35,3	30,5	30,5	31,9
Colesterolo (mmol/l)	2,62	3,67	5,19	2,12	2,88	4,06
Vitamina A (µg/100 ml)	39,5	55,3	68,7	25,7	36,8	54,2
Aptoglobina (g/l)	0,46	0,26	0,28	0,78	0,35	0,31
Globuline (g/l)	35,9	37,5	38,7	41,8	44,6	45,7
Ceruloplasmina (µmol/l)	2,72	2,56	2,30	2,98	2,75	2,56

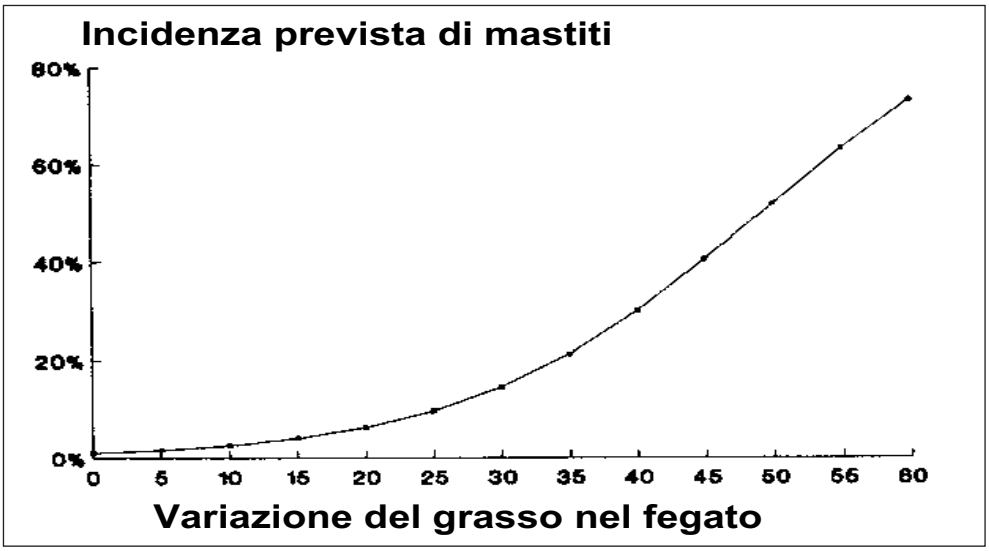

Fig. 1 - Effetto della variazione del grasso nel fegato (%), da 2 settimane nel pre-parto a 2 settimane nel postpartum, sull'incidenza delle mastiti entro trenta giorni dal parto (Curtis, 1989).

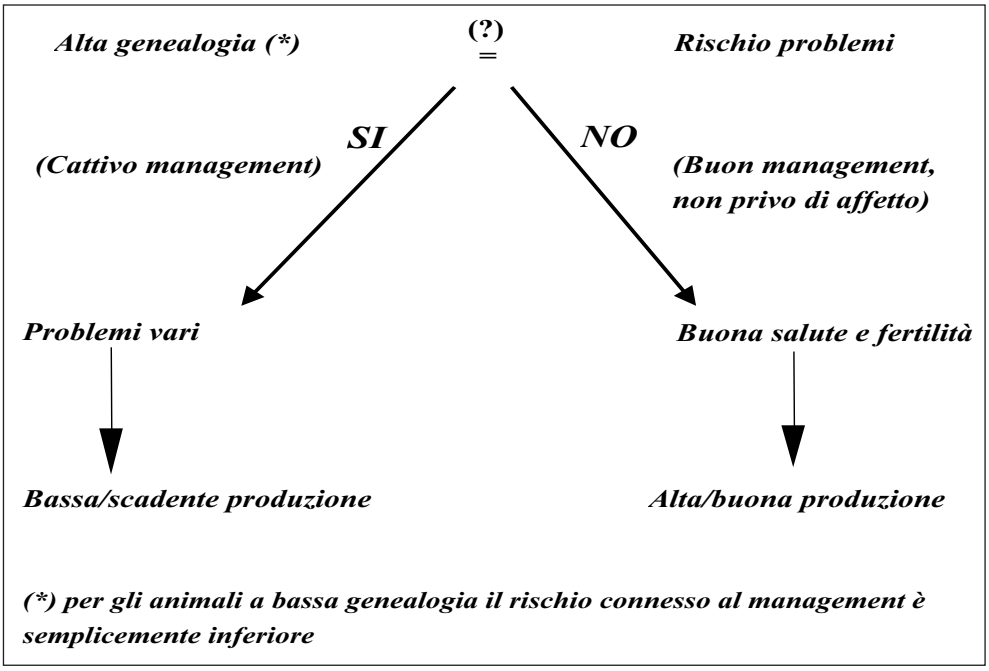

Fig. 2 – Relazione fra potenzialità genetica e management nel condizionare lo stato di salute, la produzione e la qualità del latte (Bertoni, 1996).

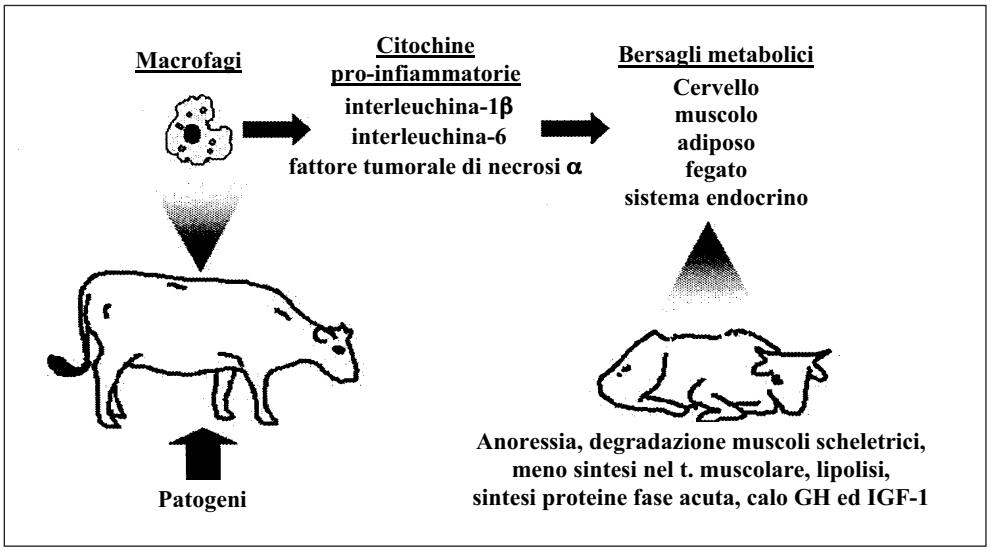

Fig. 3 - I patogeni attivano le cellule del s. immunitario, provocando la liberazione di citochine pro-infiammatorie. Le citochine mediano la risposta immunitaria, ma agiscono anche su altri sistemi che modificano il metabolismo (Johnson e Finck, 2001).

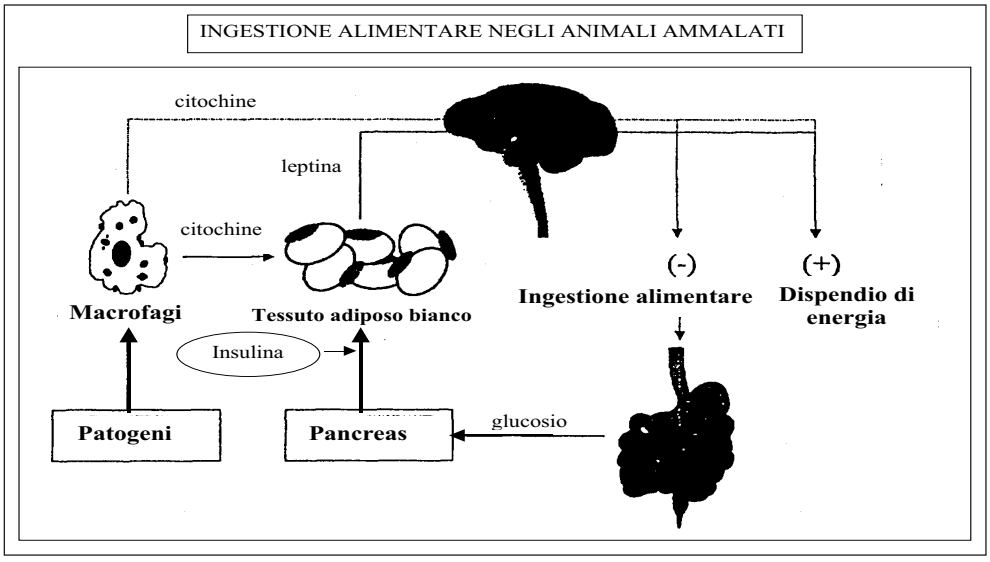

Fig. 4 – Le citochine agiscono indirettamente sul cervello per ridurre l'apporto alimentare ed aumentare l'utilizzo di energia, ma possono indurre effetti analoghi modulando indirettamente altri sistemi fisiologici. Studi recenti dimostrano che le citochine infiammatorie inducono la secrezione di leptina, un fattore che agisce centralmente per ridurre l'apporto alimentare ed aumentare l'utilizzo di energia. Perciò l'attività del sistema immunitario e il bilancio energetico possono essere associati alla leptina (Johnson, 1998).

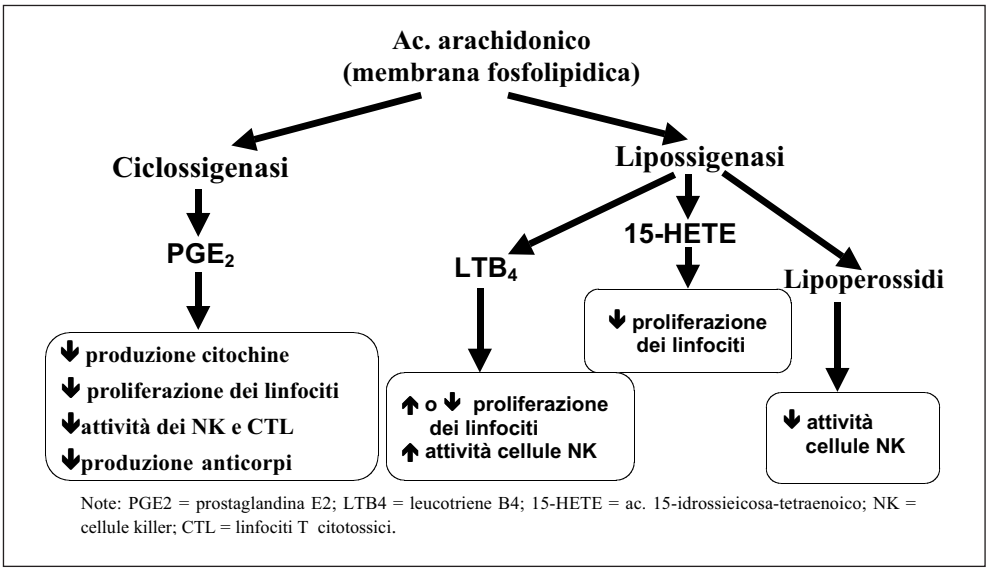

Fig. 5 - Regolazione dell'attivita' delle cellule del sistema immunitario da parte degli eicosanoidi (Calder, 1996).

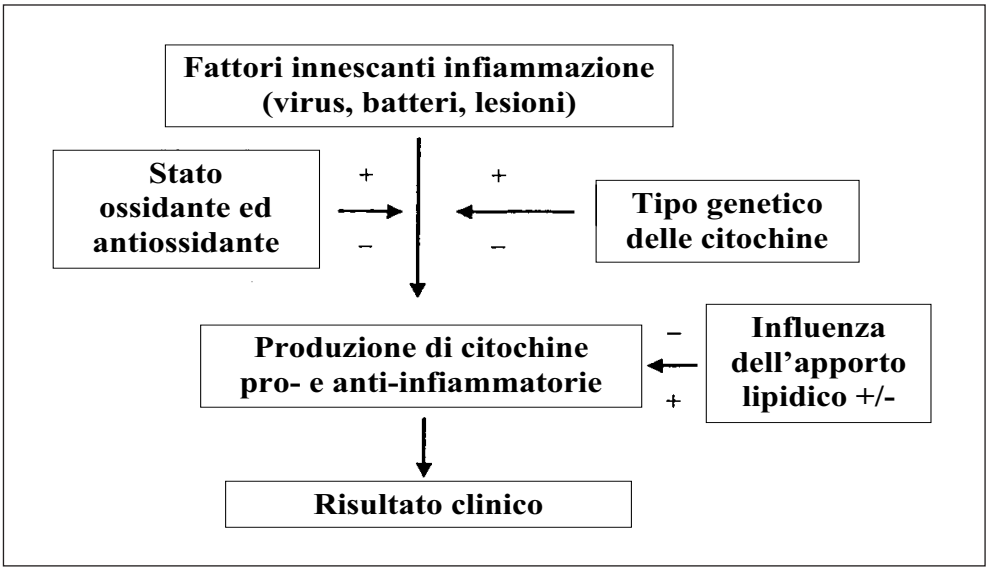

Fig. 6 - Rassegna delle influenze nutrizionali e genetiche sulla produzione di citochine e sui risultati clinici. +, effetto stimolante; - , effetto inibitorio (Grimble, 2001).

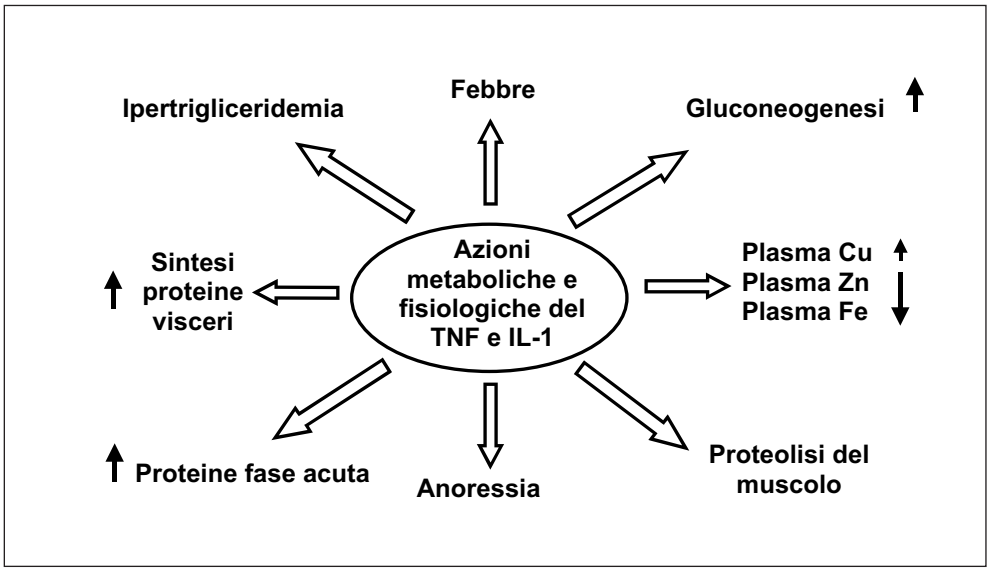

Fig. 7 - Gli effetti metabolici delle citochine pro-infiammatorie. IL-1, interleuchina-1, TNF fattore-α tumorale di necrosi (Grimble, 1998).

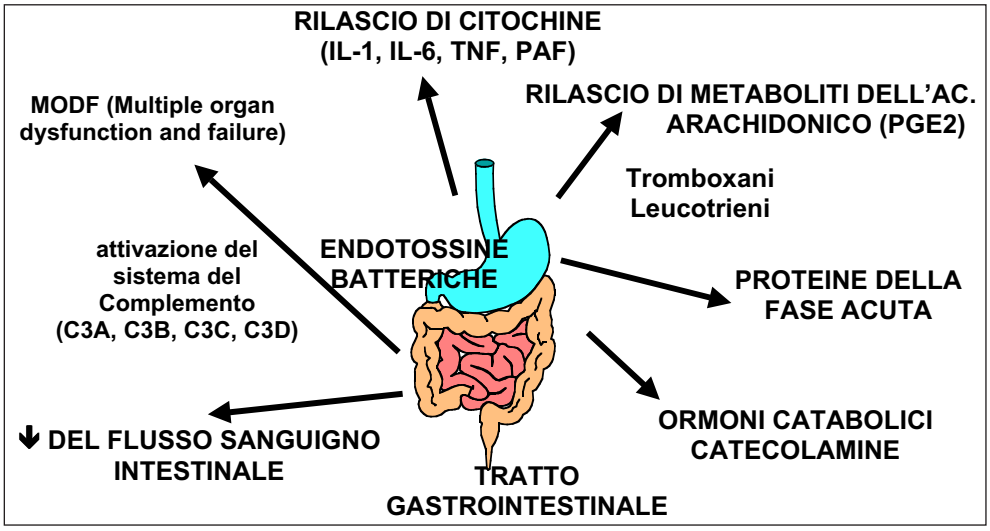

Fig. 8 - Varie malattie comportano la compromissione della funzione di barriera della mucosa intestinale (Rowlands & Gardiner, 1998).
(C3A-D=componenti del sistema del Complemento, IL=interleuchina, PAF=fattore di attivazione delle piastrine, PG=prostaglandina, TNF=fattore tumorale di necrosi).

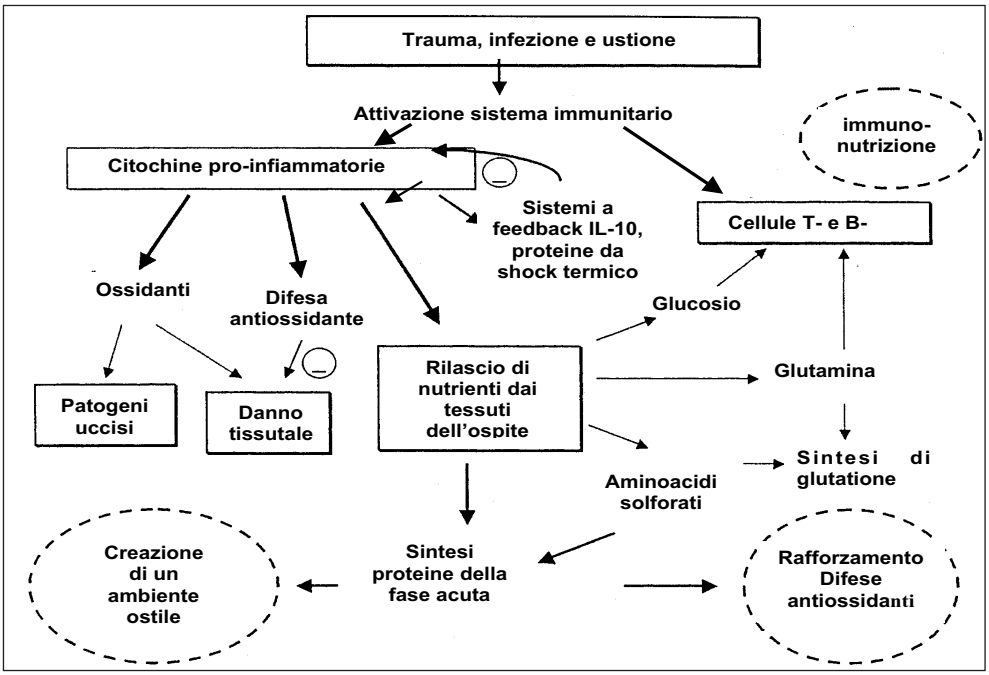

Fig. 9 – Schema che mostra le caratteristiche chiave della risposta immunitaria e metabolica alle ferite e all'infezione (–), un'influenza inibitoria; IL, interleukina. (Grimble, 2001).

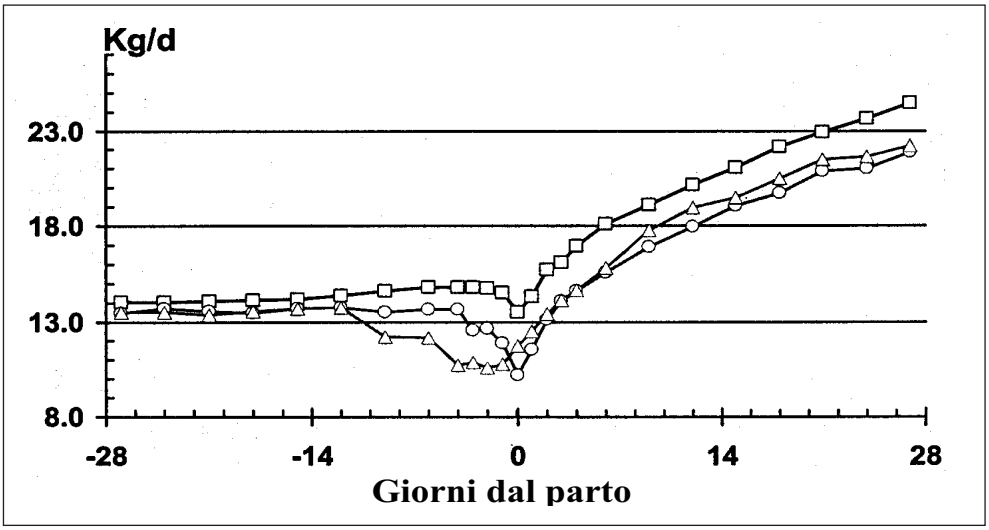

Fig. 10 – Variazioni ingestione di s.s. nel periodo di transizione di bovine che hanno avuto aumento nel plasma di proteine della fase acuta a 5-10 giorni pre (**Δ**), a 2-5 giorni pre (**O**) o solo nel post partum (❑) (Trevisi e coll., 2002).

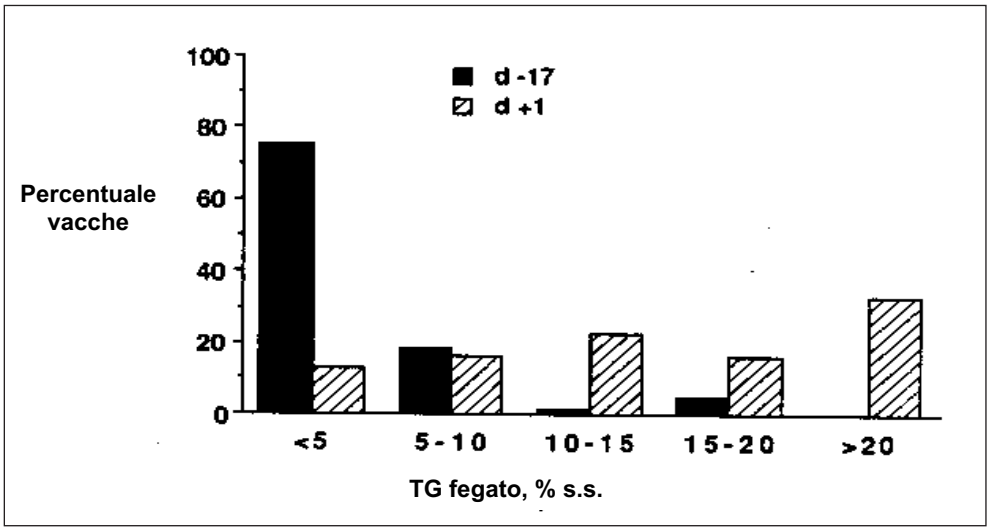

Fig. 11 - Distribuzione dei trigliceridi nel fegato (TG), in % della s.s. a 17 giorni pre-parto e a 1 giorno dopo il parto, ottenuta da 61 pluripare Holstein sottoposte a trattamento controllato (Grummer, 1993).

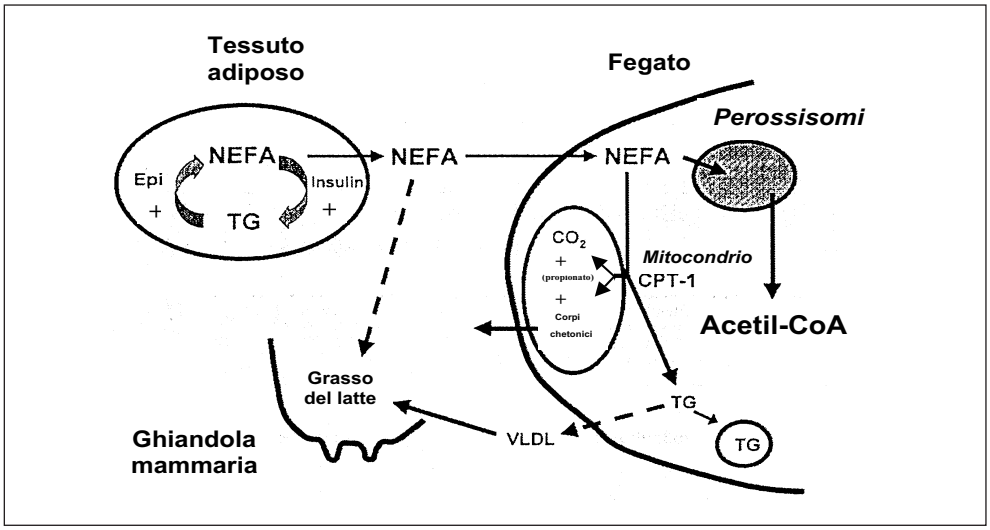

Fig. 12 – Rappresentazione schematica delle relazioni fra metabolismo lipidico nel tessuto adiposo, fegato e ghiandola mammaria. I segni più (+) indicano gli effetti stimolatori, i segni meno (-) indicano gli effetti inibitori. Le linee tratteggiate indicano i processi che avvengono a bassi livelli o solo nell'ambito di certi stati fisiologici. Le abbreviazioni: epi = adrenalina, TG = trigliceridi, VLDL = lipoproteine a bassissima densità, CPT-1 = carnitin palmitoil transferasi 1 (Drackley, 1999).

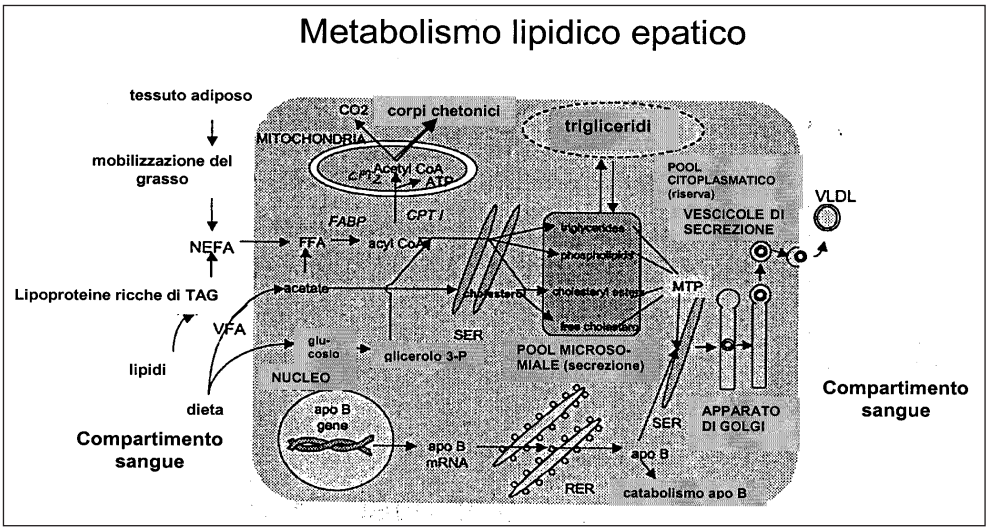

Fig. 13 – Schema del metabolismo lipidico epatico dei ruminanti (Overton e Piepenbrink, 2001).

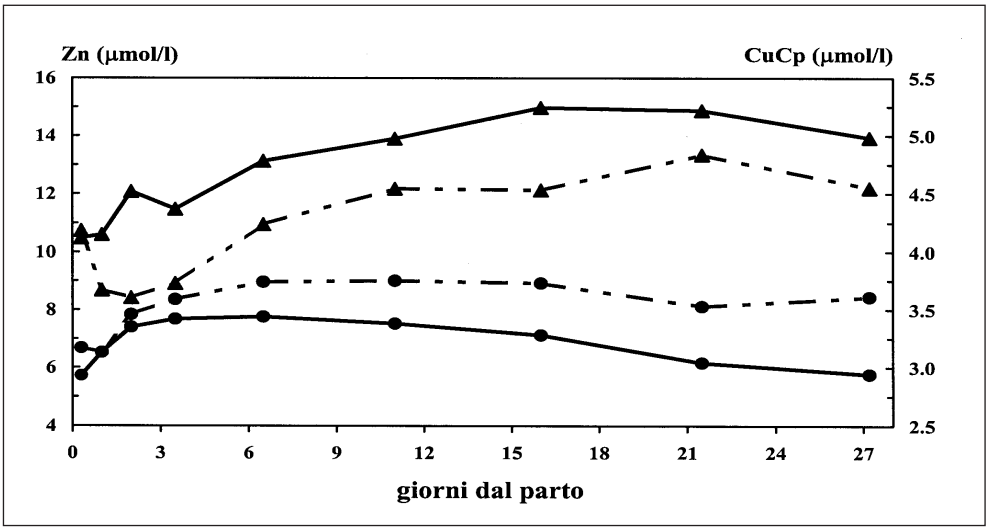

Fig. 14 – Andamento di zinco = Zn (Δ) e ceruloplasmina = CuCp (•) in bovine di stalle con (————————) e senza (– – – – – – – – – –) problemi importanti nel puerperio (Cappa e coll., 1989).

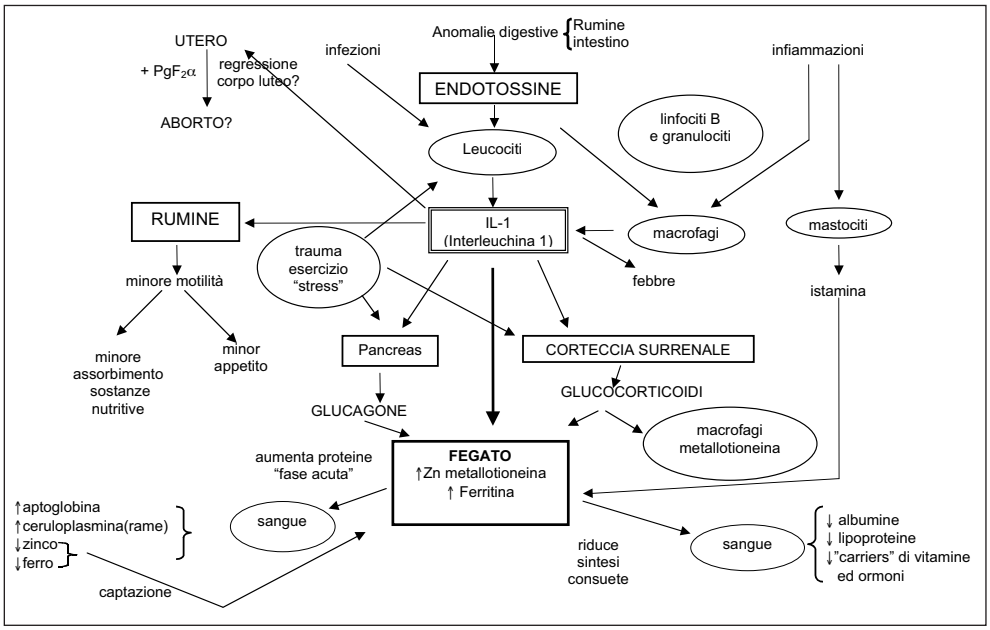

Fig. 15 - Tentativo di illustrare i principali effetti indiretti delle endotossine e di altre cause di attivazione del sistema immunitario con formazione di citochine (Cousins, 1985, modificata).

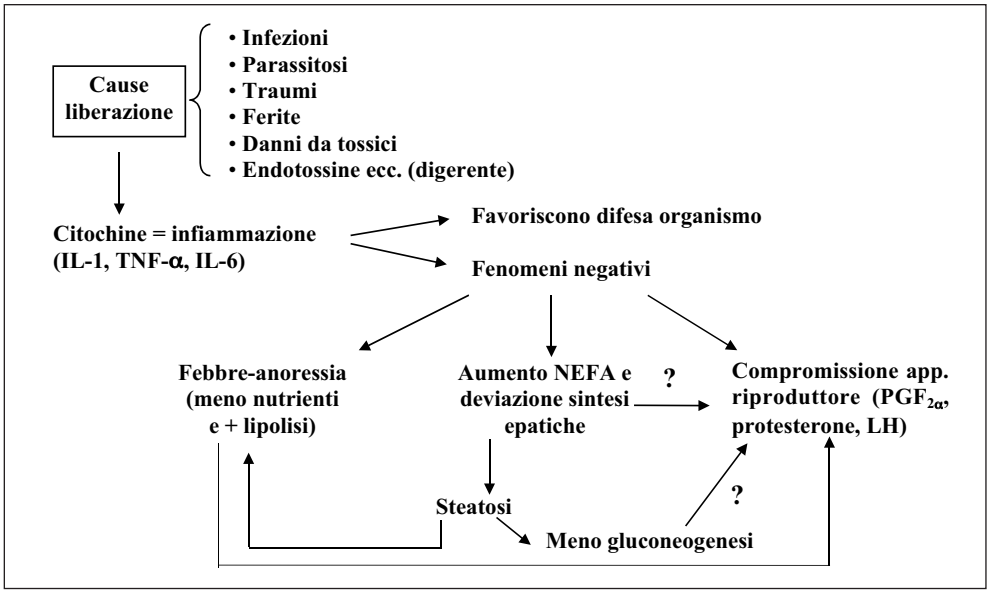

Fig. 16 – Riassunto delle cause di liberazione delle citochine e dei possibili meccanismi con cui compromettono produzione e fertilità.

BIBLIOGRAFIA

1) Alexander J.W. (1998) - *Bacterial traslocation during enteral and parenteral nutrition*. Proceedings of the Nutrition Society, 57, 389-393.

2) Alsemgoest S.P., Tverne M.A.M., Boosman R., Van der Weyden B.C., Gruys E. (1993) - *Peripartum acute-phase protein serum amyloid-A concentration in plasma of cows and fetuses*. American Journal of Veterinary Research, 54, 164-167.

3) Beaudeau F., Seegers H., Ducrocq V., Fourichon C., Bareille N., (2000) - *Effect of health disorders on culling in diary cows: a review and a critical discussion*. Ann. Zootech, 49, 293-311.

4) Bernabucci U., Scalia D., Franci O., Ronchi B., Nardone A., Lacetera N. (2002) - *Effects of nonesterified fatty acids on lymphocyte functions* in dairy heifers Journal of Animal Science, 80 (Suppl. 1) J. Dairy Sci., 85 (Suppl. 1), 189 (abs).

5) Bernardini D. (2002) – Comunicazione personale.

6) Bertics S.J., Grummer R.R., Cardoniga-Valiño C., Stoddard E.E. (1992) - *Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration in early lactation*. J. Dairy Sci, 75, 1914-1922.

7) Bertoni G. (1979) - *Alimentazione delle bovine in asciutta*. Agricoltura Ricerca, 2, 50-56.

8) Bertoni G. (1990) - *Recenti acquisizioni sulla ipofertilità della bovina da latte*. L'Informatore Agrario, 46 (4), 35-39; (6) 89-94; (8) 73-84.

9) Bertoni G. (1996) - *Rapporto fra parametri della qualità del latte, la produttività e lo stato di salute delle bovine*. Bollettino dell'Agricoltura, Atti Soc. Agraria Lombardia, 135, 39-59. L'Allevatore, 52 (7-8), 14-16.

10) Bertoni G. (1996) - *La lipidosi epatica nella bovina lattifera: aspetti nutrizionali*. Atti Soc. Ital. Buiatria, 28, 61-75.

11) Bertoni G., Calamari L. (1996) - *Compromissione della capacità riproduttiva delle bovine da latte da squilibrio energetico e stress da malattia*. In: Enne G., Rossi G. (eds.) "La riproduzione in zootecnia", volume secondo, RAIZ, 181-189.

12) Bertoni G., Calamari L., Cappa V. (1986) - *The diagnostic meaning of blood variation of ceruloplasmin and zinc in the ruminants*. Proc. IVth Int. Symp. Vet. Labor. Diagn., Amsterdam, 136-139.

13) Bertoni G., Calamari L., Maianti M.G., Cappa V. (1997) - *Factors others then milk yield that affect the reproductive traits of dairy cows*. Livestock Production Science (1997) 50, 99-100.

14) Bertoni G., Calamari L., Trevisi E. (2000) - *Alterazioni della funzionalità epatica nel puerperio e conseguenze sulla fertilità della bovina*. RAIZ, La riproduzione in zootecnia, Volume terzo, G. Enne, G. Rossi, p. 195-208.

15) Bertoni G., Lombardelli R., Cappa V. (1995) - *Variazioni di alcuni metaboliti ed ormoni nel corso della giornata e in fasi fisiologiche diverse in bovine da latte*. Zoot. Nutr. Anim. 21, 271-283.

16) Bertoni G., Maianti M.G., Cappa V. (1983) - *Ricerche sui rapporti fra metabolismo lipidico e variazioni dei tassi ematici di vitamina A, caroteni e colesterolo*. Atti V Congr. Naz. A.S.P.A., 537-543.

17) Bertoni G., Maianti M.G., Cappa V. (1984) - *Variazioni nel metabolismo lipidico e glucidico nelle fasi terminali della gravidanza ed iniziali della lattazione nelle bovine*. Atti Soc. Ital. Buiatria, 16, 223-236.

18) Bertoni G., Maianti M.G., Cappa V. (1985) - *Ricerche sui rapporti fra tenori ematici ed epatici di vitamina A, caroteni ed alcuni oligoelementi nelle lattifere*. Atti S.I.B.C.A., 1, 128-133.

19) Bertoni G., Piccioli Cappelli F., Calamari L., Trevisi E. (1989) - *Digestive upsets of ruminants: possible role of endotoxins and/or histamine*. Proc. VIIth Conf. «Production disease in farm animals (New York)», 370-373.

20) Bertoni G., Trevisi E., Han X.T. (2001) - *Relationship between the liver activity in the puerperium and fertility in dairy cows*. 52th Annual Meeting of E.A.A.P. (European Association for Animal Production), Budapest, Hungary, 26-29 August 2001, 189.

21) Bondurant R.H. (2001) - *Inflammation in the bovine female reproductive tract*. J. Anim. Sci., 77 (Suppl. 2):101-110.

22) Braden T.D., Fry C., Sartin J.L. (1998). *Effects of interleukins on secretion on luteinizing hormone from ovine pituitary cells*. Am. J. Vet. Res. 59: 1488-1493.

23) BSAS (1999) - *Metabolic stress in dairy cows*. Occasional Publication n° 24 (British Society of Animal Science).

24) Burton J.L., Weber P.S.D., Madesen S.A., Coussens P.M. (2001) - *Immunogenomics and the periparturient dairy cow: letting leukocytes tell us their own story about disease susceptibility*. ADSA Symposium on the genetics of disease resistance (in stampa).

25) Butler W.R. (1998) - *Effects of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle*. J. Dairy Sci., 81: 2533-2539.

26) Butler W.R. (2000) - *Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle*. Animal Reproduction Science, 60-61: 449-457.

27) Calamari L., Bertoni G., Maianti M.G., Cappa V. (1989) - *Sulla utilità di nuovi parametri ematochimici nella valutazione del profilo metabolico delle lattifere*. Zoot. Nutr. Anim., 15, 191-210.

28) Calamari L., Maianti M.G., Bertoni G. (1997) - *Relazioni fra potenzialità produttiva, problemi nel puerperio e fertilità nella vacca da latte*. 9° Meeting Nazionale "Studio dell'efficienza riproduttiva degli animali di interesse zootecnico", Bergamo, 16 maggio 1997: 99-103.

29) Calder P.C. (1996). *Effects of fatty acids and dietary lipids on cells of the immune system*. Proceedings of the Nutrition Society. 55: 127-150.

30) Cappa V., Trevisi E., Bertoni G. (1989) - *Variazioni ematiche nel 1° mese di lattazione in bovine di allevamenti con o senza problemi «post-partum»*. Zoot. Nutr. Anim., 15, 645-660.

31) Cousins R.J. (1985). - *Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: sèecial reference to metallothionein and ceruloplasmin*. Physiol. Rev., 65: 238-309.

32) Curtis C. (1989) - *The marriage of epidemiological and experimental research: a unified approach to the study of production diseases*. Proceedings 7th International Conference on Production Disease in Farm Animal, Cornell University, Ithaca, 25-27 July: 74-87.

33) Detilleux J.C., Koehler K.J., Freeman A.E., Kehrli M.E., Jr., Kelley D.H. (1994) - *Immunological parameters of periparturient Holstein cattle: genetic variation*. J. Dairy Sci. 77: 2640-2650.

34) Drackley J.K. (1999) - *Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier?* J. Dairy Sci, 82: 2259-2273.

35) Drackley J.K., Overton T.R., Douglas G.N. (2001) - *Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period*. J. Dairy Sci, 84 (E Suppl.): 110-112.

36) Elsasser T.H., Kahl S., Steele N.C., Rumsey T.S. (1997) - *Nutritional modulation of somatotropic axis-cytokine relationships in cattle: a brief review*. Comp. Biochem. Physiol. 116A(3):209-221.

37) Elsasser T.H., Klasing K.C., Filipov N., Thompson F. (2000) - *The metabolic consequences of stress: targets for stress and priorities of nutrient use*. In "The biology of animal stress. Basic principles and implications for animal welfare", edited by G.P. Moberg and J.A. Mench, CABI Publishing: 77-110.

38) Emery R.S., Liesman J.S., Herdt T.H. (1992) - *Metabolism of long-chain fatty acids by ruminant liver*. J. Nutr. 122 :832-827.

39) Erb H.N., Gröhn Y.T. (1988) - *Epidemiology of metabolic disorders in the periparturient dairy cow*. J. Dairy Sci., 71:2557-2571.

40) Galimberti A., Maianti M.G., Bertoni G. (1978) - *Ricerche sulle variazioni dei tenori di vitamina «A» nel sangue e nel latte di bovine in diverse condizioni fisiologiche ed alimentari*. Ann. Fac. Agr. (Piacenza) U.C.S.C., 18: 259-268.

41) Gillund P., Reksen O., Gröhn Y.T., Karlberg K. (2001) - *Body condition related to ketosis and reproductive performance in Norwegian dairy cows*. J. Dairy Sci., 84: 1390-1396.

42) Goff J.P., Horst R.L. (1997) - *Physiological changes at parturition and their relationships to metabolic disorders*. J. Dairy Sci. 80: 1260-1268.

43) Grimble R.F. (1998) - *Dietary lipids and the inflammatory response*. Proceedings of the Nutrition Society, 57: 535-542.

44) Grimble R.F. (2001) - *Nutritional modulation of immune function*. Proceedings of the Nutrition Society, 60: 389-397.

45) Grummer R.R. (1993) - *Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows*. J. Dairy Sci., 76: 3882-3896.

46) Grummer R.R. (1995) - *Impact of changes in organic nutrient metabolism of feeding the transition dairy cow*. J. Anim. Sci. 73: 2820.

47) Grummer R.R., Hoffman P.C., Luck M.L., Bertics S.J. (1995) - *Effect of prepartum and postpartum dietary energy on growth and lactation of primiparous cows*. J. Dairy Sci. 78:172-180.

48) Herdt T.H. (1988) - *Fatty liver in dairy cows. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 4(2):269-287.

49) Herdt T.H., Wensing T., Haagsman H.P., van Golde L.M.G., Breukink H.J. (1988) - *Hepatic triacylglycerol synthesis during a period of fatty liver development in sheep*. J. Anim. Sci., 66:1997-2013.

50) Johnson R.W. (1998) - *Immune and endocrine regulation of food intake in sick animals*. Domestic animal endocrinology, 15(5):309-319.

51) Johnson R.W., Finck B.N. (2001) - *Tumor necrosis factor a and leptin: two players in an animal's metabolic and immunologic responses to infection*. J. Anim. Sci., 79 (E. Suppl.): E118-E127.

52) Jorritsma R., Jorritsma H., Schukken Y.H., Wentik G.H. (2000) - *Relationship between fatty liver and fertility and some periparturient diseases in commercial Dutch dairy herds*. Theriogenology, 54:1065-1074.

53) Kehrli M.E., Jr., Nonnecke B.J., Roth J.A. (1989a) - *Alterations in bovine lymphocyte function during the periparturient period*. Am. J. Vet. Res. 50: 215-220.

54) Kehrli M.E., Jr., Nonnecke B.J., Roth J.A. (1989b) - *Alterations in bovine neutrophil function during the periparturient period*. Am. J. Vet. Res. 50: 207-214.

55) Klasing K.C. (2000). *Dietary approaches to protecting animal health*. Agenda 2000: The Food Revolution. Alltech's European, Middle Eastern and African Lecture Tour 2000. 9-19.

56) Kleppe B.B., Aiello R.J., Grummer R.R., Armetano L.E. (1988) - *Triglyceride accumulation and very low density lipoprotein secretion by rat and goat hepatocytes in vitro*. J. Dairy Sci. 71: 1813.

57) Knight C.H., Beever D.E., Sorensen A. (1999) - *Metabolic loads to be expected from different genotypes under different systems*. In Metabolic stress in dairy cows, British Society of Animal Science, Occasional publication n° 24: 27-35.

58) Lacetera N., Franci O., Scalia D., Bernabucci U., Ronchi B., Nardone A. (2002) - *Effects of nonesterified fatty acids and b-hydroxybutyrate on functions of mononuclear cells obtained from ewes*. American Journal of Veterinary Research, 63 (3): 414-418.

59) Lucy M.C. (2001) - *Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end?* J. Dairy Sci, 84: 1277-1293.

60) Lucy M.C., Jiang H., Kobayashi Y. (2001) - *Changes in the somatotrophic axis associated with the initiation of lactation*. J. Dairy Sci., 84 (E. Suppl.): 113-119

61) Markusfeld O., Galon N., Ezra E. (1997) - *Body condition score, health, yield and fertility in dairy cows*. Vet. Rec. 141: 67-72.

62) McNamara J.P. (1988) - *Regulation of bovine adipose tissue metabolism during lactation. 4 dose-responsiveness to epinephrine as altered by stage of lactation*. J. Dairy Sci. 71: 643.

63) O'Callaghan D., Boland M.P. (1999) - *Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants*. Animal Science, 68:299-314.

64) Oikawa S., Katoh N., Kawawa F., Ono Y. (1997) - *Decreased serum apolipoprotein B-100 and A-I concentrations in cows with ketosis and left displacement of the abomasum*. AJVR, 58(2):121-125.

65) Opsomer G., Gröhn Y.T., Hertl J., Coryn M., Deluyker H., de Kruif A. (2000) - *Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study*. Theriogenology, 53:841-857.

66) Overton T.R., Piepenbrink M.S. (2001) - *Liver metabolism and the transition cow*. Comunicazione personale.

67) Park A.F., Shirley J.E., DeFrain J.M., Titgemeyer E.C., Ferdinand E.E., Cochran R.C., Schmidt D.G., Ives S.E., Nagaraja T.G. (2001) - *Changes in rumen capacity during the periparturient period in dairy cows*. J. Dairy Sci., 84(Suppl. 1):82.

68) Perkins K.H., VandeHaar M.J., Tempelman R.J., Burton J.L. (2001) - *Negative energy balance does not decrease expression of leukocyte adhesion or antigen-presenting molecules in cattle*. J. Dairy Sci., 84: 421-428.

69) Persson Waller K. (2000) - *Mammary gland immunology around parturition. Influence of stress, nutrition and genetics*. Biology of the mammary gland (edited by J.A. Mol, R.A. Clegg), Kluwer Academic/Plenum Publishers: 231-245.

70) Pond C.M., Newsholme E.A. (1999) - *Coping with metabolic stress in wild and domesticated animals*. Metabolic stress in dairy cows, British Society of Animal Science, Occasional publication n° 24: 9-20.

71) Pryce J.E., Coffey M.P., Simm G. (2001) - *The relationship between body condition score and reproductive performance*. J. Dairy Sci., 84: 1508-1515.

72) Pullen D.L., Liesman J.S., Emery R.S. (1990) - *A species comparison of liver slice synthesis and secretion of triacylglycerol from nonesterified fatty acid in the media*. J. Anim. Sci. 68: 1395.

73) Reid I.M., Roberts C.J., Treacher R.J., Williams L.A. (1986) - *Effect of body condition at calving on tissue mobilization, development of fatty liver and blood chemistry of dairy cows*. Anim. Prod. 43: 7-15.

74) Riollet C., Rainard P., Poutrel B. (2000) - *Cells and cytokines in inflammatory secretions of bovine mammary gland*. Biology of the mammary gland (edited by J.A. Mol, R.A. Clegg), Kluwer Academic/Plenum Publishers: 247-258.

75) Roche J.F., Mackey D., Diskin M.D. (2000) - *Reproductive management of postpartum cows*. Animal Reproduction Science, 60-61: 703-712.

76) Royal M.D., Flint A.P.F., Woolliams J.A. (2002) - *Genetic and phenotypic relationships among endocrine and traditional fertility traits and production traits in Holstein-Friesian dairy cows*. J. Dairy Sci., 85:958-967.

77) Rowlands B.J., Gardiner K.R. (1998). *Nutritional modulation of gut inflammation*. Proceedings of the Nutrition Society. 57: 395-401.

78) Rukkwamsuk T., Kruip A.M., Meijer A.L., Wensing T. (1999) - *Hepatic fatty acid composition in periparturient dairy cows with fatty liver induced by intake of a high energy diet in the dry period*. J. Dairy Sci., 82:280-287.

79) Rukkwamsuk T., Kruip A.M., Wensing T. (1999) - *Relationship between overfeeding and overconditioning in the dry period and the problems of high producing dairy cows during the postpartutient period*. Vet, Quart. 21:71-77

80) Schouvert F. (2001) - *La steatosi epatica nella vacca da latte*. Summa (8): 21-28.

81) Schrick F.N., Hockett M.E., Saxton A.M., Lewis M.J., Dowlen H.H., Oliver S.P., (2001) - *Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters*. J. Dairy Sci. 84:1407-1412.

82) Shah U., Walker W.A. (2000) - *Adverse host responses to bacterial toxins in human infants*. J. Nutr. 130:420S-425S.

83) Sheldon I.M., Noakes D.E., Rycroft A., Dobson H. (2001) - *Acute phase protein responses to uterine bacterial contamination in cattle after calving*. The Veterinary Record, February 10, 2001: 172-175.

84) Suzuki C., Yoshioka K., Iwamura S., Hirose H. (2001) - *Endotoxin induces delayed ovulation following endocrine aberration during the proestrous phase in Holstein heifers*. Domestic Animal Endocrinology, 20: 267-278.

85) Strang B.D., Bertics S.J., Grummer R.R., Armentano L.E. (1998) - *Effect of long-chain fatty acids on triglyceride accumulation, gluconeogenesis, and ureagenesis in bovine hepatocytes*. J. Dairy Sci., 81:728-739.

86) Trevisi E., Calamari L., Iamartino N., Bertoni G. (1998) - *Sintesi epatiche nel post-parto della bovina: possibili cause di variazione e relazione con la fertilità*. 10° Meeting nazionale «Studio della efficienza riproduttiva degli animali di interesse zootecnico», 12 giugno, Bergamo, 10: 37-41.

87) Trevisi E., Lombardelli R., Calamari L., Bertoni G. (1996) - *Variazioni ematiche del progesterone in bovine trattate con endotossine in fasi riproduttive e con modalità diverse*. Atti 8° Meet. Naz. "Studio della efficienza riproduttiva degli animali di interesse zootecnico" (Bergamo, 10.05.1996): 47-51.

88) Trevisi E., Han X.-T., Piccioli-Cappelli F., and Bertoni G. (2002) - *Intake reduction before calving affects milk yield and metabolism in dairy cows*. 53rd Annual Meeting EAAP, Cairo, 1-4 September 2002, abstract n. 104.

89) Uchida E., Katoh N., Takahaschi K. (1992) - *Induction of fatty liver in cows by ethionine administration and concomitant decreases of serum apolipoproteins B-100 and A-I concentrations*. Am. J. Vet. Res., 53(11):2035-2042.

90) Uchida E., Katoh N., Takahaschi K. (1995) - *The activity of lecithin: cholesterol acyltransferase in the serum of cows at parturition or with fatty liver*. Vet. Res. Communications, 19:343-351.

91) Vasquez-Añon M., Bertics S., Luck M., Grummer R.R. (1994) - *Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows*. J. Dairy Sci., 77: 1521-1528.

92) Vernon R.G., Houseknecht K.L. (2000) - *Adipose tissue: beyond an energy reserve*. In Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction (ed. P.B. Cronjé), CABI Publishing: 171-183.

93) Wannemuheler M.J. (1995) - *Role of cytokines in intestinal health and disease*. In "Cytokines in animal health and disease", edited by M.J. Myers and M.P. Murtaugh, Marcel Dekker Inc.: 333-355.

94) Ward W.R., Parker C.S. (1999) - *Field evidence of metabolic stress in dairy cows?* In "Metabolic stress in dairy cows" Occasional Publication n°24 – B.S.A.S. ed. Oldham J.D., Sim G., Groen A.F., Nielsen B.L., Pryce J.E., Lawrence T.L.J. : 21-26.

95) Watson E.D. (1989) - *Effect of energy balance on postpartum reproduction in dairy cows*. Proceedings 7th International Conference on Production Disease in Farm Animal, Cornell University, Ithaca, 25-27 July: 386-396.

96) Young J.W., Veenhuizen J.J., Drackley J.K., Smith T.R. (1990) - *New insights into lactation ketosis and fatty liver*. Proceedings of the Cornell Nutrition Conference Feed Manufact., Cornell University, Ithaca, N.Y.: 60-67.

STEFANO ROMAGNOLI

CONTROLLI CLINICI NEL POST-PARTUM E GESTIONE DEI DATI IN BOVINE DA LATTE

ROUTINE POSTPARTUM CLINICAL EXAMS AND REPRODUCTIVE MANAGEMENT IN DAIRY COWS

Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie,
Università di Padova
Strada Romea 12, Agripolis, Legnaro, 35020 PD
Tel 049-827.948, fax 049-8272602, e-mail: stefano.romagnoli@unipd.it

RIASSUNTO

Vengono trattati alcuni dei fattori che influenzano la fertilità postparto nella bovina da latte, in particolare l'involuzione uterina, la ritenzione placentare, nonché l'importanza di una palpazione ovarica accurata, dell'impiego della vaginoscopia e del dosaggio del progesterone. Vengono altresì elencati e brevemente commentati gli indici riproduttivi importanti per una corretta gestione della riproduzione in allevamenti di bovine da latte, con particolare riferimento a quelli che consentono una gestione rapida della fertilità (su base settimanale o mensile, come ad es. il giorno medio in latte o l'intervallo parto-concepimento), rispetto a quelli che forniscono informazioni su base annuale (come ad es. l'interparto).

Parole chiave

Bovine da latte, postparto, visita clinica, gestione della riproduzione

SUMMARY

Some of the factors influencing fertility in the postpartum dairy cows are described, with particular reference to normal and abnormal uterine involution, placental retention, accurate rectal ovarian palpation, the use of vaginoscopy and of serum progesterone assay. Also, reproductive indices are listed and briefly discussed, providing comments on which indices to use for a rapid, day-to-day management of fertility (such as days in milk or the parturition-conception interval) as opposed to indices which only provide information on a yearly basis (such as the inter-calving interval).

Key words

Dairy cow, postpartum, clinical exam, reproductive management

INTRODUZIONE

La fertilità postparto nella bovina da latte dipende da molti fattori, tra cui i principali sono l'alimentazione in asciutta e nel puerperio, lo stress al parto, le condizioni dell'utero e le condizioni generali di salute. La tabella n° 1 riassume in maniera schematica i suddetti fattori, specificando per ciascuno di essi le caratteristiche principali. Questo articolo prenderà in esame essenzialmente l'involuzione uterina e la ritenzione placentare, cercando di chiarire quale sia il ruolo di questi due fattori nell'influenzare la fertilità durante il primo puerperio nelle bovine da latte ad alta produzione.

Tabella n° 1 – I principali fattori che influenzano la fertilità postparto nella bovina da latte
Table n° 1 – The most important factors influencing postpartum fertility in the dairy cow.

ALIMENTAZIONE IN ASCIUTTA		
STRESS AL PARTO	DISTOCIA IGIENE SALA PARTO AMBIENTE (GERARCHIA)	
ALIMENTAZIONE NEL PUERPERIO		
CONDIZIONI DELL'UTERO	INVOLUZIONE UTERINA RITENZIONE PLACENTARE ENDOMETRITE	
CONDIZIONI GENERALI DI SALUTE	PIEDI MALATTIE METABOLICHE	*Chetosi* *Acidosi* *Ipocalcemia* *Ipomagnesemia*

INVOLUZIONE UTERINA

Il giorno del parto l'utero ha raggiunto le dimensioni massime, corrispondenti (in una bovina adulta di normale corporatura e peso) a circa 70 kg (feto e invogli). Immediatamente dopo il parto l'intensa attività contrattile del miometrio provoca l'espulsione dell'insieme di liquidi, detriti cellulari di natura materna (sangue, cellule endometriali etc.), fetale (cellule di desquamazione cutanea, peli, liquidi ed eventualmente deiezioni) e placentare (residui di liquido allantoideo, liquido amniotico, residui coriali) che formano i cosiddetti "lochi" (1). L'espulsione dei lochi (liquido denso, viscoso, di colore variabile dal rosso marrone al giallastro, con eventuali striature biancastre dovute alla degenerazione caruncolare) definita lochiazione, avviene nella bovina durante i primi 10-15 giorni postparto. La lochiazione è un fenomeno molto intenso durante i primi giorni del puerperio, tanto che l'utero passa dal peso di circa 10 kg immediatamente dopo il parto a 3 kg il 4° giorno. In questi primissimi giorni i lochi hanno un aspetto rosso-bruno e il miometrio è ancora sensibile all'azione dei farmaci ossitocici, come dimostrato dalla rilevante azione miocontratturante esercitata dall'ossitocina se confrontata a quella della prostaglandina F2a. Tra il 4° e l'8° giorno si verificano due importanti eventi: a) a livello ovarico si assiste alla ripresa della crescita follicolare, cui seguirà dopo 10-15 giorni la prima ovulazione (molto spesso silente); b) a livello uterino si ha la chiusura della cervice, il che può essere fonte di problemi nelle bovine in ritardo con il processo involutivo nel cui utero si possono accumulare fino a 500 ml di liquido (che può diventare un ottimo pabulum per i germi in questa fase ancora inevitabilmente presenti nell'apparato riproduttore). I lochi non espulsi al momento della chiusura della cervice danno luogo alla cosiddetta "lochiometra", una condizione patologica nella quale il liquido che rimane nella cavità uterina impedisce una corretta involuzione uterina.

L'esplorazione rettale durante la prima settimana postparto consente di monitorare il processo involutivo verificando sia le dimensioni dell'utero che delle rugosità a decorso longitudinale che testimoniano l'intensa attività contrattile del miometrio. E' quindi molto im-

portante poter effettuare una visita ginecologica verso la fine della prima settimana postparto per verificare che una solida attività contrattile del miometrio consenta un rapido svuotamento dell'utero ed il veloce completamento della lochiazione.

Verso il 15° giorno termina nella maggior parte degli animali l'espulsione dei lochi, evento che prelude alla prima ovulazione; in questa fase l'utero ha raggiunto il peso di circa 1.5 kg ed è quasi scomparsa (ma non scomparirà mai del tutto) la differenza tra le dimensioni del corno uterino gravido e il corno controlaterale. È importante che il personale di stalla rilevi la lochiazione in modo da poter informare il veterinario su quali sono le bovine in cui tale evento non è avvenuta in maniera completa. Una seconda visita ginecologica va effettuata dunque tra le seconda e terza settimana postparto per verificare che l'involuzione uterina proceda in maniera normale.

RITENZIONE PLACENTARE

Il 90% circa delle bovine che partorisce normalmente espelle la placenta entro 9-10 ore dal parto, mentre il 95% circa la espelle entro 12 ore dal parto. Il momento in cui si decide che la placenta è ritenuta (cioè il numero di ore dal parto dopo di che si decide di intervenire) è variabile a seconda della formazione culturale e delle aspettative dell'allevatore in relazione alla tipologia di allevamento. In generale, la maggior parte dei proprietari richiede una prima visita del veterinario per una eventuale rimozione placentare tra le 18 e le 24 ore postparto. In realtà, sarebbe opportuno prendere in considerazione soprattutto la categoria di animali, in quanto ad es. nelle bovine adulte la ritenzione oltre le 6 ore può creare dei problemi di salute, mentre nelle bovine giovani e nelle manze la ritenzione oltre le 24 ore raramente si accompagna a complicazioni). In generale, oltre le 24 ore dal parto la maggior parte degli allevatori richiede ancora la rimozione della placenta. La decisione se trattare o non trattare è però sempre più attuale, in quanto studi recenti hanno dimostrato che spesso i danni maggiori derivano dai tentativi ripetuti di estrazione della placenta in bovine che altrimenti non avrebbero avuto alcuna conseguenza. Le continue manualità ottengono infatti l'effetto di contaminare l'utero in maniera eccessiva inibendo al tempo stesso la migrazione dei leucociti polimorfonucleati nel lume uterino. La terapia classica della ritenzione placentare prevede al 1°-2° giorno un prudente tentativo di estrazione con massaggio, seguito da tentativi altrettanto prudenti ogni 48 ore nei giorni successivi, finchè non si arriva all'estrazione completa. L'approccio innovativo consiste invece nell'effettuare solo massaggi uterini per via rettale somministrando eventualmente ecbolici ed antibiotici per via generale. È importante fare molta attenzione all'igiene: prima di ogni visita ginecologica lavare il perineo con acqua e sapone e non sciacquare ma asciugare con carta, a secco; usare camici monouso; usare sempre un paio di guanti, 2 paia se esiste il rischio di malattie infettive trasmissibili (es. brucellosi).

L'impiego degli ormoni è di efficacia dubbiosa: la prostaglandina F2a si ritiene che abbia scarso effetto, mentre l'ossitocina ha effetto sulla contrattilità miometriale per i primi giorni dopo il parto. Molti veterinari impiegano in questa fase del postparto prodotti a base di ossitocina ritardo, sostenendone l'efficacia sia nel favorire l'espulsione della placenta che nel velocizzare l'involuzione uterina. In realtà i pochi studi su questo tipo di farmaci effettuati utilizzando anche animali di controllo non hanno dimostrato effetti significativi dell'ossitocina ritardo sulla ripresa della funzionalità ovarica e sulla fertilità postparto (4). Sono necessari ulteriori studi controllati sull'efficacia dell'ossitocina ritardo sull'espulsione della placenta e sulla fertilità postparto. Per quanto riguarda la terapia antibiotica intrauterina, è opportuno rilevare come molti antibiotici deprimano l'attività dei leucociti polimorfonu-

cleati inibendo le difese locali. Inoltre, i batteri di irruzione secondaria spesso producono penicillinasi, per cui le penicilline e derivati spesso non sono attivi. L'ossitetraciclina è unanimemente riconosciuto come composto efficace per le patologie dell'utero puerperale ed è il più usato, anche se è lievemente irritante per l'endometrio e talora non efficace contro l'A. pyogenes. La dose è 4-6 g/giorno.

Una terapia innovativa proposta in anni recenti negli USA prevede l'impiego della collagenasi e consiste nel localizzare il cordone ombelicale, clampare le arterie, introdurre dei cateteri (da 10 cm, con aghi da 18 G a punta smussa) dentro le arterie, iniettare una soluzione a base dell'enzima collagenasi (200.000 UI) + 40 mg di cloruro di calcio e 40 mg di bicarbonato di Na, diluito in 1 L di soluzione salina, a cui può essere aggiunta ossitetraciclina (tamponare il pH a 7.5). Si utilizza come dose totale una quantità di 1000 ml in una arteria o 500 ml in ciascun arteria. Dopo un singolo trattamento la placenta è generalmente espulsa entro 36 ore. L'efficacia è dell'85% (il trattamento non va ripetuto) e non c'è nessun effetto collaterale. È importante trattare le bovine il prima possibile (12-72 ore) altrimenti i coaguli di sangue impediscono l'azione della collagenasi. Non bisogna immettere la collagenasi dentro il lume uterino (2).

INVOLUZIONE CERVICALE

Al 15° giorno postparto il diametro cervicale dovrebbe essere già inferiore a quello del corpo dell'utero. Se al 20°-25° giorno si rileva alla visita ginecologica che la cervice è di dimensioni ancora maggiori del corpo dell'utero significa che l'involuzione uterina sta procedendo lentamente e che può essere il caso di intervenire onde evitare una riduzione della fertilità (3). La riepitelizzazione caruncolare e l'involuzione cervicale si completano a 40-45 giorni; a questa epoca il diametro cervicale è di circa 20-25 mm nelle primipare, 30-45 mm nelle pluripare (nelle manze è circa 15-20 mm). Un diametro cervicale $\geq$50 mm a 45 giorni postparto indica involuzione uterina incompleta e/o infezione cervico-uterina.

VAGINOSCOPIA

La vaginoscopia è un utile mezzo di indagine che consente di aumentare l'efficacia diagnostica anche se usata da sola rispetto all'esplorazione rettale, specie in caso di endometrite moderata (tabella n° 2), in quanto consente di osservare con accuratezza le condizioni della *portio vaginalis* nonché la presenza o meno di accumulo di muco-pus in vagina, specie se questo è presente in quantità ridotta. Inoltre, la vaginoscopia è utile per la diagnosi del sanguinamento post-estrale, di urovagina, vaginite, lesioni vaginali o uretrali. Si può realizzare sia con il classico vaginoscopio bivalve che con vaginoscopi tubulari o tronco-conici di vetro, plastica o acciaio, che sono preferiti dall'autore.

Tabella n° 2 – Confronto tra l'efficacia dell'esplorazione rettale e della vaginoscopia per la diagnosi di endometrite lieve nella bovina (3).
Table n° 2 - Comparison between efficacy of rectal palpation vs vaginoscopy for the diagnosis of subclinical endometritis in the bovine (3).

	Esplorazione rettale	**Vaginoscopia**
DIAGNOSI INIZIALE	157	146
CONFERMA BATTERIOLOGICA	35 (22%)	86 (59%)

DOSAGGIO DEL PROGESTERONE

Il dosaggio del progesterone è una tecnica scarsamente impiegata dai buiatri, ma che può avere indubbi vantaggi pratici ad es. nel controllo del reperto della palpazione ovarica o dei risultati della terapia delle cisti, per la verifica delle ciclicità, per l'identificazione dell'ovulazione e l'esclusione della gravidanza. In particolare, il dosaggio del progesterone può essere di aiuto per escludere la presenza del corpo luteo in ovaie le cui dimensioni possono trarre in inganno. Bovine adulte o a fine carriera nelle quali il succedersi continuo di cicli estrali provoca un incremento del numero dei corpi albicanti con conseguente accumulo di tessuto connettivo fibroso possono avere in anestro delle ovaie anche di 6x4 cm di lunghezza (Figura n° 1). In questi casi, anche se la consistenza del parenchima ovarico alternato a connettivo fibroso conferisce all'ovaia una consistenza «granulosa», diversa da quella sodo-elastica tipica del corpo luteo, pur tuttavia le dimensioni notevoli possono trarre in inganno e far diagnosticare la presenza di una struttura luteinica (Figura n° 2).

Figura n° 1 – Ovaia di bovina in anestro, che potrebbe essere erroneamente diagnosticata come avente un corpo luteo a causa delle dimensioni che sono certamente superiori alla media (6.0 cm di lunghezza, 3.7 cm di larghezza e 3.0 cm di spessore) ma del tutto normali in bovine adulte o a fine carriera, nelle quali il succedersi continuo di cicli estrali provoca un incremento del numero dei corpi albicanti con conseguente accumulo di tessuto connettivo fibroso (5).
Figure n° 1 – Ovary of an anestrus cow. Upon rectal palpation this ovary may be erroneously diagnosed as having a mature corpus luteum due to its size (6x3x3 cm). Such a dimension is to be considered normal in an adult cow at the end of her productive life because of the accumulation of connective tissue due to the increased number of atretic corpora lutea (caused by the continuous cyclicity) (5)

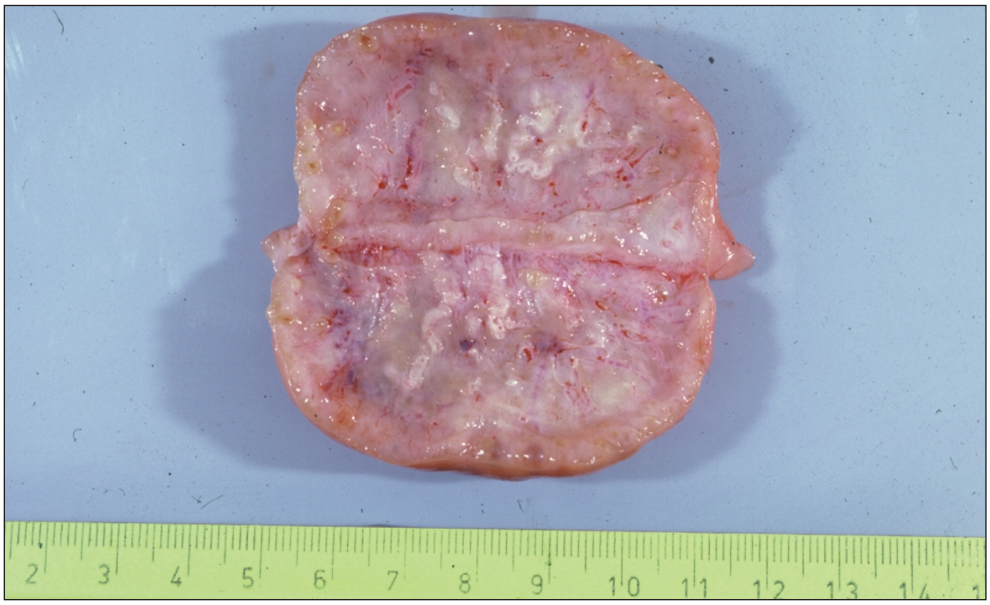

Figura n° 2 – Ovaia della figura n° 1, sezionata longitudinalmente: il parenchima ovarico della corticale senza strutture di rilievo (sono presenti solo follicoli di 1-2 mm di diametro) ed il connettivo fibroso interstiziale conferiscono all'ovaia una consistenza «granulosa», diversa da quella sodo-elastica tipica del corpo luteo. In casi dubbi, il dosaggio del progesterone consente di chiarire se esista o no un corpo luteo (5).
Figure n° 2 – Longitudinal section of ovary of figure n° 1: the ovarian parenchyma devoid of clinically relevant structures (only 1-2 mm diameter follicles are present) interspaced with fibrous connective tissue. Upon rectal palpation such an ovarywill give the classic feeling of "granulous tissue" which is clearly different from the "liver-like"consistency of the mature corpus luteum. In case of doubt, serum progesterone assay will provide a definite answer (5).

Anche se un accurata valutazione della consistenza consente di distinguere un ovaia a riposo da un ovaia con corpo luteo, il dosaggio del progesterone costituisce pur sempre un valido e spesso fondamentale supporto alla diagnosi.

GLI INDICI RIPRODUTTIVI

Gli indici riproduttivi misurano la performance riproduttiva complessiva, l'efficacia dell'inseminazione e l'efficacia del rilevamento degli estri. Quella che segue è una lista degli indici maggiormente utilizzati nella pratica gestionale aziendale, suddivisi nelle 3 suddette categorie.

Una trattazione completa di ogni singolo indice è disponibile in letteratura (6) ed esula dal contesto di questo articolo. Tra gli indici delle 3 suddette categorie, quelli contrassegnati da asterisco consentono di avere informazioni recenti sull'andamento della fertilità della mandria e quindi di gestire rapidamente una situazione critica o di fare scelte nell'immediato. Altri indici come l'interparto riflettono invece il passato e variano molto lentamente, per cui non consentono di essere impiegati come campanello d'allarme ne' di constatare in tempi brevi l'effetto di cambi di gestione.

Tabella n° 3 – I principali indici riproduttivi utilizzati per la gestione della fertilità in aziende di bovine da latte. Gli indici contrassegnati da (*) sono quelli che reagiscono più velocemente a cambi di gestione e che pertanto possono essere impiegati nella gestione rapida (su base settimanale o mensile) della fertilità.
Table n° 3 – The most important reproductive indices for the management of postpartum dairy cows are listed. Indices marked as (*) are those who react more rapidly to a change in management. Such indices can be best used for making quick decision to overcome management problems.

Performance Riproduttiva Complessiva	
- Interparto	- % di bovine vuote da + di 150 gg
- Intervallo Parto-Concepimento*	- % di bovine eliminate per ipofertilità
- % di bovine gravide*	- % della mandria che partorisce entro l'anno
- Stato riproduttivo dell'allevamento	
- Giorno medio in latte*	- % di concepimento*
Efficacia dell'inseminazione	
- % di bovine gravide al 1° servizio*	- Grafico cumulativo
- N° di IA/gravidanza*	- % di «Repeat Breeder»
- Probabilità media di gravidanza	- Fertilità del toro
	- Abilità del tecnico di IA
Efficacia del rilevamento degli estri	
- Intervallo Parto-1° Calore*	- N° di 1^{e} IA entro 24 gg dalla fine dell'attesa volontaria *
- Intervallo Parto-1° Servizio*	
- % di bovine gravide alla diagnosi*	- Media degli intervalli interestrali
- Verifica su 24 gg	- Distribuzione degli intervalli interestrali

BIBLIOGRAFIA

1) SALI G. (1996) *Ritenzione placentare, puerperio normale e patologico*. In: Manuale di Teriogenologia Bovina, Editore G. Sali, Essegivi Ed agricole, pag 233-250.

2) EILER H., HOPKINS F.M. (1993) *Successful treatment of retained placenta with umbilical cord injections of collagenase in cows*. JAVMA 203: 436.

3) MORTIMER R.G., FARIN P.W., STEVENS R.D. (1997) *Reproductive examination of the non-pregnant cow*. *In*: Current Therapy in Large Animal Theriogenology, Editore Youngquist, WB Saunders, 268-275.

4) ROMAGNOLI S., SBRANA A., BENINI P., MORI S., ARIA G., SEGUIN B., CELA M. (1994) *Funzionalità ovarica ed involuzione uterina postparto in seguito a trattamento con ossitocina ritardo in bovine da latte*. Proceedings, XXVIII World Buiatrics Congress, Bologna 1994, pag. 1091-1094.

5) ROMAGNOLI S. (1995) *Esplorazione rettale nella bovina: la variabilità morfologica del corpo luteo quale possibile fonte di errori diagnostici*. Praxis Veterinaria 16(2) 5-8.

6) ROMAGNOLI S. (1997) *Il computer come strumento di gestione della riproduzione nell'allevamento bovino*. Atti Società Italiana di Buiatria, XXIX, 97-124.

FAUSTO CAIROLI

TRATTAMENTI ORMONALI DEI DISTURBI DELLA FERTILITA' DELLA BOVINA DA LATTE

HORMONAL TREATMENT FOR DAIRY COW INFERTILITY

Istituto di Clinica Ostetrica e Ginecologica Veterinaria
Via Celoria 10 - 20133 Milano
Tel 02 50318144 - Fax 02 50318148
e-mail: fausto.cairoli@unimi.it

RIASSUNTO

In questa trattazione, dove sono stati presi in considerazione solo i problemi relativi alla funzionalità ovarica, l'autore, dopo aver brevemente accennato all'eziologia, incidenza e sintomatologia, ha passato in rassegna le terapie ormonali per le principali patologie e disfunzioni ovariche della bovina latte: ovaie acicliche, cisti ovariche, corpo luteo persistente e repeat breeders.

Parole chiave

bovina da latte, ipofertilità, trattamenti ormonali

SUMMARY

In this article only the disorders related to ovarian fuction are considered. The author, beside a brief discussion on etiology, incidence and clinical signs, focussed on hormonal therapies of the main ovarian disfunction and diseases in the dairy cow: inactive ovaries, ovarian cysts, persistence of corpus luteum and repeat breeders.

Key words

dairy cow, infertility, hormonal treatment

In questa trattazione saranno presi in considerazione solo i trattamenti per problemi relativi alla funzionalità ovarica.

La scelta di non prendere in esame i trattamenti per i problemi relativi all'apparato genitale tubolare è dipesa esclusivamente da motivi contingenti, ben consapevole della stretta interdipendenza utero-ovarica nel regolare svolgimento dell'attività riproduttiva.

Saranno pertanto analizzati i trattamenti riguardanti:

1) ovaie acicliche
2) cisti ovariche
3) corpo luteo persistente
4) repeat breeding.

1) Ovaie acicliche

La scelta della definizione "ovaie acicliche" è stata dettata dalla necessità di evitare equivoci interpretativi del termine "anestro", qualora venga utilizzato per comprendere anche il mancato rilievo dell'estro, situazione quanto mai frequente durante il post partum (PP).

A tale proposito il ricorso alla sincronizzazione degli estri, indipendentemente dal meto-

do utilizzato sia esso l'uso delle prostaglandine F2α (PGF2α) singolo o ripetuto, il doppio trattamento con l'ormone liberante le gonadotropine (GnRH), intervallato dalla somministrazione di PGF2α, od il complesso estro-progestinico, ha la precipua finalità di bypassare, mediante interventi fecondativi a tempi prestabiliti, il problema del rilievo degli estri.

Sempre più frequentemente viene ribadito il concetto che l'ipofertilità debba essere considerata non tanto una malattia quanto un sintomo di un malessere generale.

Difatti l'inattività ovarica annovera quali fattori causali:

- le dismetabolie
- le patologie d'organo (mastiti, podoflemmatiti, metriti)
- lo stress
- il bilancio energetico negativo (BEN).

È logico pensare che, fintanto che persistono le condizioni concomitanti, appaia difficile ipotizzare non solo la ripresa spontanea dell'attività ovarica, ma anche l'opportunità delle stimolazioni farmacologiche.

Se può risultare più semplice stabilire il momento opportuno per il trattamento ormonale d'induzione dell'attività ovarica in seguito alla guarigione delle patologie d'organo o alla risoluzione delle dismetabolie, non altrettanto agevole è il riconoscimento del superamento dello stato di stress (Badinga et al.,1993) o del BEN (Markusfeld et al.,1997), salvo ricorrere, in quest'ultimo caso, ad un'attenta valutazione delle variazioni del body condition score (BCS) già a partire dalla tarda gravidanza, meglio ancora mediante la determinazione delle variazioni di peso.

Il BE, che raggiunge il nadir nelle 2-3 settimane dopo il parto, dovrebbe necessariamente essersi ristabilito entro la settima settimana, pertanto è ipotizzabile che il trattamento a 50 giorni PP possa essere in grado di risolvere lo stato di inattività ovarica.

Trattamenti ormonali per la ripresa della ciclicità ovarica dopo il parto

GnRH ed analoghi	20 mg buserelin 50 mg lecirelina 100 mg cistorelina 15 mg/h per 12 h 10 mg/h per 24 h
Gonadotropina corionica equina (eCG)	1500-2000 U.I.
Progesterone (P4)	150 mg/die per 7 d
Dispositivo intravaginale rilasciante progesterone (PRID) con eventuale aggiunta di 500 U.I. di eCG all'estrazione della spirale.	

Una singola iniezione di GnRH è in grado di far rilasciare dall'ipofisi un picco di ormone luteinizzante (LH) (Archbald et al.,1974; Britt et al.,1974; Nation et al.,2000; Rhodes et al.,2002); la somministrazione intermittente (pulsatile) di GnRH, nel tentativo di mimare i pulses endogeni di GnRH, dovrebbe indurre una regolare pulsatilità di LH con conseguente maturazione follicolare ed ovulazione (Prandi et al.,1990).

La somministrazione di eCG, mediante un'azione diretta sull'ovaio, stimola lo sviluppo follicolare e la produzione di estrogeni con conseguente feedback positivo sui centri ipotalamici GnRH secernenti.

Il trattamento con basse dosi di P4, modulando la frequenza dei pulses di LH, sembrerebbe in grado di stimolare la ripresa della ciclicità ovarica (Johnson e Ulberg, 1967; Nanda et al.,1991).

Ripresa dell'attività ovarica non è sinonimo di ripresa della ciclicità; tra le diverse cause che interferiscono sul regolare andamento dei cicli sicuramente un ruolo importante è ricoperto dalle cisti ovariche.

2) Cisti ovariche

La cisti ovarica è definita tradizionalmente come una struttura similfollicolare con diametro superiore a 20-25 mm, persistente per almeno 7-10 giorni, in assenza di corpo luteo e con interruzione del normale ciclo estrale. Alla luce di più recenti studi si è potuto constatare come in realtà la cisti ovarica origini da un anomalo sviluppo di un follicolo dominante che, dopo la deviazione, non riceve l'imput da parte del picco di LH necessario per l'ovulazione, mantenendo la sua conformazione strutturale ed accrescendosi oltremodo nel tempo senza andare incontro ad atresia (Wiltbank et al.,2002).

L'incidenza di questa patologia varia dal 6 al 23% (Hooijer et al.,1999), considerando solo le cisti che assumono una rilevanza clinica, in quanto un'elevata percentuale (>50%) presenta una risoluzione spontanea nelle prime 5 settimane PP (Morrow et al.,1966). Inoltre occorre segnalare che alcune cisti possono sfuggire all'indagine clinica, poiché, essendo strutture dinamiche, possono essere sostituite da strutture analoghe senza che questo avvicendamento venga rilevato (Cook et al.,1990). Sembra che le cisti ovariche siano state rilevate nel 10-14% delle bovine da latte almeno una volta nella loro carriera riproduttiva, che sia stata registrata una percentuale di recidive del 35-45% e che rappresentino il 12-14% dei problemi riproduttivi (Britt et al.,1977).

Diversi sono i fattori coinvolti nell'insorgenza di questa patologia:
- stress (ipersurrenalismo, β-endorfine)
- infezioni uterine
- dismetabolie
- numero di parti
- stagione
- genetica
- alimentazione (iperproteica, selenio elevato).

Ancora poco si conosce dell'esatto meccanismo eziopatogenetico di questa patologia nonostante si sia a lungo speculato sul ruolo dominante dei diversi ormoni della riproduzione.

Nelle diverse ipotesi sono stati presi in considerazione fattori che intervengono durante la follicologenesi (ridotta sensibilità ipotalamo-ipofisaria, alterata pulsatilità dell'LH, ridotta secrezione di estrogeni, carenza recettoriale follicolare), fattori periferici e/o intracellulari dell'ovulazione (enzimi, mediatori infiammatori, leucociti, ossitocina, complesso renina-angiotensina), ritardata atresia (Gumen et al. 2002; Ribadu et al.,2000; Silvia et al.,2002).

In un recente studio Wiltbank et al. (2002) ritengono che l'emergenza e la deviazione follicolare si svolgano correttamente durante le onde follicolari che esitano in cisti ovariche. La successiva crescita dei follicoli a dimensioni preovulatorie è probabilmente dovuta alla regolare pulsatilità dell'LH; tuttavia gli estrogeni, secreti da questi follicoli preovulatori, non sembrerebbero in grado di indurre un'onda di GnRH, lasciando intendere che il "difetto" risieda nell'ipotalamo. Il progressivo aumento delle dimensioni della cisti potrebbe dipendere da diversi fattori, ma è probabile che i pulses di LH siano determinanti per la continua crescita follicolare.

Attualmente è possibile emettere diagnosi di cisti ovarica, oltre che con l'esame clinico

(anamnesi, palpazione transrettale), anche con l'ausilio dell'ecografia ed eventualmente delle determinazioni ormonali (P4) nei fluidi biologici (Farin et al., 1992; Tebble et al., 2001), che ne permettono anche la classificazione in cisti follicolari e cisti luteiniche.

Le cisti follicolari, singole o multiple, sono caratterizzate ecograficamente da parete sottile (<3 mm), bordo regolare ed antro omogeneamente anecogeno, e dal punto di vista endocrino da una progesteronemia <1 ng/mL.

Le cisti luteiniche, generalmente singole, hanno una parete ispessita (>3 mm), bordo irregolare, antro non uniformemente anecogeno e concentrazioni plasmatiche di P4 >1 ng/mL.

Hanzen et al. (2002) hanno calcolato un più basso valore predittivo della palpazione transrettale rispetto all'esame ecografico per la diagnosi e la tipizzazione delle cisti, mentre Douthwaite e Dobson (2000) hanno appurato come la combinazione "ecografia + determinazione del P4" dia in questo caso la miglior accuratezza.

Diagnosi

palpazione	follicolari (39-78%) luteiniche (35-87%)
ecografia	follicolari (60-78%) luteiniche (50-90%)
progesterone	follicolari (80-90%) luteiniche (52-80%)
ecografia + progesterone	follicolari (92%) luteiniche (82%)

La manifestazione clinica principale è rappresentata dall'alterata ciclicità con estri ravvicinati e/o protratti, ma più frequentemente da anestria (>85%), indipendentemente dal tipo di cisti: follicolare o luteinica (McLeod e Williams, 1991).

La multiformità dei fattori coinvolti e la mancata conoscenza dell'esatto meccanismo eziopatogenetico hanno messo in discussione non solo la scelta dei presidi terapeutici e del momento opportuno per la loro attuazione, ma addirittura la reale utilità del trattamento in corso di cisti ovariche.

Alcuni ricercatori sostengono l'inopportunità del trattamento entro i primi 2 mesi dopo il parto in relazione alla possibile regressione spontanea della patologia (Jou et al., 1999); altri identificano il momento ideale attorno a 45 giorni PP in funzione di un miglior tasso di successo ottenuto rispetto al trattamento a 30 o a 60 giorni (Lopez-Gatius et al., 2002).

L'attesa della guarigione spontanea può avere riflessi economici negativi per l'allungamento del periodo parto-prima fecondazione artificiale (F.A.) e parto-concepimento e l'aumento del numero di F.A. per gravidanza.

La rimozione del contenuto delle cisti, mediante rottura od aspirazione, ha lo scopo di interrompere l'eventuale interferenza degli steroidi o dei metaboliti dei fluidi cistici sulla funzionalità dei neuroni ipotalamici secernenti GnRH (Nanda et al., 1991) e, probabilmente, sul controllo dei meccanismi intraovarici ed intrafollicolari sullo sviluppo follicolare (Boryczko et al., 1995).

Metodi meccanici

scopo - interrompere l'azione del contenuto cistico
tecniche - rottura manuale (emorragie/aderenze) - aspirazione alla cieca ecoguidata
esito - 37-50% estro (10-30 d) - 25-67% fertilità

L'utilizzo del P4 per il trattamento delle cisti ovariche trova la sua spiegazione, ancora non completamente dimostrata, nella capacità di modulare l'azione dell'asse ipotalamo-ipofisario, sincronizzando nuove onde follicolari che producono follicoli preovulatori al termine dell'azione del P4 (Colder et al., 1999; Douthwaite e Dobson, 2000; Veronesi et al., 2001).

Progesterone

scopo - indurre fase luteinica artificiale
dosi - 100 mg/48h x 3 volte - PRID x 12 d
esito - 61-72% estro (1-15 d) - 50% fertilità

Risalgono agli anni quaranta le prime segnalazioni sull'efficacia degli estratti ipofisari contenenti gonadotropine per la terapia delle cisti ovariche (Gifford,1940; Casida et al.,1944); ma poiché gli estratti ipofisari contengono anche l'ormone follicolostimolante (FSH) ed altre proteine, sono stati nel tempo sostituiti dalla gonadotropina corionica umana (hCG), che, grazie alla spiccata attività LH-simile, è in grado di causare la luteinizzazione della cisti o l'ovulazione di follicoli compresenti con conseguente aumento della progesteronemia (Seguin et al.,1976; Veronesi et al.,2001).

LH e LH-simili

scopo - luteinizzazione cisti (4-11 d)
dosi - 1.000-30.000 U.I. hCG - 25 mg PLH
esito - 60-90% estro (20-30 d) - 30-58% fertilità

Il GnRH ed i suoi analoghi di sintesi inducono la liberazione di un picco di LH simil-ovulatorio in grado di determinare la luteinizzazione della cisti o l'ovulazione di follicoli compresenti con la successiva insorgenza di una fase luteale (Cairoli et al., 2002; Douthwaite e Dobson, 2000; Hooijer et al., 1999; Tebble et al., 2001; Veronesi et al., 2001, 2002).

La lecirelina somministrata per via epidurale potrebbe agire direttamente stimolando i recettori per il GnRH presenti sull'ovaio con una risoluzione più rapida della cisti.

GnRH e agonisti

scopo - luteinizzazione o interferenza sullo sviluppo follicolare
dosi - 100 μg cistorelina - 20 μg buserelin - 50 μg lecirelina
esito - 40-100% estro (3-30 d) - 40-75% fertilità
dosi - 180mg buserelin pompe osmotiche s.c. (2.5 μg h/72h)
esito - 76.7% estro (13- 30 d) - 47.8% fertilità

È stato ipotizzato che il complesso calcio-naloxone sia in grado di competere direttamente con le proteine G per il legame con i recettori per gli oppioidi, permettendo la trasduzione del messaggio ormonale gonadotropinico, mentre la lecirelina sembrerebbe supplire al deficit di GnRH ipotalamico (Sciorsci et al., 2000).

Naloxone

scopo - rimozione oppioidi endogeni legati all'ovaio
dosi - 0.01 mg/kg in 20 mL calcio gluconato 20% (epidurale) da ripetersi dopo 3 d + 50 mg lecirelina i.m.
esito - 96.3% estro (3-20 d) - 73.1% fertilità

La validità terapeutica delle PGF2α è legata all'attendibilità dell'identificazione delle cisti luteiniche, in cui è in grado di indurre luteolisi con caduta del P4 seguita dall'insorgenza di un estro normale.

PGF2α

scopo - luteolisi	
dosi - dinoprost - cloprostenolo - D-cloprostenolo - alfaprostol - luprostiol - fenprostalene	 25 mg 0.5 mg 150 μg 8 mg 15 mg 1 mg

Le PGF2α vengono impiegate con successo anche per accelerare il recupero delle cisti luteinizzate dopo trattamento con hCG o GnRH.

GnRH + PGF2α

scopo - luteolisi dopo luteinizzione	
9-14 d	*dosi* - 0.5 mg cloprostenolo
	esito - fertilità simile al solo GnRH
7 d	*esito* - 34.9% estro (7 d) - 51.7% fertilità

GnRH + PGF2α (7 d) + GnRH (2 d) + F.A. (16 h)

scopo - sincronizzazione ovulazione
esito - 23.6% fertilità

I metodi più efficaci per eliminare il problema delle cisti ovariche potrebbero essere le misure preventive.

Le infezioni uterine sono state correlate con l'insorgenza delle cisti (Erb et al., 1973, 1981); infusioni uterine di endotossine hanno infatti determinato una condizione di follicolo anovulatorio, probabilmente in seguito all'aumento delle concentrazioni circolanti di cortisolo ed alla mancata liberazione del picco di LH (Bosu e Peter, 1987; Peter et al., 1989).

Altri ricercatori hanno indotto cisti ovariche nelle manze dopo trattamento con l'ormone adrenocorticotropo (ACTH) (Ribadu et al., 2000). La riduzione dei processi infiammatori e dello stress potrebbe essere pertanto una misura efficace per prevenire l'insorgere delle condizioni fisiopatologiche, che possono causare la formazione delle cisti.

È stato anche suggerito il trattamento profilattico con GnRH nelle prime settimane PP nel tentativo di ridurre l'incidenza di questa patologia (Britt et al, 1974, 1977).

Prevenzione

selezione	bassa ereditabilità carattere tori padri di bovine esenti		farmacologica	
GnRH	200	μg	cistorelina	12-14 d PP
	20	μg	buserelin	14 d PP
	20	μg	buserelin	14 e 24 d PP

3) Corpo luteo persistente

Una delle più comuni cause di aciclia è la prolungata presenza di un corpo luteo durante la quale la crescita follicolare continua ma i follicoli non ovulano per il feedback negativo del P4 sull'asse ipotalamo-ipofisario.

Dalla bibliografia il corpo luteo persistente risulta caratterizzato da una durata (19-45 d) ed un'incidenza (1.5-7.3%) alquanto variabili (Bullman e Lamming, 1977; Bullman e Wood, 1980; Nakao et al., 1992).

Il corpo luteo persistente sembra essere associato a problemi uterini (anomalie, mancata involuzione, infezioni) che comportano ridotta secrezione od impedito trasporto all'ovaio di PGF2α con conseguente mancata luteolisi (Ginther, 1968).

L'utilizzo delle PGF2α ed analoghi è il trattamento d'elezione per questa patologia.

4) Repeat breeding

Una bovina clinicamente normale, con un ciclo estrale regolare (18-24 d), che non risulta gravida dopo 3 o più interventi fecondativi, viene definita "repeat breeder". Sulla scorta di questa definizione viene riferita un'incidenza di repeat bredeers pari al 6-24%. Questa condizione di cicli estrali regolari senza l'instaurarsi di una gravidanza potrebbe dipendere dal mancato concepimento o dal riassorbimento embrionale entro 16 giorni dalla F.A..

Mancato concepimento:

- mancata o ritardata ovulazione
- qualità scadente seme
- errata temporizzazione della F.A.
- impedimenti fisici e funzionali alla migrazione gameti
- reazioni immunologiche
- processi flogistici uterini acuti
- elevate temperature ambientali

Mortalità embrionale:

- fecondazione con gameti invecchiati
- anomalie cromosomiche letali
- errata alimentazione
  - eccesso proteico
  - carenza di:
    - glucosio, fosforo, rame, cobalto, iodio, manganese, vit. A, β-carotene
- carenza progesterone
- processi flogistici uterini cronici
- elevate temperature ambientali

Nelle repeat breeders il GnRH viene utilizzato, analogamente alle bovine normali, in concomitanza con la F.A. per migliore il tasso di concepimento, accentuando il grado di sincronia tra ovulazione ed intervento fecondativo, anche se il tasso di successo non sempre è migliorato in modo statisticamente significativo (Lee et al., 1983; Mee et al., 1993; Stevenson et., 1990).

Fra le diverse ipotesi esplicative dell'eziopatogenesi, la progesteronemia sembra occupare un ruolo importante. Infatti secondo Bage et al. (2000) i livelli soprabasali di P4 all'estro (incompleta luteolisi o secrezione surrenalica) indurrebbero una disendocrinia con probabile irregolare maturazione dell'oocita, malfunzionamento nel trasporto dei nemaspermi, errata temporizzazione dell'incontro tra i gameti.

Morales-Roura et al. (2001) hanno osservato che molti embrioni, provenienti da bovine repeat breeders, presentano un ritardo dello sviluppo ed una anomala differenziazione cellulare. Inoltre queste bovine sono caratterizzate da concentrazioni plasmatiche di P4 più basse nei primi 7 giorni post ovulatori, periodo durante il quale la crescita e la differenziazione embrionale sono altamente dipendenti dalle secrezioni uterine a loro volta regolate dal P4. Il ritardato sviluppo embrionale potrebbe impedire il riconoscimento materno della gravidanza per insufficiente sintesi proteica e pertanto di interferone τ per la prevenzione della luteolisi.

I tentativi di incrementare la progesteronemia ha sortito esiti diversi anche a seconda dell'utilizzo di P4, hCG e GnRH (Thuemmel et al.,1992; Walton et al.,1990).

Incremento P4

200 mg P4	5 - 7 - 9 - 11 d post F.A.	nessun incremento
PRID	5 - 12 d post F.A.	incremento tra 5 – 8 d
1500 U.I. hCG	4 - 6 d post F.A.	fomazione corpo luteo accessorio
100 μg GnRH	6 d post F.A.	fomazione corpo luteo accessorio
	12 d post F.A.	riduzione produzione estrogeni

La somministrazione di GnRH 12 giorni dopo la F.A., inducendo la lutenizzazione del follicolo dominante della seconda onda follicolare, non solo aumenta la progesteronemia, ma riduce la produzione degli estrogeni e conseguentemente previene l'aumento dei recettori endometriali per l'ossitocina e quindi la stimolazione della produzione uterina di PGF2α.

La somministrazione di somatotropina ricombinante bovina (500 mg s.c.) al giorno dell'estro e 10 giorni dopo la F.A. ha incrementato il tasso di concepimento di bovine repeat breeders, probabilmente riferibile all'aumento del P4 circolante al 18° giorno. La somatotropina potrebbe stimolare direttamente lo sviluppo embrionale (l'aggiunta nel medium di coltura stimola la maturazione dell'oocita ed il conseguente sviluppo embrionale) e l'aumento delle concentrazioni di IGF1 in circolo e in utero, che stimolano la crescita e la differenziazione embrionale e modulano la sintesi proteica, in particolare dell'interferone τ (Morales-Roura et al., 2001).

In conclusione nella gestione delle bovine da latte la selezione genetica ha incrementato in modo considerevole i livelli di produzione; tuttavia i soggetti selezionati per l'elevata efficienza produttiva sembrano essere maggiormente a rischio per problemi comportamentali, fisiologici ed immunologici (Erb et al., 1981; Nakao et al., 1992; Rauw et al., 1998), così come per condizioni stressanti acute e croniche che possono interferire con l'efficienza riproduttiva.

BIBLIOGRAFIA

1) Archbald L.F., Norman S.N., Bliss E.L., Tran T., Lyle S., Thomas P.G.A., Rathwell A.C. (1990) *Incidence and treatment of abnormal postpartum ovarian function in diary cows*. Theriogenology 34, 283-290.

2) Badinga L., Thatcher W.W., Diaz T., Drost M., Wolfenson D. (1993) *Effect of environmental hear stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows*. Theriogenology 39, 797-810.

3) Bage R., Forsberg M., Gustafsson H., Larsson B., Rodriguez-Martinez H. (2000) *Effect of ACTH-challenge on progesterone and cortisol levels in ovariectomised repeat breeder hiefers*. Anim. Reprod. Sci. 63, 65-76.

4) Boryczko Z., Bostedt H., Hoffmann B. (1995) *Comparison of the hormonal and chemical composition of the fluid from bovine ovarian follicles and cysts*. Reprod. Dom. Anim. 30, 36-38.

5) Bosu W.T.K., Peter A.T. (1987) *Evidence for role of intrauterine infections in the pathogenesis of cystic ovaries in postpartum dairy cows*. Theriogenology 28, 725-736.

6) Britt J.H., Harrison D.S., Morrow D.A. (1977) *Frequency of ovarian follicular cysts, reasons for culling, and fertility in Holstein-Friesian cows given gonadotropin-releasing hormone at two weeks after parturition*. Am. J. Vet. Res. 38, 749-751.

7) Britt J.H., Kittok R.J., Harrison D.S. (1974) *Ovulation, estrus and endocrine response after GnRH in early postpartum cows*. J. Anim. Sci. 39, 915-919.

8) Bullman D.C., Lamming G.E. (1977) *Cases of prolonged luteal activity in the non-pregnant dairy cows*. Vet. Rec. 100, 550-552.

9) Bullman D.C., Wood P.D.P. (1980) *Abnormal patterns of ovarian activity in dairy cows and their relationship with reproductive performance*. Anim. Prod. 30, 177-188.

10) Cairoli F., Vigo D., Battocchio M., Faustini M., Veronesi M.C., Maffeo G. (2002) *17beta-estradiol, progesterone and testosterone concentrations in cystic fluids and response to GnRH treatment after emptiyng of ovarian cysts un dairy cows*. Reprod. Domest. Anim. 37, 294-298.

11) Casida L.E., McShan W.H., Meyer R.K. (1944) *Effects of unfractionated pituitary extract upon cystic ovaries and nymphomania in cows*. J. Anim. Sci. 3, 273-282.

12) Calder M.D., Salfer B.E., Bao B., Youngquist R.S., Garverick H.A. (1999) *Administration of progesterone to cows with ovarian follicular cysts results in a reduction in mean LH and LH pulse frequency and initiates ovulatory follicular growth*. J. Anim. Sci. 77, 3037-3042.

13) Carrol D.J., Pierson R.A., Hauser E.R., Grummer R.R., Combs D.K. (1990) *Varabiality of ovarian structures and plasma progesterone profiles in dairy cows with ovarian cysts*. Theriogenology 34, 349-370.

14) Cook D.L., Smith C.A., Parfet J.R., Youngquist R.S., Brown E.M., Garverik H.A. (1990) *Fate and turnover rate of ovarian follicular cysts in dairy cattle*. J. Reprod. Fertil. 90, 37-46.

15) Douthwaite R., Dobson H. (2000) *Comparison of different methods of diagnosis of cystic disease in cattle and an assessment of its treatment with a progesterone-releasing intravaginal device*. Vet. Rec. 147, 355-259.

16) Erb H.N., Martin S.W., Ison N., Swaminathan S. (1981) *Interrelationship between production and reproduction diseases in Holstein cows. Conditional relationships between production and diseases*. J. Dairy Sci. 64, 272-281.

17) Erb H.N., Surve A.H., Callahan C.J., Randel R.D., Garverick H.A. (1973) *Reproductive steroids in the bovine. VII Changes postpartum*. J. Anim. Sci. 33, 1060-1071.

18) Farin P.W., Youngquist R.S., Parfet J.R., Garverick H.A. (1992) *Diagnosis of luteal and follicular ovarian cysts by palpation per rectum and linear-array ultrasonography in dairy cows*. J. Am. Vet. Med. Assoc. 200, 1085-1089.

19) Garverick H.A. (1997) *Ovarian follicular cysts in dairy cows*. J. Dairy Sci. 80, 995-1004.

20) Gifford R. (1940) *Some phases of the knowledge of the physiology of reproduction that have practical value*. Cornell Vet. 30, 359-366.

21) Ginther O.J. (1968) *Utero-ovarian relationships in cattle: Applied veterinary aspects*. J. Am. Vet. Med. Assoc. 153,1665-1671.

22) Gumen A., Sartori R., Costa F.M., Wiltbank M. (2002) *A GnRH/LH surge without subsequent progesterone exposure induce development of follicular cysts*. J. Dairy Sci. 85, 43-50.

23) Hamilton S.A., Garverick H.A., Keisler D.H., Xu Z.Z., Loos K., Youngquist R.S., Salfen B.E. (1995) *Characterization of ovarian follicular cysts and associated endocrine profiles in dairy cows*. Biol. Reprod. 53, 890-898.

24) Hanzen C.H., Pieterse M., Scenczi O., Drost M. (2000) *Relative accuracy of the identification of ovarian structures in the cow by ultrasonography and palpation per rectum*. Vet. J. 159, 161-170.

25) Hooijer G.A., Frankena K., Valks M.M.H., Schuring M. (1999) *Treatment of cistic ovarian disease in dairy cows with gonadotrophin-releasing hormone: a field study*. Vet. Quart. 21, 33-37.

26) Jeffcoate I.A., Ayliffe T.R. (1995) *An ultrasonographic study of bovine cystic ovarian disease and its treatment*. Vet. Rec. 22, 406-410.

27) Johnson A.D., Ulberg L.C. (1967) *Influence of exogenous progesterone on follicular cysts in dairy cattle*. J. Dairy Sci. 50, 758-761.

28) Jou P., Buckrell B.C., Liptrap R.M., Summerlee A.J.S., Johnson W.H. (1999) *Evaluation of the effect of GnRH on follicular ovarian cysts in dairy cows using trans-rectal ultrasonografy*. Theriogenology 52, 923-937.

29) Kesler D.J., Garverick H.A., Caudle A.B., Bierschwal C.J., Youngquist R.S. (1978) *Clinical and endocrine responses of dairy cows with ovarian cysts to GnRH and PGF2α.* J. Anim. Sci. 46, 719-725.

30) Lee C.N., Maurice E., Ax R.L., Pennington J.A., Hoffman W.F., Brown M.D. (1983) *Efficacy of gonadotropin-releasing hormone administered at the time of artificial insemination of heifers and postpartum and repeat breeder dairy cows*. Am. J. Vet. Res. 44, 2160-2163.

31) Lopez-Gatius F., Santolaria P., Yaniz J., Fenech M., Lopez-Bejar M. (2002) *Risk factors for postpartum ovarian cysts and their spontaneous recovery or peristence in lactating dairy cows*. Theriogenology 58, 1623-1632.

32) Markusfeld O., Galon N., Ezra E. (1997) *Body condition score, health, yield and fertility in dairy cows*. Vet. Rec. 141, 67-72.

33) McLeod B.J., Williams M.E. (1991) *Incidence of ovarian dysfunction in post partum dairy cows and the effectiveness of its clinical diagnosis and treatment*. Vet. Rec. 9,121-125.

34) Mee M.O., Stevenson J.S., Alexander B.M., Sasser R.G. (1993) *Administration of GnRH at estrus influences pregnancy rates, serum concentrations of LH, FSH, estradiol-17b, pregnancy-specific protein B, and progesterone, proportion of luteal cell types, and in vitro production of progesterone in dairy cows*. J. Anim. Sci. 71, 185-198.

35) Morales-Roura J.S., Zarco L., Hernandez-Ceron J., Rodriguez G. (2001) *Effect of short-term treatment with bovine somatotropin at estrus on conception rate and luteal function of repeat-breeding dairy cows*. Theriogenology 55, 1831-1841.

36) Morrow D.A., Roberts S.J., McEntee K., Gray H.G. (1966) *Postpartum ovarian activity and uterine involution in dairy cattle*. J. Am. Vet. Med. Assoc. 149, 1596-1609.

37) Nakao T., Moriyoshi M., Kawata K. (1992) *The effect of postpartum ovarian dysfunction and endometritis on subsequent reproductive performance in high and medium producing dairy cows*. Theriogenology 37, 341-349.

38) Nanda A.S., Ward W.R., Dobson H. (1989) *Treatment of cystic ovarian disease in cattle – An update*. Vet. Bull. 59, 537-556.

39) Nanda A.S., Ward W.R., Dobson H. (1991) *Lack of LH response to oestradiol treatment in cows with cystic ovarian disease and effect of progesterone treatment or manual rupture*. Res. Vet. Sci. 51, 180-184.

40) Nanda A.S., Ward W.R., Williams P.C.W., Dobson H. (1988) *Retrospective analysis of the efficacy of different hormone treatments of cystic ovarian disease in cattle*. Vet. Rec. 122, 155-158.

41) Nation D.P., Burke C.R., Parton G., Stevenson R., Macmillan K.L. (2000) *Hormonal and ovarian responses to a 5-day progesterone treatment in anoestrous dairy cows in the third week post-partum*. Anim. Reprod. Sci. 63, 13-25.

42) Peter A.T., Bosu W.T.K., DeDecker R.J. (1989) *Suppression of preovulatory luteinizing hormone surges in heifers after intrauterine infusions of Escherichia coli endotoxin*. Am. J. Vet. Res, 50, 368-373.

43) Prandi A., Cairoli F., Fazzini U., Gabai G., Battocchio M. (1990) *Effetto della somministrazione di GnRH mediante pompe osmotiche in bovine da latte durante il post partum*. Atti SISVet XLIV, 477-480.

44) Rhodes F.M., Burke C.R., Clark B.A., Day M.L., Macmillan K.L. (2002) *Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles*. Anim. Reprod. Sci. 69, 139-150.

45) Ribadu A.Y., Dobson H., Ward W.R. (1994) *Ultrasound and progesterone monitoring of ovarian follicular cysts in cows trated with GnRH*. Br. Vet. J. 150, 489-497.

46) Ribadu A.Y., Nakata K., Moriyoshi M., Zhang W.C., Tanaka Y., Nakao T. (2000) *The role of LH pulse frequency in ACTH-induced follicular cysts in heifers*. Anim. Reprod. Sci. 64, 21-31.

47) Sciorsci R., Robbe D., Di Matteo A., Lacalandra G., Minoia P. (2000) *Treatment of ovarian follicular cysts in dairy cows with epidural Calcium-Naloxone and systemic GnRH administration: A preliminary field study*. 14th International Congress on Animal Reproduction, Stockholm 2-6 July 2000, 13, 12:7

48) Seguin B.E., Convey E.M., Oxender W.D. (1976) *Effect of gonadotropin-releasing hormone and human chorionic gonadotropin on cows with ovarian follicular cysts*. Am. J. Vet. Res. 37, 153-157.

49) Silvia W.J., Hatler T.B., Nugent A.M., Laranja da Fonseca L.F. (2002) *Ovarian follicular cysts in dairy cows: An abnormality in folliculogenesis*. Domest. Anim. Endocrinol. 23, 167-177.

50) Stevenson J.S., Call E.P., Scoby R.K., Phatak A.P. (1990) *Double insemination and gonadotropin-releasing hormone treatment of repeat-breeding dairy cattle*. J. Dairy Sci. 73, 1766-1772.

51) Tebble J.E., O'Donnell M.J., Dobson H. (2001) *Ultrasound diagnosis and treatment outcome of cystic ovaries in cattle*. Vet. Rec. 148, 411-413.

52) Thuemmel A.E., Gwazdauskas F.C., Whittier W.D., McGilliard M.L. (1992) *Effect of progesterone supplementation in repeat-breeder cattle on conception and plasma progesterone*. J. Endocrinol. Invest. 15, 393-396.

53) Veronesi M.C., Battocchio M., Cairoli F., Comin A., Isola M. (2002) *Tassi e tempi di guarigione in bovine con cisti luteiniche e follicolari dopo trattamento con buserelin*. Atti SISVet LVI, 113-114.

54) Veronesi M.C., Battocchio M., Mollo A., Luvoni G.C., Cairoli F., Vigo D., Messina M., Soldano F. (1996) *Cystic ovary treatment in cows with GnRH analogue administered intravenously or with subcutaneous osmotic pumps*. Archivio Veterinario Italiano 47, 159-168.

55) Veronesi M.C., Battocchio M., Ranghetti G., Cairoli F. (2001) *Efficacia del GnRH, PRID e hCG per il trattamento delle cisti ovariche della bovina da latte*. Atti Congresso Biodiversità e Riproduzione Animale, Bari 6-8 dicembre 2001, 66-69.

56) Walton J.S., Halbert G.W., Bobinson N.A., Leslie K.E. (1990) *Effects of progesterone and human chorionic gonadotropin administration five days postinsemination on plasma and milk concentrations of progesterone and pregnancy rates of normal and repeat breeder dairy cows*. Can. J. Vet. Res. 54, 305-308.

57) Wiltbank M.C., Gumen A., Sartori R. (2002) *Physiological classification of anovulatory conditions in cattle*. Theriogenology 57, 21-52.

ANDREA FORMIGONI[1], ERMINIO TREVISI[2],
ALESSANDRO GRAMENZI[1]

GESTIONE DELL'ALIMENTAZIONE NEL PERIPARTO DELLA BOVINA DA LATTE

MANAGEMENT OF DIET IN THE TRANSITION PERIOD

1 Dipartimento di Scienze degli Alimenti - Facoltà di Medicina Veterinaria - Università di Teramo
Piazza Aldo Moro - 64100 Teramo
2 Istituto di Zootecnica, Facoltà di Agraria - Università Cattolica del Sacro Cuore
Via Emilia Parmense, 84 - 29100 Piacenza.
Tel. 0523/599278; fax 0523/599276; e-mail: erminio.trevisi@unicatt.it

RIASSUNTO

Il periodo di transizione costituisce la fase più delicata per la gestione dell'alimentazione della vacca da latte. Gli eventuali errori alimentari compromettono il già fragile quadro immunitario-endocrino-metabolico favorendo lo sviluppo di patologie, riducendo la produzione di latte e la fertilità. Dopo aver evidenziato i principali eventi che caratterizzano questa fase – in particolare quelli che coinvolgono il metabolismo epatico - si sono esaminati i principali fattori della dieta che possono attenuare i rischi per la salute della lattifera. Nel dettaglio si sono valutati i fattori causa di una scarsa ingestione di sostanza secca (rilascio di citochine, qualità dei foraggi, corretta somministrazione della dieta) e i criteri per un corretto adeguamento dei fabbisogni (energetici, proteici, minerali e vitaminici), soffermandosi sull'efficacia di nuovi e specifici interventi (acidi grassi ω3, antiossidanti, taluni aminoacidi, probiotici, molecole ad azione antiinfiammatoria) che hanno mostrato incoraggianti risultati.

Parole chiave

Alimentazione, fase di transizione, asciutta, bovina da latte

SUMMARY

The transition period is the more critical phase of diet management of dairy cows. Any (also small) diet mistake overload the fragile immune-endocrine-metabolic status allowing pathology development, reduction of milk yield and fertility impairment. The main events that characterize this phase - particularly that involve liver metabolism - were discussed before to review the crucial diet factors affecting health status of dairy cows. In detail, its were examined the critical points that reduce dry matter intake (especially cytokine release, forage quality, adequate administration of diet) and the criteria for to meet the requirements (energy, protein, mineral an vitamin), dwelling upon some new specific nutrients (i.e. ω3 fatty acid, antioxidant, some amino acids, prebiotics, anti-inflammatory molecules) that have shown encouraging results.

Key words

Diet, transition period, dry period, dairy cow

INTRODUZIONE

Le ultime 3-4 settimane che precedono il parto e i primi giorni di lattazione rappresentano i momenti più delicati di tutto il ciclo produttivo della bovina e quelli ove più di frequente si verificano problemi sanitari.

Il "periodo di transizione" fra l'asciutta e la lattazione suscita l'interesse di numerosi au-

tori sia perché le bovine (soprattutto ad elevata potenzialità), sono sottoposte a straordinarie sollecitazioni endocrine, metaboliche, produttive e riproduttive sia perché errori alimentari e gestionali anche modesti mettono facilmente a rischio la sanità e la carriera dell'animale.

La comparsa di eventi morbosi come ritenzioni di placenta, metriti, collassi, tetanie, dislocazioni abomasali, chetosi, steatosi, mastiti, ecc, determinano un calo della efficienza economica dell'intero allevamento; all'aumento dell'incidenza delle patologie di stalla oltre limiti considerati accettabili o "di norma" (vedi tabella n° 1) conseguono infatti, maggiori costi (lavoro, acquisto medicinali e spese veterinarie, tassi di rimonta più elevati, ecc.), e minori rendimenti. Al contrario, mantenere sani gli animali, consente di esaltarne le performance produttive e riproduttive con indubbi vantaggi per il reddito degli allevatori, il benessere dell'animale, la sicurezza e la qualità delle produzioni.

Nel periodo di transizione la bovina incontra una serie di problemi fra loro collegati e di notevole importanza:

- ❒ l'equilibrio endocrino e metabolico si modifica profondamente e rapidamente per prepararsi al parto ed alla lattazione (Chiesa et al., 1991);
- ❒ i fabbisogni nutrizionali aumentano repentinamente sia per le necessità del feto sia, ed in misura molto più marcata, per la produzione di colostro e di latte;
- ❒ l'ingestione di alimenti si riduce fino al 30% ed oltre;
- ❒ l'attività epatica è spesso inadeguata rispetto alle necessità;
- ❒ il metabolismo minerale è fortemente sollecitato con forti rischi per l'omeostasi del calcio *in primis* ma anche del magnesio, del potassio e dei microelementi;
- ❒ la capacità di assorbimento di nutrienti da parte della mucosa ruminale e, forse dell'intestino, non è ancora ottimale;
- ❒ la competenza immunitaria è, spesso, alterata se non compromessa.

La situazione appare complessa e giustifica, almeno in parte, l'elevata incidenza di patologie spesso denunciata dagli allevatori e documentata da diversi autori (Jordan e Fourdraine, 1993; Bertoni e Trevisi, 1997); secondo quanto affermato da Goff e Horst (1997) "la transizione dalla fine della gravidanza alla lattazione è troppo spesso un'esperienza disastrosa per la bovina… pertanto benessere ed efficienza potrebbero essere sensibilmente migliorati se si comprendessero i fattori di una così alta incidenza di malattie nel periparto".

Secondo Drackley et al. (2001) l'origine dei problemi sarebbe da attribuire alla inadeguata disponibilità di nutrienti (aumento dei fabbisogni) ed alla intensa mobilizzazione di riserve; in particolare gli acidi grassi non esterificati (NEFA), provenienti dalla lipomobilizzazione, sovente non sono adeguatamente utilizzati nel fegato (figura n° 1).

Le alterazioni del metabolismo epatico (lipidosi e steatosi), possono derivare da una insufficiente sintesi e/o disponibilità di molecole che, direttamente o indirettamente, non consentono la completa ossidazione dei NEFA e/o la secrezione dei trigliceridi nel torrente ematico (Grummer e Carrol, 1988; Drackley, 1999); tuttavia, le ragioni per le quali il fegato non riesce ad utilizzare completamente gli acidi grassi, non sono affatto chiare.

Bertoni et al. (2000) individuano nell'aumento delle citochine uno dei principali fattori predisponenti le patologie che colpiscono la vacca nel periodo di transizione. Le citochine sono mediatori cellulari del sistema immunitario e sono rilasciate a seguito d'infezioni e/o infiammazioni (spesso derivanti da una riacutizzazione di fenomeni virali latenti), ma anche in condizioni di stress che si verificano frequentemente in prossimità del parto (cambio di gruppo, strutture inadeguate, mungitura ecc..) o per anomalie digestive. Le citochine attivano la risposta infiammatoria locale stimolando la liberazione degli eicosanoidi che sarebbero responsabili di rialzi termici, anoressia, aumentato catabolismo (specie lipidico), deviazione delle sintesi proteiche a livello epatico con riduzione della sintesi d'albumine, enzimi, "carriers" di vitamine ed ormoni, lipoproteine. Il TNFα (Tumor Necrosis Factor α) citochi-

na secreta sia dai macrofagi che dalle cellule di Kupfer nel fegato, ha attività citotossica ed è anche capace di modificare il destino dei nutrienti (Elsasser et al., 1997); questo mediatore può aumentare l'esterificazione e ridurre l'ossidazione degli acidi grassi, pertanto il rilascio di citochine potrebbe favorire un accumulo di trigliceridi nel fegato e quindi il rischio di steatosi. A ciò va aggiunto che gli adipociti (specie quelli di maggiori dimensioni tipici degli obesi) sono in grado di liberare citochine come il TNFα e la IL6 (Interleuchina 6) che favoriscono la lipolisi (Steppan e Lazar, 2002).

In prossimità del parto si osservano spesso "quadri" ematochimici tipici di situazioni infiammatorie anche in assenza di evidenti sintomi di infezioni (Cappa et al., 1989; Trevisi et al., 2002), ed esiste una correlazione tra i principali indici dello stato infiammatorio (innalzamento di aptoglobina, ceruloplasmina e globuline e riduzione di zinco, colesterolo e vitamina A) e le performance delle bovine. In questi casi, si osserva un calo dell'attività epatica, un ritardo del picco di lattazione, una minore ingestione degli alimenti e una perdita di peso più marcata, un ritardo nel ripristino della normale attività ciclica dell'ovaio e una riduzione dell'efficienza riproduttiva (Trevisi et al., 1998).

Alimentazione nella fase di transizione e prevenzione delle malattie

La relazione fra errori alimentari e insorgenza di malattie è nota da tempo ed adeguatamente documentata (NRC, 2001); la prevenzione delle più comuni patologie del puerperio appare collegata all'adozione di piani alimentari che assicurino equilibrati ed adeguati apporti; anche la tecnica di somministrazione degli alimenti condiziona i risultati come del resto il controllo delle condizioni ambientali che possono influenzare sostanzialmente i fabbisogni "complessivi" dell'animale (Formigoni e Mordenti, 1995).

Errori alimentari - anche lievi - si ripercuotono con pesanti effetti sul benessere, sullo stato di salute e sulla produttività delle bovine; ogni condizione di stress va evitata perché modifica i fabbisogni elevandoli, riduce l'ingestione e modifica i ritmi di assorbimento: si crea un circolo vizioso i cui effetti si manifestano in prossimità del parto o nella prima fase della lattazione.

Da un punto di vista alimentare e nutrizionale, le strategie da adottare debbono mirare a soddisfare le accresciute esigenze senza rischiare di compromettere la funzionalità ruminale ed epatica, ma cercando di modulare la risposta endocrino-metabolica in senso favorevole; questi obiettivi possono essere efficacemente perseguiti nel rispetto del benessere e della salute della bovina esaltando, quanto più possibile, la capacità d'ingestione in ogni fase produttiva. Promuovere una elevata ingestione di alimenti durante tutta l'asciutta ed in lattazione consente di migliorare le condizioni di bilancio nutrizionale senza dover ricorrere a soluzioni che spesso mal si conciliano con le esigenze fisiologiche delle bovine. Il principale intervento dietetico da realizzare è quello di fornire equilibrati apporti di substrati energetici, sostanze azotate, lipidiche, minerali e vitaminiche.

L'ingestione degli alimenti

Un importante, e non del tutto scontato, elemento da prendere in considerazione allorquando si parla di ingestione, è rappresentato dalla necessità di *monitorare giornalmente la quantità di alimenti assunti* dalle bovine.

Il controllo degli alimenti consumati è essenziale per:

- ❒ definire con precisione il problema all'interno dell'allevamento; non tutte le realtà sono infatti assimilabili a modelli che derivano da osservazioni sperimentali;
- ❒ formulare correttamente le razioni ed in particolare tarare la concentrazione di nutrienti da apportare;
- ❒ valutare correttamente le risposte che conseguono agli interventi effettuati.

La capacità di ingestione può variare sensibilmente in funzione dell'età, del momento stagionale e del momento dell'asciutta; da un punto di vista pratico, il controllo può essere effettuato con efficacia solo se gli animali sono separati in gruppi dedicati e definiti in funzione della distanza in giorni dal parto. La possibilità di disporre di spazi dedicati sufficienti, consente inoltre di gestire la formazione dei gruppi e delle razioni in funzione anche di altri fattori fra i quali i più importanti sono:

- ❒ lo stato sanitario degli animali (quelli sofferenti per patologie podali, stress da sovraffollamento, competizione, caldo, ecc., mangiano meno e quindi necessitano di maggiori attenzioni);
- ❒ l'ordine di parto (le primipare assumono meno alimenti rispetto alle pluripare);
- ❒ lo stato nutrizionale (gli animali in sovrappeso assumono meno alimenti e, soprattutto, sono più predisposti a dismetabolie).

In situazioni ottimali la capacità di assunzione delle bovine in asciutta si attesta su valori prossimi o superiori ai 12-13 kg di sostanza secca giornalieri; in questo caso è relativamente semplice soddisfare i fabbisogni nutritivi. Purtroppo però non è infrequente rilevare livelli di ingestione decisamente più modesti, dipendenti da condizioni ambientali o da diete inadatte: in questi casi i fabbisogni non sono coperti e le vacche perdono peso durante l'asciutta. Questo evento, secondo quanto rilevato in numerose ricerche, appare aumentare i rischi di insorgenza di svariate patologie al parto e all'inizio della lattazione.

In asciutta quindi, dovranno essere adottati dei piani alimentari che assicurino il mantenimento della condizione corporea (BCS) nel caso in cui sia soddisfacente, mentre se le bovine si presentano troppo magre (BCS < 3.0 punti) è utile fornire diete che consentano un adeguato recupero di peso. Questo obiettivo si può perseguire elevando la capacità di assunzione e, in secondo ordine, innalzando la concentrazione energetica delle diete.

I fattori che controllano la capacità di ingestione degli alimenti sono in gran parte ancora sconosciuti anche se sono noti i principali elementi che la influenzano.

Lo stato di salute dell'animale e le condizioni ambientali influenzano certamente la capacità di ingestione ma in particolare la qualità dei foraggi è fondamentale; infatti nella maggior parte degli allevamenti italiani rappresenta il fattore limitante per ottimizzare l'ingestione delle bovine in asciutta. Allorquando i foraggi impiegati siano scarsamente appetiti e digeribili, eccessivamente grossolani e ricchi di lignina, l'ingestione diminuisce anche in misura considerevole. La situazione si aggrava drasticamente in prossimità del parto quando, per diversi motivi, si osserva un calo di ingestione, che si spinge sino al 30% rispetto ai livelli massimi raggiunti in asciutta.

Poiché la quantità e la digeribilità della NDF delle razioni è un noto fattore condizionante l'ingestione degli animali, per esaltare l'appetito durante tutta l'asciutta si dovrà porre attenzione ai livelli di fibra neutro ed acido detersa delle razioni somministrate. L'impiego di foraggi di elevata qualità consente di ottimizzare la funzionalità digestiva esaltando al contempo la capacità di assorbimento della mucosa ruminale, senza dover elevare l'impiego di mangimi (maggiori rischi di alterazione della funzionalità ruminale); allorquando i foraggi siano inadeguati sotto il profilo qualitativo o quantitativo o l'ingestione sia limitata, la preparazione delle diete dovrà ispirarsi al principio di soddisfare i fabbisogni mantenendo l'uso di concentrati possibilmente entro il 40% della sostanza secca. Tale necessità non è infrequente a presentarsi in molte stalle ed è quasi indispensabile in condizione di forte stress termico; in particolare col freddo aumentano i fabbisogni mentre con il caldo diminuisce l'ingestione: il risultato è comunque quello di modificare le concentrazioni delle razioni.

La corretta preparazione e somministrazione delle razioni anche in asciutta appare più facilmente realizzabile attraverso l'impiego dei carri trinciamiscelatori. L'adozione del piatto unico specificatamente dedicato ai diversi gruppi in asciutta, consente di evitare i frequenti errori che si verificano usando "porzioni" delle razioni studiate e preparate per le

vacche in lattazione. Se ben realizzate le miscele di foraggi finemente trinciati (3-5 cm), uniti ai concentrati consentono una ingestione più elevata di alimento che può superare del 30% i valori ottenuti con somministrazione degli stessi alimenti separati (osservazione personale). È ormai acquisito che i migliori risultati in ordine alla ingestione, modalità di assunzione e costanza delle fermentazioni ruminali si realizza allorquando la disponibilità di alimento è costante e continua per tutta la giornata; ciò in pratica si realizza avvicinando più volte nel corso della giornata gli alimenti in greppia e fornendo una quantità di miscelata che assicuri un residuo, prima del nuovo scarico, di almeno il 5-7 % del distribuito.

La tecnica di preparazione del carro dovrà perseguire l'obiettivo di preservare la struttura fisica dei foraggi (specie di quelli fini e friabili), senza peraltro consentire alle bovine di selezionare le parti più fini che di solito corrispondono ai mangimi.

La capacità di cernita anche per le bovine è molto elevata soprattutto quando il piatto unico sia caratterizzato dalla presenza di foraggi eccessivamente lunghi e da scarsa umidità (inferiore al 40-45%): è quindi molto importante che le modalità di preparazione delle razioni siano attentamente valutate e curate.

Allorquando non sia possibile somministrare razioni sotto forma di piatto unico la scelta dei foraggi assume un'importanza ancora superiore; essi dovranno infatti essere appetibili e dotati di un profilo minerale ed azotato adeguato.

In tabella n° 2 vengono riportati i valori di riferimento delle diete da utilizzare durante le diverse fasi di asciutta.

Energia

Eccessivi apporti di energia nelle fasi finali della lattazione e in asciutta, comportano un ingrassamento delle bovine che saranno maggiormente esposte nel successivo parto, al rischio di una veloce ed eccessiva mobilitazione delle riserve lipidiche. Sarà dunque importante attuare strategie nutrizionali e di gestione dei gruppi in lattazione (per evitare l'eccessivo deposito di grassi di riserva), ed in asciutta (per scongiurare il rischio di dimagramenti e riportare "in condizione" gli animali troppo magri), tese a uniformare la condizione corporea delle bovine in prossimità del parto a valori di BCS compresi fra 3.3 e 3.6 punti (con scala di valutazione compresa fra 1 e 5 punti).

Anche i substrati energetici utilizzati hanno una rilevante importanza; un eccesso di energia fermentescibile nelle razioni di bovine in asciutta per esempio, predispone alla lipidosi. Il meccanismo, ben illustrato da Drackley (1999), coinvolge sia la diminuzione dell'ingestione che l'aumento dell'insulina, che a sua volta promuove la sintesi di trigliceridi nel fegato (dai NEFA) e reprime l'espressione dell'enzima chiave che favorisce l'assorbimento dei NEFA nei mitocondri (la CPT-1) per la loro ossidazione. L'impiego di adeguate quantità di carboidrati strutturali (NDF) caratterizzati però da un'elevata degradabilità ruminale (scarsa quantità di lignina) sembra dunque essenziale per ottenere l'obiettivo della copertura dei fabbisogni energetici senza incorrere nei rischi di un uso improprio dei concentrati.

In ogni caso è imperativo limitare le situazioni di bilancio energetico negativo che portano ad una forte mobilitazione delle riserve organiche e alla riduzione o alterazione delle difese immunitarie.

Per ottenere questo obiettivo nelle 2-3 settimane che precedono e seguono il parto è inevitabile impiegare un maggior uso di concentrati. Questa tecnica tuttavia, deve essere utilizzata con attenzione per evitare pericolose cadute di pH ruminale (acidosi), situazioni peraltro molto frequenti ove non si usino diete specifiche per il preparto; in pratica si tratta di utilizzare quantità di mangimi non superiori al 40% delle razioni.

I vantaggi della corretta adozione di questa pratica sono notevoli ed ascrivibili ai seguenti aspetti:

- ❒ favorevole azione di stimolo della capacità di assorbimento dei nutrienti da parte della mucosa ruminale e intestinale;
- ❒ adattamento della micropopolazione ruminale alle diete tipiche del post-parto;
- ❒ contenimento della caduta di ingestione;
- ❒ incremento della disponibilità di substrati energetici (glucosio) e azotati (aminoacidi) anche per un'accelerazione delle fermentazioni ruminali;
- ❒ migliori risposte produttive e riproduttive delle bovine.

In ogni caso appare prudente evitare l'utilizzo di razioni con un contenuto di NDF inferiore al 38-40% e con livelli di carboidrati non strutturali di molto superiori al 30-32%; inoltre appare importante considerare la struttura e la qualità delle fonti fibrose utilizzate.

Sostanze azotate

I modelli di previsione del fabbisogno di proteine in generale, sottostimano le reali necessità nel periodo di asciutta (Van Saun e Sniffen, 1996). In particolare nel periodo di transizione alle necessità di mantenimento, gravidanza e produzione del colostro si sommano le specifiche esigenze della micropopolazione ruminale e il fabbisogno in aminoacidi che vengono deaminati per la neosintesi di glucosio (aminoacidi gluconeogenetici), inoltre, non sono ancora adeguatamente definiti i fabbisogni connessi con lo sviluppo del tessuto mammario che, peraltro, sembrano essere di non trascurabile importanza.

Secondo NRC (2001) le esigenze azotate della micropolazione ruminale vengono soddisfatte quando la concentrazione proteica della razione raggiunge il 12% della sostanza secca. La necessità di ricorrere a fonti di proteine ruminoresistenti appare modesta: la degradabilità ruminale dovrebbe aggirarsi intorno al 68-70% e le proteine solubili dovrebbero attestarsi a valori del 30-35%. Durante le fasi iniziali e centrali dell'asciutta queste concentrazioni azotate sono facilmente raggiungibili impiegando foraggi di buona qualità. Con l'approssimarsi del parto, stante l'aumento dei fabbisogni e la riduzione di appetito, si ipotizza la necessità di dotare le diete di concentrazioni proteiche più elevate. Putnam e Varga (1998), elevando le proteine sino al 14,5% della sostanza secca, nelle bovine con condizione corporea migliore (BCS>3.25), hanno registrati livelli plasmatici di NEFA e βOHB inferiori, ovvero condizioni meno predisponenti alla chetosi. Huyler e al. (1999), utilizzando per l'intera asciutta tre diete a diversa concentrazione proteica (11,7; 15,5 e 20,6% della s.s.), ciascuna delle quali con una crescente frazione by-pass (27, 43 e 52% rispettivamente per le tre tesi), hanno constatato una maggiore ingestione di alimenti nel post-parto (+ 6-10%) e una più elevata produzione di latte (+5-7%) con le diete più ricche di proteine (e con la più elevata quota by pass) senza peraltro notare variazioni degli indici del metabolismo energetico (trigliceridi nel fegato e NEFA plasmatici).

Invece, Hartwell et al. (2000) hanno osservato migliori performance produttive a seguito della somministrazione in asciutta di diete al 14.1% di proteine (29% di by-pass) piuttosto che al 16,2% (39% di by-pass).

Possibili spiegazioni per questi risultati all'apparenza contraddittori, potrebbero derivare da una mancato bilancio nelle diete per le proteine metabolizzabili. Ad ogni modo, anche per le bovine in asciutta, appare importante soddisfare i fabbisogni della popolazione batterica ruminale per esaltare la disponibilità di aminoacidi in sede intestinale, questo risultato si può raggiungere utilizzando tenori proteici medio bassi a patto che si abbia una soddisfacente capacità di ingestione e che siano equilibrati gli apporti in carboidrati strutturali e di riserva.

Anche se ancora non completamente chiariti, ruoli particolari potrebbero essere svolti dagli aminoacidi che sono utilizzati come precursori del glucosio; in prossimità del parto l'efficienza di conversione in glucosio infatti, sarebbe pari o addirittura superiore a quella

del propionato (Drackley, 1999; Drackley et al., 2001). In condizione di forte deficit energetico quindi, la disponibilità di taluni aminoacidi potrebbe effettivamente divenire critica: alanina e glutamina sarebbero quelli più richiesti in quanto da soli garantirebbero fra il 40 ed il 60% del glucosio che potenzialmente può essere ottenuto per questa via. D'altra parte l'accumulo di trigliceridi nel fegato (lipidosi) avrebbe un'azione depressiva sulla sintesi di glucosio a partire dal propionato e su quella di urea. Quest'ultimo fatto determinerebbe un aumento della concentrazione di ammoniaca, responsabile di un ulteriore effetto inibente sulla conversione del propionato a glucosio. La lipidosi non modificherebbe invece il metabolismo degli aminoacidi, la cui utilizzazione con finalità diverse da quelle plastiche peraltro, contribuisce ad aggravare il sovraccarico epatico di "scorie" azotate.

In ogni caso nella maggioranza delle situazioni, laddove si possa realizzare un razionamento diversificato per le bovine in attesa del parto (2–3 settimane), è opportuno aumentare il tenore proteico al 13,5-14,5% della sostanza secca con un 35% di by-pass circa, così da bilanciare gli apporti anche in funzione della ridotta ingestione che di norma si verifica.

Dopo il parto il fabbisogno proteico si accresce seguendo ritmi molto elevati e dipendenti dalle forti necessità aminoacidiche ed energetiche della bovina. La mobilizzazione di proteine endogene è modesta nei confronti del totale delle riserve mobilizzate (non oltre il 10% del totale), ma particolarmente importante e rapida; il picco si verificherebbe entro la prima settimana di lattazione (Bell et al., 2000) e in gran parte sarebbe attribuibile alla scarsa capacità di ingestione. In tal senso appare corretto elevare sia la concentrazione proteica (17% ed oltre) sia la frazione by-pass (37-40%) delle diete; relativamente a quest'ultimo punto va peraltro rimarcata la necessità di porre adeguata attenzione alla potenziale digeribilità intestinale delle fonti ruminoresistenti impiegate e all'equilibrio aminoacidico della razione. I risultati conseguiti con l'uso di aminoacidi ruminoprotetti in bovine in attesa del parto, non hanno fin qui sortito risultati univoci; Rode et al. (1994) hanno osservato una diminuzione della frequenza di dismetabolie; Durand et al. (1992) una maggior secrezione di lipoproteine, mentre Bertics e Grummer (1999) non hanno evidenziato effetti sul metabolismo epatico. In ogni caso, l'impiego di adeguati ed equilibrati supplementi azotati consente, di norma, di esaltare la produzione di latte e di migliorare il quadro metabolico delle bovine (livelli plasmatici di glucosio ed insulina più elevati, riduzione di NEFA e βOHB).

Nelle prime settimane di lattazione l'adozione di diete che apportino aminoacidi in equilibrio rispetto ai teorici fabbisogni consente di ottenere interessanti risultati sia sotto il profilo produttivo sia da un punto di vista sanitario (Bertoni et al., 1998). Una parte dei risultati sarebbero dovuti alla migliore efficienza di conversione delle sostanze azotate (minore "affaticamento" metabolico), ma anche alla copertura di fabbisogni specifici, in particolare a livello epatico.

Metionina e lisina sono stati utilizzati più frequentemente perché appaiono limitanti per la produzione di elevate quantità di latte (Formigoni et al., 1993). Recenti ricerche sembrano indicare tuttavia, che i fabbisogni della bovina ad elevata potenzialità produttiva debbano essere considerati non solo in funzione della produzione di latte ma, soprattutto nelle fasi di transizione, in funzione di ruoli che gli aminoacidi potrebbero svolgere e che ad oggi sono quasi sconosciuti: glicina, cisteina, arginina e taurina ad esempio, svolgerebbero un compito essenziale nell'attivazione della risposta immunitaria delle bovine (Grimble, 1998; O'-Flaherty e Bouchier-Hayes, 1999; Fligger et al., 1997; Waller, 1998). Questi aminoacidi non sono ritenuti limitanti ma la loro concentrazione ematica è molto ridotta a seguito di fenomeni infiammatori e patologici in quanto largamente impiegati nel mantenimento e nell'aumento del glutatione. In ogni caso allo stato attuale, un'integrazione specifica con questi composti appare poco probabile per l'elevata onerosità del trattamento: costo dei singoli aminoacidi, rumino-protezione e quantitativi suggeriti ne rendono impossibile un impiego

su larga scala. A titolo di esempio si riporta che la supplementazione di arginina suggerita da Fligger e al., (1997) dovrebbe raggiungere i 500 mg/kg di peso vivo.

Lipidi

Il supplemento di lipidi nella fase di transizione è da lungo tempo studiato ed anche attuato nella logica di aumentare la concentrazione energetica delle diete senza incorrere nei rischi di acidosi ruminale. I vantaggi non sono costanti anche per la forte limitazione dell'appetito che la grassatura comporta. Di recente numerosi autori hanno sottolineato l'importanza dei grassi non solo in funzione dell'energia che apportano quanto per il ruolo nutrizionale che essi svolgono. In relazione a quest'ultimo aspetto, sono recentemente emersi interessanti elementi che dimostrano l'importanza di una corretta nutrizione lipidica fin dalla fase terminale della gestazione.

Drackley (1999) riporta effetti positivi nella prevenzione della lipidosi epatica allorquando sia adottata una grassatura nella parte finale della gravidanza; sarebbe infatti indotto un adattamento alla β-ossidazione dei NEFA nei perossisomi, che manterrebbero questa proprietà dopo il parto. I lipidi sarebbero capaci di attivare, direttamente o per una variazione della fluidità delle membrane (che modula il trasporto di substrati e prodotti), le PPAR (*peroxisome proliferator activated receptors*) promotori della trascrizione degli enzimi ossidativi nei perossisomi, cioè della via alternativa di ossidazione dei lipidi in presenza di abbondanti tenori di NEFA (Figura n° 1). Houseknecht et al. (2002), indicano quali responsabili di tale attivazione alcuni acidi grassi, in particolare linoleico, linolenico, eicosapentaenoico, ma molti acidi grassi polinsaturi in modeste quantità sarebbero in grado di indurre lo stesso effetto. Nel processo di attivazione della PPAR interverrebbe anche l'acido 9 cis retinoico, coinvolgendo nel metabolismo dell'ossidazione dei lipidi anche la vitamina A.

Si ritiene che per svolgere le funzioni descritte siano sufficienti modesti apporti di grassi nella fase terminale dell'asciutta, prossime ai 100 g/capo/d (Bertoni e Trevisi, 1997).

Interessante appare anche l'uso mirato di alcuni acidi grassi che svolgono funzioni nutrizionali ben specifiche e determinate. Gli acidi grassi ω3 ad esempio, contenuti prevalentemente nell'olio di pesce, in alghe particolari ed in alcuni olii vegetali (seme di lino ad esempio), modulano la risposta immunitaria riducendo la sintesi degli eicosanoidi proinfiammatori a favore di quelli antinfiammatori (Bertoni e Trevisi, 2001). Nella realtà il loro impiego richiede ulteriori ricerche, specie nel periodo di transizione, ma è incoraggiante constatare come la somministrazione di 80 g/capo/d di olio di pesce rumino-protetto per 7 giorni sia risultato efficace nell'accelerare il decorso clinico in soggetti colpiti da infiammazioni acute (artrosinoviti) e nel riacutizzare il quadro infiammatorio latente con effetti negativi immediati, ma positivi a lungo termine in un soggetto con infiammazione cronica (Trevisi et al., 2001).

Macroelementi e microelementi minerali

Già si è accennato all'importanza di mantenere l'omeostasi calcica in prossimità del parto per limitare l'incidenza di patologie quali collassi puerperali, ritenzioni di placenta, metriti, dislocazioni abomasali. L'obiettivo può essere raggiunto equilibrando gli apporti di cationi ed anioni nelle fasi finali dell'asciutta ed assicurando una ottimale disponibilità idrica agli animali.

Altri minerali intervengono nel modulare le risposte sanitarie e produttive è appena il caso di ricordare i ruoli del magnesio, del sodio e del potassio. Anche gli oligoelementi svolgono ruoli nutrizionali essenziali; selenio, rame, ferro, zinco e manganese, a vario titolo intervengono nei meccanismi di difesa cellulare ed extracellulare (Morgante et al., 1997). Anche il cromo, il cui uso non è attualmente consentito in Italia, esplica una marcata azione immuno-

stimolante come dimostrano numerose sperimentazioni. Importanti appaiono anche le fonti di oligoelementi utilizzati per la loro disponibilità biologica; in particolare l'utilizzazione di forme chelate e/o complessate si sono rivelate capaci di influenzare le risposte produttive e riproduttive di bovine ad elevata produzione di latte (Formigoni et al., 1986) riducendo il numero di cellule somatiche ed il numero di mastiti (Harmon e Torre, 1997). Anche il tipo di legame fra metallo e componente organica sembra capace di orientare la velocità di captazione e la disponibilità del microelemento per siti privilegiati di assorbimento e di utilizzazione.

Interventi specifici

Stante l'importanza economica di prevenire le patologie tipiche del periodo di transizione e l'arco di tempo limitato nel quale questi eventi morbosi originano, appare del tutto interessante valutare l'efficacia di supplementi alimentari che agiscano come supporti di "pronto soccorso" o che addirittura possono svolgere un ruolo di tipo farmacologico.

Da tempo è nota, ad esempio, l'efficacia del glicole propilenico quale composto ad azione antichetosica; il suo uso determina uno stato metabolico ed endocrino più favorevole (riduzione NEFA, corpi chetonici, aumento IGF-I), cui conseguono una maggiore produzione di latte, migliori performances riproduttive e una diminuzione delle cellule somatiche nel latte (Formigoni et al., 1996)

Alcuni principi alimentari (nutraceutici) paiono interessanti nella prospettiva di modulare oltrechè la risposta metabolica anche quella immunitaria (Calder, 2000; Chandra, 1991; Grimble, 1998; O'Flaherty e Bouchier-Hayes, 1999). In questo ambito di azione le prospettive più interessanti sono legate all'uso di alcuni aminoacidi, acidi grassi ω3 (dei quali già si è fatto cenno), vitamine, antinfiammatori (es. acido acetilsalicilico), prebiotici e/o probiotici.

Nei periodi caratterizzati da intenso *stress* ossidativo (traumi, infezioni batteriche o virali, intensificazione delle attività metaboliche anche in seguito a stress ambientali) appare utile rafforzare i sistemi organici che bilanciano i potenziali effetti negativi determinati dalla liberazione dei radicali liberi; la fase del periparto è caratterizzata da una condizione di stress ossidativo intenso (Calderone et al., 1998) in grado di giustificare talune delle più frequenti patologie (Miller et al., 1993).

Svariati composti possono agire da antiossidanti e le vitamine E, C ed i β-caroteni sono tra i più importanti (Galyean et al., 1999; Nockels, 1996). I risultati di diverse ricerche suggeriscono di aumentare le integrazioni di vitamina E ben oltre i fabbisogni, raggiungendo anche i 4000 mg/giorno (Kehrli et al., 1998; Nockels, 1996; Politis et al., 1995) nelle fasi vicine al parto. Si tratta di un uso non convenzionale delle vitamine da tempo ipotizzato (Mordenti e Marchetti, 1996) cui è seguita una riduzione della morbilità (Galyean et al., 1999), dei casi di mastiti e del numero di cellule somatiche (Nockels, 1996), probabilmente per una stimolazione della proliferazione e/o dell'attività dei neutrofili e dei macrofagi. La somministrazione orale sarebbe peraltro più efficace di quella parenterale (Galyean et al., 1999).

La vitamina C ha una funzione antiossidante rigenerando la vitamina E e, probabilmente, il glutatione. Galyean et al. (1999) riportano una riduzione delle patologie in vitelle ai quali era stata somministrata vitamina C in dose dieci volte superiore ai fabbisogni, mentre nei vitelloni, iniezioni sottocutanee di 20-40 mg/kg di peso vivo hanno migliorato la funzionalità dei neutrofili (Roth e Kaeberle, 1985).

La vitamina C viene rapidamente e pressoché completamente degradata in rumine quindi un suo impiego per via alimentare nelle bovine dovrebbe prevedere adeguati trattamenti di protezione.

Interessanti sono anche le indicazioni sull'efficacia del β-carotene (Nockels, 1996), che utilizzato in ragione di 300 mg/giorno nel periodo di transizione, diminuirebbe il numero di cellule somatiche, esaltando l'attività fagocitaria dei neutrofili.

Le vitamine possono divenire dunque, come del resto altri nutrienti, limitanti in talune vie metaboliche; gli esempi sono svariati e di grande interesse, colina e carnitina agirebbero migliorando la funzionalità epatica e le risposte produttive delle bovine (Pezzi et al., 1998), la biotina insieme alla vitamina B12 sarebbe utile per ottimizzare il metabolismo del propionato ed elevare la glicemia (Formigoni et al., 2001).

Lo stato infiammatorio che spesso interessa la bovina da latte in prossimità del parto, determina alterazioni del comportamento alimentare che possono pregiudicare anche gravemente le funzioni organiche. Gli incoraggianti risultati ottenuti con l'impiego di acido acetilsalicilico nel recupero della normale attività metabolica nel post-parto (Trevisi, dati non pubblicati), sembrano confermare l'importanza di contenere il "problema infiammatorio" e l'interesse a valutare l'efficacia di nuovi composti capaci di agire selettivamente nei confronti della ciclossigenasi di tipo inducibile o patologica, ma non di quella implicata nella sintesi delle prostaglandine protettive (Zizzadoro e Belloli, 2001).

Infine non sono da trascurare gli interventi nutrizionali che intendono migliorare la funzionalità e salvaguardare l'integrità della mucosa intestinale; in tal senso appare interessante l'impiego di prebiotici (frutto-oligosaccaridi e mannano-oligosaccaridi) che stimolano la colonizzazione intestinale dei microrganismi con azione protettiva della mucosa stessa a svantaggio di quelli patogeni; probiotici (lattobacilli, bifidobatteri ecc..) o di entrambe contemporaneamente. Sebbene poche prove siano state realizzate in bovine da latte, incoraggianti sono i risultati ottenuti da Savoini et al. (2000) che a seguito della somministrazione di 15 g/capo/d di un pool di lattobacilli (L. plantarum, L. acidophilus, L. casei, E. faecium) parzialmente protetti dalla degradazione ruminale hanno osservato miglioramenti dello stato metabolico e della produzione di latte.

Conclusioni

La corretta gestione delle bovine nella fase di transizione dall'asciutta alla lattazione rappresenta un obiettivo di primaria importanza per salvaguardare la salute ed il benessere della bovina e con essi esaltare le performance produttive e riproduttive.

Le esperienze di campo e i risultati delle numerose ricerche svolte per definire le strategie da adottare per minimizzare i rischi connessi con questa delicata quanto importante fase produttiva indicano la necessità di:

- ❒ favorire le condizioni di benessere delle bovine attraverso un accurato controllo delle condizioni ambientali di allevamento (spazi disponibili, controllo della temperatura e dell'igiene, ecc.);
- ❒ limitare le fonti di stress ivi comprese quelle derivanti da spostamenti e pratiche zootecniche e sanitarie improprie, sovraffollamenti, ecc.;
- ❒ esaltare la funzionalità del sistema immunitario e le resistenze della bovina anche attraverso l'adozione di puntuali, precisi e programmati interventi vaccinali;
- ❒ favorire l'ingestione di alimenti, quale via maestra per soddisfare al meglio i fabbisogni energetici senza ricorrere all'eccessivo uso di concentrati;
- ❒ modulare l'attività endocrina, metabolica ed immunitaria delle bovine ricorrendo a strategie nutrizionali che la più recente ricerca ha individuato come efficaci.

Tabella n° 1 – Obiettivi sanitari della bovina al parto
Table 1 – Health goals of dairy cows

Ritenzioni placenta	*Retained placenta*	≤ 10%
Dislocazioni abomaso	*Displaced abomasum*	≤ 3%
Chetosi	*Ketosis*	≤ 5%
Collasso puerperale	*Milk fever*	≤ 1,5%
Metriti	*Metritis*	≤ 12%
Mastiti al parto	*Mastitis at calving*	< 5%
Periodo asciutta > 70d	*Dry period > 70 d*	15%
Periodo asciutta < 60d	*Dry period < 60 d*	15%

Tabella n° 2 – Fabbisogni nutrizionali della vacca in asciutta
Table 2 – Diet requirements of dry cow

NUTRIENTI *Nutrients*	**FASE INIZIALE E INTERMEDIA** *Starting & intermediate phase*	**ULTIMO PERIODO** *Last phase*
s.s. (% P.V.)	1,9 - 2,1	1,6 – 1,8
P.G. (% s.s.)	12 - 13	13 – 14
Proteina solubile (% P.G.)	32 - 35	31 - 33
Proteina degradabile (% P.G.)	65 – 70	62 – 67
Energia netta (Mcal/kg)	1,10 – 1,20	1,5 – 1,61
ADF (% s.s.)*	35 – 40	20 – 24
NDF (% s.s.)**	50 – 65	37 – 44
L.G. (% s.s.)	3 – 4	3 – 5
Ca (% s.s.)	0,31 – 0,35	0,36 – 0,80
P (% s.s.)	0,19 – 0,21	0,24 – 0,35
K (% s.s.)	0,65 – 0,75	0,70 – 0,80
Mg (% s.s.)***	0,18 – 0,20	0,25 – 0,28
S (% s.s.)***	0,16 – 0,18	0,25 – 0,36
Na (% s.s.)	0,10 – 0,13	0,12 – 0,15
Cu (ppm)	10 – 15	12 – 18
Co (ppm)	0,10	0,12
I (ppm)	0,60	0,70
Fe (ppm)	50	60
Se (ppm)	0,30	0,30
N:S (rapporto)	10 – 13:1	5 – 12:1
Vitamina A (UI/kg)	4.000	4.700
Vitamina D (UI/kg)	1.200	1.400
Vitamina E (UI/kg)	25	30

* ADF è una misura della fibra associata alla digeribilità e non all'ingestione
ADF measure of fibre linked to digestibility (not to intake)
** NDF è una misura della parete cellulare ed è negativamente correlata all'ingestione
NDF measure of cell wall, negatively correlated to intake
*** aumentare la concentrazione a 0,38% quando il livello di potassio eccede 1,1%
increase the concentration to 0.38% when the potassium level exceed 1.1%

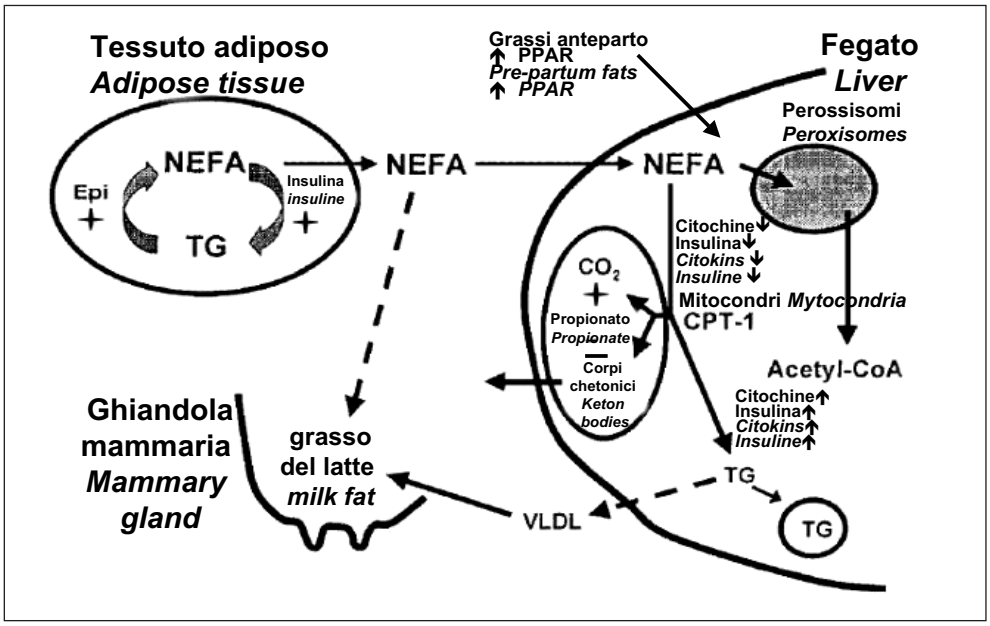

Figura 1 – Rappresentazione schematica della relazione fra il metabolismo dei lipidi nel tessuto adiposo, nel fegato e nella ghiandola mammaria (Drackley, 1999 modificata)
Legenda: + per effetto positivo; - per effetto negativo; CPT-1: carnitina palmitoiltransferasi; linea tratteggiata indica processi che avvengono lentamente; epi=epinefrina; TG=trigliceridi; NEFA=acidi grassi non esterificati; VLDL=lipoproteine a bassissima densità; PPAR: recettori attivabili dei perossisomi; in corsivo i principali fattori di attivazione/inibizione delle reazioni.
Figure 1- Schematic representation of relationships among lipid metabolism in adipose tissue, liver and mammary gland (Drackley, 1999, modified).
Legend: Plus sign (+) indicate stimulatory effects, minus sign (-) indicate inhibitory effects; dashed lines indicate processes that occur at low rates or only during certain physiological states; epi=epinephrine;TG=triglyceride; VLDL=very low density lipoproteins; CPT-1=carnitine palmitoyltransferase 1; PPAR=peroxisome proliferator-activated receptors; in italic the main factors of stimulation/inhibition of processes.

BIBLIOGRAFIA

1) Bell A.W., Burhans W.S., Overton T.R. (2000) - *Protein nutrition in late pregnancy, maternal protein reserves and lactation performance in dairy cows*. Proc. Nutr. Soc. 59: 119-126.

2) Bertics S.J., Grummer R.R. (1999) - *Effects of fat and methionine hydroxy analog on prevention or alleviation of fatty liver induced by feed restriction*. J. Dairy Sci. 82: 2731-2736.

3) Bertoni G., Trevisi E. (1997) - *Le principali malattie metaboliche delle lattifere e la loro prevenzione. L'Informatore Agrario*, 53 (suppl. n°47): 1-34.

4) Bertoni G., Trevisi E., Calamari L., Lombardelli R. (1998) - *Additional energy and protein supplementation of dairy cows in early lactation: milk yield, metabolic-endocrine status and reproductive performances*. Zoot. Nutr. Anim. 24:17-29.

5) Bertoni G., Calamari L., Trevisi E. (2000) - *Alterazioni della funzionalità epatica nel puerperio e conseguenze sulla fertilità della bovina*. In "La riproduzione in zootecnia" vol. III, Ed. G. Enne, G. Rossi. Pp 195-208.

6) Bertoni G., Trevisi E. (2001) - *Effetti degli acidi grassi polinsaturi ω3 sul sistema immunitario e sull'attività riproduttiva degli animali da reddito*. Atti 3° Convegno Nazionale "Acidi grassi polinsaturi ω-3 e antiossidanti", Progress in Nutrition 3(2):17-25.

7) Calderone D., Pezzi P., Panciroli A., Quarella, M., Formigoni A. (1998) - *Preliminary studies on «Oxidative status" in dairy cows*. Proceedings of "X MittleEuropean Congress of Buiatrics", Hungary 21-24 May 1998.

8) Calder P.C., Jackson A.A. (2000) - *Undernutrition, infection and immune function*. Nutrition Research Reviews, 13: 3-29.

9) Cappa V., Trevisi E., Bertoni G. (1989) - *Variazioni ematiche e produttive nel 1° mese di lattazione in bovine di allevamenti con o senza problemi «post-partum»*. Zoot. Nutr. Anim., 15: 645-660.

10) Chandra R.K. (1991) - *Nutrition and immunity in the elderly*. Nutrition Research Reviews, 4:83-95.

11) Chiesa F., Gaiani R., Formigoni A., Accorsi P.A. (1991) - *Modificazioni del quadro endocrino e metabolico in bovine da latte ad elevata potenzialità produttiva durante l'asciutta e la lattazione*. Arch. Vet. It., 42, (4), 157-179.

12) Drackley J. K. (1999) - *ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier?* J. Dairy Sci, 82: 2259-2273.

13) Drackley J.K., Overton T.R., Douglas G.N. (2001) - *Adaptations of glucose and long-chain fatty acids metabolism in liver of dairy cows during the peripaturient period*. J. Dairy Sci. 84 (E. Suppl.): E100-E112.

14) Durand D., Chilliard Y., Bauchart D. (1992) - *Effects of lysine and methionine on in vivo hepatic secretion of VLDL in the high yielding dairy cow*. J Dairy Sci. 75(Suppl.1): 279.

15) Elsasser T.H., Kahl S., Steele C., Rusmey T.S. (1997) - *Nutritional modulation of somatotropic axis-cytokine relationships in cattle: a brief review*. Comp. Biochem. Physiol., 116A (3): 209-221.

16) Fligger J.M., Gibson C.A., Sordillo L.M., Baumrucker (1997) - *Arginine supplementation increase weight gain, depresses antibody production, and alters circulating leukocyte profiles in preruminant calves without affecting plasma growth hormone concentrations*. J. Anim. Sci. 75: 3019-3025.

17) Formigoni A., Parisini P., Corradi F. (1986) - *Gli oligoelementi protalosati nell'alimentazione della vacca da latte ad alta produzione*. O.D.V., 7, (9), 57-62.

18) Formigoni A., Scipioni R., Sardi L., Mordenti A., Piva A. (1993) - *Integrazione con DL-metionina e DL-metionina «ruminoprotetta» di diete per vacche da latte: effetti nella prima fase produttiva*. Atti 10° Congresso Nazionale A.S.P.A., 215-221.

19) Formigoni A., Mordenti A. (1995) - *La gestione dell'alimentazione nella vacca da latte ad elevata produzione*. Atti S.I.B., 27, 55-69.

20) Formigoni A., Cornil M.C., Prandi A., Mordenti A., Rossi A., Portetelle D., Renaville R. (1996) - *Effect of propylen glycol supplementation around parturition on milk yield, reproduction performance and some hormonal and metabolic characteristics in dairy cows*. Journal Dairy Research., 63, 11-24.

21) Formigoni A., Biagi G., Pezzi P., Lambertini L., Mordenti A. (2001) - *Effects of biotin supplementation on productive performance of dairy cows. 52° Annual Meeting of the EAAP*, 25-29 Aug., Budapest, (2001)

22) Galyean M.L., Perino L.J., Duff G.C. (1999) - *Interaction of cattle health/immunity and nutrition*. J. Anim. Sci. 77:1120-1134.

23) Goff J.P., Horst R.L. (1997) - *Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders*. J. Dairy Sci, 80: 1260-1268.

24) Grimble R.F. (1998) - *Modification of inflammatory aspects of immune function by nutrients*. Nutrition Research 18: 1297-1317.

25) Grummer R.R., Carroll D.J. (1988) - *A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function*. J. Anim. Sci. 66: 3160-3173.

26) Harmon R. J., Torre P. M. (1997) - *Economic implications of copper and zinc proteinates: role in mastitis control*. In Biotechnology in the feed industry, Proceedings of Alltech's 13th annual symposium, 419-430.

27) Hartwell J.R., Cecava M.J., Donkin S.S. (2000) - *Impact of dietary rumen undegradable protein and rumen-protected choline on intake, peripartum liver triacylglyceride, plasma metabolites and milk production in transition dairy cows*. J. Dairy Sci. 83: 2907-2917.

28) Houseknecht K.L., Cole B.M., Steele P.J. (2002) - *Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARg) and its ligands: A review*, Domestic Animal Endocrinology, 22: 1-23.

29) Huyler M.T., Kincaid R.L., Dostal D.F. (1999) - *Metabolic and yield responses of mulpiparous holstein cows to prepartum rumen-undegradable protein*. J. Dary Sci. 82: 527-536.

30) Kehrli M.E., Kimura K., Goff J.O., Stabel J.R., Nonnecke B.J. (1998) - *Periparturient immunosuppression in dairy cows: nutrition and lactating effects*. In "Production diseases in farm animals. 10th Int. conf." Ed. Wensing T., Wageningen Pers, pp 41-55.

31) Jordan E.R., Fourdraine R.H. (1993) - *Characterization of the management practices of the top milk producing herds in the country*. J. Dairy Sci. 76:3247-3256.

32) Miller J. K., Brzezinska-Slebodzinska E., Madsen F.C. (1993) - *Oxidative stress, antioxidants, and animal function*. J. Dairy Sci. 76:2812-2823.

33) Mordenti A., Marchetti M. (1996) - *Use of vitamins for nonconventional purposes*. Atti del 14th I.P.V.S Congress, Bologna, 7-10 Luglio 1996.

34) Morgante M., Pasuelli M, Tacchio G., Dikeocha H.N.D., Prepi M., Ranucci S. (1997) - *Antioxidant status and trace elements in dairy cows*. Proc. 32nd International Livestock Symposium, Milano.

35) Nockels C.F. (1996) - *Antioxidants improve cattle immunity following stress*. Anim. Feed Sci. Tech. 62: 59-68.

36) NRC (National Research Council) (2001) - *Nutrient Requirements of dairy cattle*. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.

37) O'Flaherty L., Bouchier-Hayes D.J. (1999) - *Immunonutrition and surgical practice*. Proceedings of the Nutrition Society, 58: 831-837.

38) Pezzi P., Trombetta F., Piva A., Panciroli A., Formigoni A. (1996) - *Influenza della somministrazione di colina «ruminoprotetta» a bovine da latte su alcuni parametri ematochimici*. Atti S.I.S. Vet., 50, 565-566.

39) Politis I., Hidirouglou M., Batra T.R., Gilmore J.A., Gorewit R.C., Scherf H. (1995) - *Effects of vitamin E on immune function of dairy cows*. Am. J. Vet. Res. 56: 179-184.

40) Putnam D.E., Varga G.A. (1998) - *Protein density and its influence on metabolite concentration and nitrogen retention by holstein cows in late lactation*. J. Dairy Sci. 81: 1608-1618.

41) Rode L.M., Fujieda T., Sato H., Suzuki H., Julien W.E., Sniffen C.J. (1994) - *Rumen-protected amino (RPAA) acid supplementation to dairy cows pre- and post-parturition*. J. Dairy Sci. 77:243.

42) Roth J.A., Kaeberle M.L. (1985) - *In vivo effect of ascorbic acid on neutrophil function in healthy and dexamethasone-treated cattle*. J. Vet. Res. 46: 2434-2436.

43) Savoini G., Mancini G., Sgoifo Rossi C., Grittini A., Baldi A., Dell'Orto V. (2000) - *Somministrazione di lattobacilli a bovine in transizione: effetti sui livelli ematici di glucosio*, NEFA, β-idrossibutirrato e sulla produzione di latte, ODV 01: 65-70.

44) Steppan C.M., Lazar M.A. (2002) - *Resistin and obesity-associated insulin resistence. Trends in Endocrinology and Metabolism*, 13: 18-23.

45) Trevisi E., Calamari L., Iamartino N., Bertoni G. (1998) - *Sintesi epatiche nel post-parto della bovina: possibili cause di variazione e relazione con la fertilità*. Proc. X Meeting Nazionale su "Studio della efficienza riproduttiva degli animali di interesse zootecnico". Bergamo, 12.06.1998, 10: 37-41.

46) Trevisi E., Piccioli-Cappelli F., Bertoni G. (2001) - *Ricerche preliminari sugli effetti di olio di fegato di merluzzo rumine-protetto in bovine affette da problemi infiammatori diversi.* Atti 3° Convegno Nazionale "Acidi grassi polinsaturi ω-3 e antiossidanti", Progress in Nutrition 3(2):76.

47) Trevisi E., Han X.-T., Piccioli-Cappelli F., Bertoni G. (2002) - *Dry matter intake reduction before calving in dairy cows: relationship with immune system and metabolism conditions*. 53rd Annual Meeting EAAP, Cairo, Egypt, September 1-4 2002.

48) Van Saun R.J., Sniffen C.J. (1996) - *Nutritional management of the pregnant dairy cow to optimise health, lactation and reproductive performance*. Anim. Feed Sci. Tech. 59: 13-26.

49) Waller K.P. (1998) - *Mammary gland immunology around parturition: influence of stress, nutrition and genetics*. In: Biology of the mammary gland. Ed. Mol J.A. and Clegg R.A., Kluwer Academic/Plenum Pub., pp. 231-245.

50) Zizzadoro C., Belloli C. (2001) - *Attualità farmacologiche: alla ricerca del fans ideale*. Praxis Vet. 22: 8-13.

LUIGI CALAMARI

CONDIZIONI DI BENESSERE: GESTIONE DEGLI ANIMALI E CONTROLLO DEL MICROCLIMA

WELFARE CONDITIONS: HERD MANAGEMENT AND CONTROL OF THE MICROCLIMATIC CONDITIONS

Istituto di Zootecnica - Facoltà di Agraria - Università Cattolica del Sacro Cuore
Via Emilia Parmense, 84 - 29100 Piacenza
tel. 0523/599274; fax 0523/599276; e-mail: luigi.calamari@unicatt.it

RIASSUNTO

L'assenza di qualsiasi forma di stress in allevamento rappresenta la premessa indispensabile per puntare a buone condizioni di benessere. In linea generale la gestione degli animali e dell'ambiente di allevamento non deve interferire con l'abilità della bovina a svolgere le attività che l'animale normalmente compie nelle diverse fasi fisiologiche. Le bovine ad elevata produzione dedicano giornalmente dalle 3 alle 5 ore per l'assunzione degli alimenti, circa 30 minuti per l'assunzione dell'acqua, 2-3 ore per la mungitura, 7-10 ore per la ruminazione ed almeno 10 ore per il riposo. Il facile accesso agli alimenti ed all'acqua e la disponibilità di uno spazio di riposo confortevole sono tra gli aspetti più critici per la vacca da latte. E' quindi opportuno adottare tutte le misure necessarie per minimizzare i periodi in cui gli animali non possono accedere agli alimenti, all'acqua o alla zona di riposo, evitando qualsiasi situazione di stress (fisico, psicologico, da malattia). Tra gli stressori di tipo fisico il caldo è difficilmente controllabile e causa un peggioramento delle performance produttive e riproduttive. L'efficienza riproduttiva viene penalizzata direttamente dall'ipertermia (alterazione funzioni cellulari di varie parti/tessuti del sistema riproduttore) ed indirettamente dalle risposte fisiologiche degli animali al caldo (ridistribuzione di sangue tra organi, riduzione dell'ingestione, ecc…). I risultati di maggiore rilievo, in tema di contenimento delle conseguenze negative del clima caldo, si ottengono sviluppando un approccio al problema di tipo integrato, combinando cioè i vari tipi di intervento (genetico, nutrizionale-alimentare e di modificazioni fisiche dell'ambiente). Questi ultimi consentono di ottenere i migliori risultati, in particolare gli interventi attivi, permettono di ottenere risultati in tempi brevi e con un più favorevole bilancio fra costi/benefici. Nelle stalle aperte sono da preferire interventi con bagnatura degli animali abbinati a ventilazione. Il raffrescamento evaporativo (cooling) è un sistema che fornisce buoni risultati nelle stalle di tipo chiuso, dotate di un buon isolamento termico, nelle quali sia possibile praticare un ricambio forzato e controllato dell'aria di ventilazione.

Parole chiave

vacca da latte, benessere, gestione della mandria, stress da caldo

SUMMARY

The absence of stress factors is a preliminary condition to obtain good animal welfare in a herd. Management of dairy herd must not interfere with the cow's ability to perform the activity which comprises her daily routine. In essence, high yielding dairy cows spend 3-5 h/d eating, 7-10 h/d ruminating, approximately 30 min/d drinking, 2 to 3 h/d being milked, and require approximately 10 h/d of resting time (lying). The accessibility of feed, water and the availability of comfortable resting area are the most critical aspects in a dairy herd. Management must minimize the time where the cows are away from feed, water, and resting areas, avoiding any stress situation (physical, psychological, from diseases). Among physical stres-

sors, the heat conditions in summer period are of difficult control and cause a worsening of productive and reproductive performances. Hyperthermia directly alters and impairs the cellular functions of various parts/tissues of the reproductive system. Furthermore, heat stress elicits responses which may also have an impact on reproductive processes (redistribution of blood flow among body organs, reduction of feed intake, etc…). To reduce the negative effects of heat stress an integrated approach is recommended and includes genetic development of less heat-sensitive genotype, nutritional adjustments and physical modification of the environment. The latest is the most adequate, the active techniques in particular, and the results are obtained in shorter time and with a more favourable costs/benefits balance. In the open barn, systems equipped with misters or sprinklers that wet the animals and fans that enhance evaporation off the animals' skin are preferable. In the closed barn, with a good thermal isolation, it is preferable the evaporative cooling system, based on the use of large coolers fitted with cooling pads through which ventilation air passes, reducing air temperature.

Key words
dairy cows, welfare, management, heat stress

INTRODUZIONE

Il termine benessere non ha ancora ricevuto, proprio a causa della sua complessità, una definizione univoca da parte dei vari ricercatori che se ne occupano. Esistono infatti numerose definizioni in funzione del tipo di considerazioni che tale termine ha suscitato. L'approccio che oggi viene suggerito per la ricerca scientifica sul benessere, proposto dalle varie scuole di pensiero presenti attualmente a livello internazionale, è sostanzialmente basato su tre differenti concetti (Duncan e Fraser, 1997):

- approccio basato sui feelings, cioè sulle sensazioni soggettive degli animali;
- approccio funzionale, basato sulle funzioni biologiche normali degli animali;
- approccio naturale, basato sulla possibilità, per l'animale, di esprimere il repertorio comportamentale della specie cui appartiene.

Nel caso dell'approccio basato sui feelings l'aspetto etico si unisce strettamente alla considerazione che gli animali possano avere esperienze soggettive, quali stati affettivi od emozioni e di conseguenza possano percepire determinate situazioni come piacevoli o spiacevoli, che si potrebbero tradurre in uno stato di felicità o infelicità inteso a livello soggettivo individuale. Secondo questo approccio etico-animalista, Duncan (1993) ritiene che il benessere non dipenda né dallo stato sanitario, né dalla mancanza di stress, né dal grado di fitness, ma solo da ciò che l'organismo sente.

L'approccio funzionale si basa sul concetto che il benessere degli animali è legato al buon funzionamento dei loro sistemi biologici. Quindi situazioni di ridotto benessere sono associate a presenza di patologie, di lesioni, di malnutrizione, ecc... Al contrario una buona situazione di benessere è associata ad alti livelli di accrescimento, di fertilità, di qualità delle produzioni, ecc.. Negli animali in condizioni naturali come negli animali allevati c'è un adattamento alle modificazioni ambientali e l'organismo mette in atto una serie di meccanismi con effetti a livello fisiologico, immunitario e comportamentale. La quantità di sforzi che l'organismo deve compiere per adattarsi, e di conseguenza il loro successo od insuccesso, determinano anche il livello di benessere. Questo approccio implica che si debbano identificare e quantificare il più precisamente ed oggettivamente possibile gli indicatori di benessere e che si possono far rientrare nelle seguenti categorie: indicatori patologici, fisiologici, comportamentali e produttivi.

Nell'approccio naturale il concetto base è che gli animali dovrebbero essere allevati in un ambiente naturale, tale cioè che consenta loro di comportarsi naturalmente, o meglio ab-

biano la libertà di manifestare tutti i loro comportamenti naturali. I problemi collegati a questo approccio consistono soprattutto nella difficoltà di identificare il significato di naturale in relazione all'evoluzione dell'habitat. In particolare una serie di attività che consentono l'adattamento degli animali in condizioni naturali possono avere una funzione ma un'utilità scarsa o nulla nell'animale domestico. Un esempio può essere la riduzione della distanza di fuga davanti all'uomo e l'accettazione di ripari o fonti di cibo direttamente forniti. Indubbiamente la selezione genetica che, pur essendo mirata agli aspetti produttivi, può in modo indiretto aver condizionato una serie di tendenze reattive di base degli animali. Infine occorre anche tenere presente che il voler garantire agli animali la possibilità di poter esprimere a pieno il proprio repertorio comportamentale può comportare spesso una riduzione del benessere sotto altri punti di vista.

L'argomento benessere è quindi fortemente dibattuto anche se le tre concezioni del benessere animale sopra descritte, quantunque basate su differenti principi, possono poi condurre, sotto certi punti di vista, alle stesse conclusioni. Se da un lato vi sono comunque punti di vista molto diversi sulla definizione di benessere, dall'altro non vi sono dubbi che l'uomo deve porre gli animali in condizioni ottimali di benessere garantendo loro un soddisfacente ambiente di allevamento.

L'assenza di qualsiasi forma di stress rappresenta la premessa indispensabile per ottenere il benessere degli animali allevati e l'attenzione dell'allevatore dovrebbe accentrarsi sulla necessità di assicurare un ambiente soddisfacente per gli animali tenendo conto dei seguenti criteri (Webster, 1983):

1) benessere termico. L'ambiente non deve essere né troppo caldo né troppo freddo, tanto da provocare una mancata produzione o da provocare disagio;
2) benessere fisico. Lo spazio a disposizione e le superfici con le quali l'animale viene a contatto dovrebbero essere tali da prevenire lesioni o disagio cronico;
3) controllo sanitario. L'ambiente dovrebbe essere tale da minimizzare le patologie, sia limitando la diffusione delle infezioni e sia limitando gli stress capaci di ridurre la resistenza alle infezioni;
4) comportamento soddisfacente. L'animale non deve essere impedito nel manifestare tutti quegli atteggiamenti sociali ed un comportamento spontaneo. Inoltre l'animale dovrebbe essere ragionevolmente libero da fattori di paura.

A ciò andrebbe aggiunto il benessere alimentare, ove non sia incluso solo il facile accesso agli alimenti ed alle bevande, ma anche una sostanziale correttezza degli apporti di nutrienti in rapporto ai fabbisogni.

Secondo Napolitano e De Rosa (1997) le principali categorie di stress in un allevamento possono essere ricondotte alle interazioni fra animali, alle interazioni degli animali con l'uomo e con l'ambiente (tabella 1). In questa sede ci occuperemo in particolare di alcuni aspetti relativi alle interazioni fra animali ed uomo e fra animali ed ambiente. Per quanto riguarda l'interazione fra animali ed uomo si affronterà il problema della gestione degli animali, in particolare della gestione dei gruppi, ponendo soprattutto l'attenzione alle relazioni con l'ingestione di alimenti; per quanto attiene all'interazione fra animali ed ambiente si affronterà il problema dello stress da caldo, ponendo l'attenzione sugli effetti del caldo sulla fertilità e sui mezzi disponibili per migliorare le condizioni microclimatiche nel ricovero.

GESTIONE DEGLI ANIMALI

Negli allevamenti di bovine da latte la gestione dei gruppi assume un'importanza rilevante. La strategia utilizzata e la conseguente suddivisione degli animali in gruppi influenza l'ingestione di alimenti, la produzione, le condizioni di benessere e di salute degli animali,

in definitiva quindi il loro risultato economico. Un'inadeguata suddivisione in gruppi può alterare il normale comportamento degli animali ed il tempo dedicato alle varie attività. Secondo Grant ed Albright (2000) la bovina ad alta produzione giornalmente effettua dai 9 ai 14 pasti, quando gli alimenti sono sempre disponibili in mangiatoia, dedicando complessivamente dalle 3 alle 5 ore per l'assunzione degli alimenti. Inoltre il tempo dedicato alla ruminazione oscilla fra le 7 e le 10 ore/giorno, il tempo speso per l'assunzione di acqua è mediamente di 30 minuti/giorno, per la mungitura di 2-3 ore/giorno. Infine la bovina richiede almeno 10 ore/giorno per il riposo in posizione di decubito. Una corretta gestione della mandria non deve interferire con l'abilità della bovina a compiere queste attività, comprese nel normale comportamento giornaliero dell'animale allevato.

Dimensioni dei gruppi

Un appropriata suddivisione degli animali in gruppi può semplificare il movimento degli animali, facilitare le osservazioni sugli animali, coprire al meglio i fabbisogni di ciascun animale all'interno del gruppo. Occorre considerare numerosi fattori, con le relative interazioni, per trovare la dimensione ottimale del gruppo negli allevamenti di bovine da latte. Questi fattori includono: 1) spazio alla mangiatoia e competizione per gli alimenti, l'acqua e l'area di riposo; 2) interazioni sociali fra bovine e come queste vengono influenzate dalle dimensioni del gruppo; 3) spazio disponibile alla bovina; 4) spazio nell'area di attesa e capacità della sala di mungitura; 5) taglia ed età degli animali; 6) condizioni nutrizionali; 7) giorni di lattazione; 8) dimensioni delle cuccette ed uniformità delle stesse; 9) adeguatezza della ventilazione (Grant e Albright, 2001). In generale si può indicare che il più rapido movimento degli animali da ed alla sala di mungitura, la continua disponibilità di alimenti relativamente "freschi" in mangiatoia, un adeguato fronte di mangiatoia ed una relativa omogeneità nelle caratteristiche delle bovine può consentire una maggiore densità all'interno del ricovero senza apparenti problemi di stress (Schultz, 1992).

Il limite superiore delle dimensione del gruppo è praticamente dettato dalla capacità della sala di mungitura e dal tempo speso nella sala di attesa. Le bovine dovrebbero spendere meno di 45-60 minuti per ogni mungitura (prevalentemente tempo speso nella sala di attesa). Una buona generalizzazione, per calcolare la massima dimensione del gruppo in allevamenti con sala di mungitura a spina di pesce o parallela è di moltiplicare il numero di posti in sali di mungitura per 4.5 (Smith e coll., 2000). Realisticamente quindi i fattori prima indicati, relativi alla gestione dell'alimentazione ed alle altre caratteristiche dell'housing e degli animali, determineranno quanto potrà essere grande il gruppo nell'ambito del vincolo imposto dalla sala di mungitura. In generale comunque quanto minore è il tempo speso dalla bovina nella sala di attesa tanto maggiori saranno le sue condizioni di comfort e di benessere, perché in tal modo si minimizza il periodo in cui gli animali sono sovraffollati e si riduce il tempo in cui l'animale è lontano da cibo, acqua e dalla zona di riposo.

Tradizionalmente si ritiene che gruppi più piccoli comportino un minore stress per gli animali, facilitino il mantenimento della struttura sociale all'interno del gruppo, consentano un traffico degli animali più adeguato ed aumentino l'efficacia dei programmi di alimentazione e di riproduzione.

Grant e Albright (2001) hanno riscontrato in loro ricerche che non ci sono problemi in conseguenza della variazione nella dimensione del gruppo per se. Invece un elevato numero di decisioni manageriali, come ad esempio il sovraffollamento con insufficiente spazio alla mangiatoia, giocano un ruolo determinante nel benessere in generale delle bovine. Irregolare e/o infrequente distribuzione degli alimenti, eccessivi camminamenti da ed alla sala di mungitura, influiscono anch'essi in maniera negativa sul comportamento e sul benessere delle bovine. Anche con gruppi più grandi le bovine, quando il management è adeguato,

mostrano i comportamenti tipici e consueti. Tuttavia per gruppi di grosse dimensioni, oltre i 150-200 capi, sembrano necessarie ulteriori ricerche per valutare gli effetti sulla produttività, sul comportamento, sul benessere e sui risultati economici.

Dimensioni dei gruppi e comportamento degli animali

La dominanza sociale viene osservata nelle bovine quando gli animali iniziano e vincono gli scontri con altri animali. Il rapporto di dominanza/sottomissione viene rapidamente stabilito e nel giro di un ora vengono stabilite la metà di queste relazioni; spesso senza scontri, soprattutto per le primipare. Solo il 4% delle gerarchie stabilite vengono invertite.

Oggi con gli animali generalmente decornati, con i posti singoli in mangiatoia e con la distribuzione di elevate quantità di *unifeed* in mangiatoia, le bovine sono meno combattive rispetto al passato. Tuttavia le dimensioni del gruppo non devono essere eccessive in modo che l'individuo riconosca e mantenga i rapporti di gerarchia con gli altri animali. Oltre i 100 capi aumentano le difficoltà per l'animale nel riconoscere tutte le compagne. Se non si crea un gerarchia stabile può aumentare lo stress.

Le dimensioni ottimali di un gruppo di bovine da latte, dal punto di vista comportamentale, è funzione di: 1) competizione per lo spazio nella stalla, nel paddock ecc..; 2) competizione per gli alimenti e l'acqua; 3) disponibilità di cuccette confortevoli ed utilizzabili; 4) spazio nella sala di attesa; 5) tempo speso nella sala di attesa e in luoghi lontano dalle cuccette, dagli alimenti e dall'acqua.

Con insufficiente spazio, sia da inadeguato dimensionamento delle varie aree che da sovraffollamento, vengono favoriti continui scontri, soprattutto nella zona di alimentazione con interferenze negative con l'attività di ingestione. Ad esempio lo spazio minimo tra la mangiatoia e la prima fila di cuccette deve essere di almeno 4.3 m per consentire il normale movimento delle bovine evitando interferenze con gli animali che sono alla mangiatoia.

Numero di gruppi

I criteri da adottare per la suddivisone in gruppi fanno riferimento a diversi fattori fra i quali troviamo la tecnica di distribuzione degli alimenti. Ormai la tecnica più diffusa è l'*unifeed*. Molti ricercatori hanno indagato sulle strategie più opportune per la suddivisione in gruppi della mandria e secondo Sniffen e coll. (1993) il criterio migliore è quello basato sui fabbisogni nutritivi. Anche Williams e Oltenacu (1992), comparando diverse strategie per la formazione dei gruppi, hanno osservato che la suddivisone dei gruppi basata sui fabbisogni nutritivi è la più efficace; essa consente tra l'altro di massimizzare il recupero dei maggiori costi per la sovralimentazione delle bovine con produzione più bassa.

Aumentando il numero di gruppi si ha un aumento della produzione di latte, soprattutto fino a tre gruppi (Sniffen e coll., 1993). Passando da 1 a 2 gruppi l'aumento produttivo ottenuto è stato del 1-3%; da 2 a 3 l'aumento è stato del 2%; un ulteriore aumento a 4 gruppo ha comportato invece un aumento compreso fra lo 0 e l'1%. Molti ricercatori hanno concluso che le mandrie da latte andrebbero suddivise in 3 gruppi con 3 differenti razioni per massimizzare l'efficienza. Dal punto di vista nutrizionale l'ottimale è avere 2 gruppi in asciutta e 3 gruppi in lattazione. Un gruppo di bovine nelle prime 3 settimane di lattazione può essere utile come transizione dall'asciutta al gruppo di bovine ad alta produzione.

Gestione dei gruppi ed ingestione di sostanza secca

L'ingestione di sostanza secca è controllata dal grado di riempimento del rumine-reticolo e da meccanismi fisiologici. Comunque fattori psicogenici possono sostanzialmente modu-

lare l'ingestione. Regolazioni psicogeniche dell'ingestione riguardano la risposta comportamentale delle bovine a fattori di inibizione o di stimolazione presenti negli alimenti oppure a caratteristiche degli alimenti differenti dal loro valore energetico o dal loro ingombro nel rumine. L'appetibilità, le interazioni sociali e le abitudini comportamentali sono componenti psicogenici che modulano l'ingestione. Questi fattori che modulano l'ingestione possono essere ottimizzati dall'allevatore per promuovere un più intenso comportamento alimentare (numero pasti, lunghezza dei pasti e velocità di ingestione) e massimizzare l'ingestione di sostanza secca. I meccanismi di controllo dell'ingestione (grado di ripienezza del digerente e meccanismi chemiostatici) sono una funzione della taglia, del livello produttivo, dell'età e dello stato fisiologico della bovina e non sono facilmente influenzabili dall'allevatore (figura 1). La strategia utilizzata per la suddivisione in gruppi degli animali è una delle importanti componenti che influenzano l'ingestione in quanto ha un impatto sul comfort delle bovine, sulla competizione per gli alimenti, per l'acqua e per le altre risorse, ed in definitiva si riflette anche sulle condizioni di salute della mandria. In particolare le primipare e le bovine nella fase di transizione possono essere maggiormente penalizzate.

Quando possibile le primipare entro diverse settimane dal parto andrebbero raggruppate separatamente ed abituate al nuovo ambiente del periodo post parto. Le bovine sottoposte a improvvisi cambiamenti sociali ed ambientali nel periodo di transizione spesso mostrano un comportamento alimentare anomalo e sono più soggette a malattie metaboliche (Bazeley e Pinsent, 1984). Le bovine primipare vanno introdotte nel gruppo in lattazione ed alle attrezzature di mungitura con molta attenzione. Si potrebbe già prima del parto (3 settimane prima) iniziare ad abituare gli animali alle condizioni di allevamento del post parto. Per una settimana le manze si dovrebbero far passare attraverso la sala di mungitura in modo da abituare gli animali all'ambiente della sala di mungitura, alle poste nella sala ed alla pavimentazione (Grant e Albright, 1995).

Nella fase di transizione le primipare possono beneficiare di un allevamento in un gruppo separato. Le manze hanno una posizione inferiore nella gerarchia all'interno del gruppo. Phelps (1992) ha riscontrato una maggiore produzione ed un'ingestione più elevata separando le primipare dalle pluripare. Le differenze nelle performance sono risultate proporzionali alle differenze in termini di taglia tra animale giovane e maturo. Konggaard e Krohn (1978) hanno riscontrato, allevando le primipare separatamente dalle pluripare, un aumento del tempo speso per l'ingestione di alimenti (11.4%), del numero di pasti (8.5%), del tempo in cui l'animale è coricato (8.8%) e dei periodi di riposo nel corso della giornata (19%). In definitiva, quindi, hanno riscontrato maggiori condizioni di benessere degli animali.

Gestione dei gruppi, dominanza e competizione per gli alimenti

L'alimentazione di gruppo per le bovine da latte è più idonea e gli animali mostrano meno timori, maggiore salute e produttività. Così la pratica comune di alimentare e mungere in gruppo le bovine ha una base fisiologica. Noi ci dobbiamo però preoccupare di ridurre la competizione per gli alimenti, l'acqua, la zona di riposo, le zone ombreggiate e più confortevoli: la densità nel gruppo, lo spazio disponibile per gli animali e le modalità di distribuzione degli alimenti sono aspetti strettamente interrelati. D'altra parte quando una bovina mangia, le altre bovine sono stimolate anch'esse a mangiare, anche se non hanno particolarmente fame (Curtis e Houpt, 1983). Quindi, quando le bovine mangiano in gruppo, ingeriscono più alimenti rispetto a quando sono alimentate separatamente.

Le bovine da latte sono animali sociali, dove si instaurano dominanze e gerarchie all'interno del gruppo, in particolar modo alla mangiatoia. Quando una bovina viene inserita in un nuovo gruppo deve trovare rapidamente la sua posizione nella gerarchia del gruppo per massimizzare l'ingestione, in particolare per le bovine dopo il parto. La dominanza sociale

è correlata fortemente con l'età, la taglia, l'anzianità nella mandria; essa gioca un ruolo determinante in qualsiasi gruppo esistente o nuovamente formato di bovine. Le gerarchie e la competizione per l'alimento modificano il comportamento alimentare degli animali. Una maggiore competizione si ha al ritorno dalla mungitura ed al momento della nuova distribuzione di alimenti. L'effetto delle dominanze e gerarchie si esaurisce dopo 30-45 minuti la distribuzione di nuovi alimenti (Friend e coll., 1977). Le bovine subito dopo il parto possono essere maggiormente svantaggiate da una eccessiva competizione per gli alimenti conseguente, soprattutto, ad un ridotto fronte di mangiatoia. Le bovine dopo il parto sono affaticate, con arti posteriori più deboli. Se sono forzate a competere per cibo ed acqua possono più facilmente soffrire per scarsa ingestione e possono più facilmente andare incontro a ferite, lesioni, malattie, ecc... Le bovine in estro e le bovine dominanti del gruppo possono facilmente avere il sopravvento sulle bovine subito dopo il parto (Grant e Albright, 1995).

Quando si viene a creare una situazione di competizione per gli alimenti le bovine dominanti spendono tipicamente più tempo per l'ingestione degli alimenti rispetto alle bovine di un livello gerarchico inferiore; questo si traduce in una maggiore ingestione di sostanza secca. Come aumenta la competizione alla mangiatoia si ha una riduzione del tempo medio di permanenza alla mangiatoia ed un aumento della velocità di ingestione. Aumenta anche il numero di viste alla mangiatoia in proporzione con l'aumentare delle aggressioni quando l'animale è alla mangiatoia (Olofsson, 1999). Questo si traduce in una riduzione lieve dell'ingestione quando gli alimenti sono sempre disponibili alla mangiatoia (Olofsson, 1999); al contrario la riduzione diventa molto ampia quando gli alimenti non sono sempre disponibili in mangiatoia.

Spazio critico alla mangiatoia, comportamento alimentare e dimensioni del gruppo

La lunghezza minima del fronte di mangiatoia, al di sotto della quale diventa eccessiva la competizione per gli alimenti, varia con le dimensioni del gruppo e con la quantità e la disponibilità di alimenti alla mangiatoia. Generalmente il riferimento è tra 0.61 e 0.31 m/capo. Quando la gestione dell'alimentazione è effettuata con le tecniche tradizionali e le bovine ingeriscono gli alimenti nello stesso momento il valore minimo del fronte di mangiatoia è 0.61; ragionando in termini di posti mangiatoia/capi presenti è necessario tenere un rapporto di 1/1. Con l'*unifeed* tale valore si è rimesso in discussione. Dalla letteratura emerge che con un fronte di mangiatoia inferiore a 0.2 m/capo si ha un effetto sul tempo di ingestione degli alimenti e sull'ingestione di s.s.. Con un fronte compreso fra 0.2 e 0.51 m/capo si ha un aumento della competizione con un effetto variabile sull'ingestione. Con valori compresi fra 0.51 e 0.61 m non si hanno effetti apprezzabili sull'ingestione.

Tuttavia molti altri aspetti vanno considerati nel definire il fronte di mangiatoia. Occorre tenere presente che le bovine aumentano la presenza alla mangiatoia dopo la distribuzione degli alimenti, quando gli alimenti vengono avvicinati alla mangiatoia ed all'uscita dalla sala di mungitura. Un adeguato management della mangiatoia, in grado di offrire alimenti freschi nell'arco delle 24 ore, entro il raggio di accesso della bovina, favorisce numerosi piccoli pasti nell'arco della giornata.

L'accessibilità agli alimenti potrebbe essere più importante, entro certi limiti, della quantità di nutrienti forniti. Lo spazio a disposizione degli animali, la densità nel ricovero, la distribuzione degli alimenti e la disponibilità di acqua sono tutti fattori che influenzano l'ingestione di s.s.. L'ingestione di alimenti aumenta e la produzione è più elevata quando le bovine possono accedere agli alimenti quando desiderano mangiare. Restrizioni a questo libero comportamento si possono avere in diverse circostanze. Oltre all'insufficiente, ma ovvia, ridotta quantità di alimenti offerti vi sono altre situazioni: eccessivo tempo speso nella sala di attesa; alimenti instabili; scarsa ventilazione; temperatura ed umidità eccessive; pavi-

mentazioni scivolose; inadeguata manutenzione delle cuccette e ridotto comfort delle stesse; fondo della mangiatoia molto rugoso; periodo eccessivamente lungo speso nella zona di esercizio senza possibilità di accedere ad acqua ed alimenti; sovraffollamento con difficoltà di movimento nelle zone di passaggio, per accedere alle cuccette ed alla mangiatoia. In aggiunta non si può dimenticare la disponibilità di acqua.

Quando questi aspetti non sono critici si può ridurre il fronte di mangiatoia, con tecnica di distribuzione degli alimenti mediante *unifeed*, a 0.4 m/capo (Menzi e Chase, 1994). Da nostre prove abbiamo riscontrato che un numero di capi superiore del 25% rispetto ai posti in mangiatoia non ha comportato una riduzione delle performance di bovine da latte ad alta produzione in fase intermedia di lattazione, con gruppi sperimentali di modeste dimensioni (15-20 capi) e per un periodo di tempo limitato. Tuttavia quando il numero di posti alla mangiatoia è inferiore ai capi presenti aumentano i combattimenti, soprattutto dopo la distribuzione degli alimenti, con riduzione del benessere. Ad esempio con 120 posti in mangiatoia e 150 vacche che devono accedere alla mangiatoia, si hanno 12 combattimenti/minuto dopo la distribuzione degli alimenti. Un ora dopo ci sono ancora 8 combattimenti/minuto (Grant e Albright, 2001).

Sovraffollamento

Il sovraffollamento sembra avere meno effetti negativi in gruppi di più piccole dimensioni. Così Arave e coll. (1974) non hanno riscontrato, in bovine allevate in gruppi piccoli (17 capi), differenze nell'ingestione di alimenti, nella produzione di latte, nella presenza di leucociti nel latte e nei livelli di cortisolo in bovine allevate in condizioni di sovraffolamento. Spesso gli scontri fra animali iniziano con una bovina dominante che spinge via dalla mangiatoia una bovina e questa, a sua volta, cerca rapidamente nel gruppo una bovina che può dominare e la spinge via dalla mangiatoia e così via.

Un'altra considerazione pratica, tralasciando il comportamento e le conseguenze sull'attività alimentare, riguarda la difficoltà nel mantenere gli animali puliti quando le bovine hanno un ridotto spazio a disposizione.

La presenza di rastrelliera dotata o meno di singole poste interagisce con il sovraffollamento, sia in termini di minor fronte di mangiatoia che di cuccette (Batchelder, 2000). La presenza della rastrelliera con le poste per i singoli animali ha comportato una riduzione dell'ingestione di s.s. del 3%, la riduzione dell'ingestione è salita al 6% quando c'era un sovraffollamento del 30%. Anche il comportamento alimentare si è modificato. Con il sovraffollamento è diminuita la percentuale di bovine che si alimentavano dopo la mungitura (30-38% contro 45-60% del controllo) e dopo la distribuzione degli alimenti (21-27% contro 32-43% del controllo). Dopo la mungitura le bovine del gruppo sovraffollato andavano rapidamente a riposarsi in cuccetta. Nel gruppo sovraffollato è aumentata la presenza di bovine in piedi in attesa di poter accedere alla zona di alimentazione. Questo alterato comportamento alimentare ha ridotto il tempo di ruminazione (28% contro 37% del controllo).

Spostamento degli animali da un gruppo all'altro

Il livello di produzione, le condizioni nutrizionali (BCS), la fase di lattazione e la conferma di gravidanza sono i criteri principali per decidere di spostare le bovine da un gruppo all'altro. Per ridurre il numero di scontri fra animali, conseguenti allo spostamento di soggetti da un gruppo all'altro, è opportuno tenere i gruppi adiacenti in modo che le bovine possano avere dei contatti, anche se limitati (Albright e Arave, 1997). Questo dipende dal layout della stalla ed in particolare nella fase finale della gravidanza, di inizio lattazione e di alta produzione questi contatti dovrebbero essere favoriti.

È preferibile muovere contemporaneamente più animali da un gruppo all'altro perché in questo modo si hanno meno scontri e disturbi nella socialità del gruppo (Grant e Albright, 2001). Inoltre le procedure di trasferimento degli animali sono più stressanti quando si sposta la singola bovina. Quando un nuovo animale viene inserito nel gruppo si hanno minacce, scontri ed aggressioni fino a che gli animali introdotti non hanno trovato la loro collocazione nelle gerarchie del gruppo; questo richiede in genere una settimana (Grant e Albright, 2001).

Inoltre occorre utilizzare una routine regolare per lo spostamento degli animali da un gruppo all'altro ed un adeguato spazio alla mangiatoia, in rapporto alle dimensioni del gruppo, riduce lo stress. Nelle bovine da latte, quando vengono spostate da un gruppo all'altro ci sono due tipi di stress: di tipo sociale e di tipo nutrizionale. Questa situazione riflette non solo le differenze in termini di formulazione della razione fra i due gruppi, ma anche le differenze in termini di tempi in cui gli animali si alimentano e vengono munti.

Spostando gli animali in un altro gruppo dove viene utilizzata la stessa razione si hanno comunque effetti con una diminuzione del tempo dedicato aall'ingestione degli alimenti ed un aumento degli scontri, soprattutto nel 1° giorno. Molte osservazioni indicano che l'impatto sociale conseguente a cambiamenti nella composizione dei gruppi termina dopo 3-7 giorni.

GESTIONE DEL MICROCLIMA

Come indicato ripetutamente nella parte dedicata alla gestione degli animali si evidenzia che le condizioni ambientali, insieme a numerosi altri fattori, interagiscono con le soluzioni che si adottano in tema di gestione degli animali. In particolare le condizioni microclimatiche assumono, almeno nei nostri climi, un significato importante per la vacca da latte. In linea generale si può ritenere più dannoso il caldo estivo piuttosto che il freddo invernale per i bovini, per la vacca da latte in particolare. Durante i mesi estivi, infatti, risulta difficile mantenere la temperatura percepita dagli animali su valori accettabili, il che si ripercuote negativamente sulle performance zootecniche, con problemi alla sfera riproduttiva (ipofertilità estiva) e peggioramento dei risultati produttivi (diminuzione della produzione di latte, peggioramento della qualità del latte).

CALDO E RIPRODUZIONE

Lo stress da caldo (HS) è uno dei fattori importanti, in molte aree in cui vengono allevate le bovine da latte, che contribuisce alla riduzione della fertilità. Questo comporta un notevole danno economico ed interessa circa il 60% dei bovini allevati nel mondo. Il tasso di concepimento scende da valori del 40-60% dei mesi più freschi a valori del 10-20% nei mesi estivi (figura 2) in molte zone dove vengono allevate le bovine, in funzione della severità dello stress da caldo (Rabie, 1983; Cavestany e coll., 1985; Al-Katanani e coll., 1999). L'entità nella riduzione del *pregnancy rate* nel periodo estivo è ancora maggiore per le difficoltà nell'osservare gli estri. La più importante caratteristica dell'ipofertilità estiva è la sua natura multifattoriale, dal momento che l'ipertermia direttamente altera e peggiora le funzioni cellulari di varie parti/tessuti del sistema riproduttore. Inoltre, l'esposizione delle bovine a stress da caldo comporta effetti indiretti, i quali potrebbero anch'essi avere un impatto negativo sulla fertilità. Tali risposte includono la ridistribuzione del sangue tra organi, la riduzione dell'ingestione, l'alcalosi respiratoria, ecc.. Quantunque l'impatto degli effetti diretti ed indiretti dello stress da caldo sulla risposta riproduttiva non sia ancora quantificato, è plausibile ritenere che gli effetti diretti dell'ipertermia sulla funzione cellulare siano quelli più importanti. Inoltre il notevole aumento produttivo delle bovine negli ultimi anni ha ag-

gravato la situazione, in quanto si ha un parallelo aumento del calore metabolico prodotto (figura 3). I vari sistemi di raffrescamento risolvono solo in parte il problema.

Tradizionalmente la fertilità è più bassa nei mesi più caldi dell'anno (in Italia in particolare in luglio, agosto e settembre). Comunque è noto che la fertilità rimane più bassa nei mesi autunnali rispetto a quelli invernali, sebbene la temperatura si riduca e gli animali non soffrano più di stress da caldo. C'è quindi un effetto ritardato del caldo e la riduzione della fertilità connessa con lo stress da caldo è per almeno 1/3 dovuta a questo effetto ritardato.

Negli ultimi anni sono stati effettuati molti studi per chiarire l'effetto diretto del caldo sull'attività dell'apparato riproduttore. In particolare gli effetti immediati e ritardati del caldo sullo sviluppo follicolare, sulla dinamica dei cicli follicolari, sulla capacità steroidogenica delle cellule della teca e della granulosa, sullo sviluppo e le funzioni del corpo luteo, sulla secrezione di gonadotropine e progesterone, sulla qualità degli oociti, sullo sviluppo embrionale e sulle funzioni uterine.

Dinamica follicolare

L'esposizione al caldo delle bovine da latte durante l'intero ciclo estrale si è visto che induce un aumento del 50% nel numero di follicoli con diametro superiore a 10 mm durante la prima ondata follicolare (Wolfenson e coll., 1995). Una simile tendenza è stata riscontrata, su manze in stress da caldo (Wilson e coll., 1998) a 17-21 giorni del ciclo. Questa risposta è il risultato della riduzione, indotta dallo stress da caldo, della dominanza del follicolo più grande, permettendo così la crescita di un follicolo addizionale.

Un'altra indicazione della riduzione della dominanza del follicolo più grande, causata dallo stress da caldo, è il mancato declino dei follicoli di medie dimensioni durante il periodo di dominanza nella prima ondata di sviluppo durante il ciclo (Badinga e coll., 1993) o del follicolo preovulatorio (Wolfenson e coll., 1995). Un più lento declino nelle dimensioni del follicolo subordinato più grande è stato riscontrato anche da Wilson e coll. (1998).

L'effetto depressivo del caldo sulla dominanza è stata osservata anche in termine di anticipo nell'emergenza della seconda ondata del follicolo dominante/prevoluatorio (Wolfenson e coll., 1995). Questo potrebbe avere un importante significato fisiologico perché un anticipo nell'emergenza potrebbe portare all'ovulazione di follicoli più vecchi. Infatti la durata della dominanza del follicolo preovulatorio si è visto essere associata alla fertilità nella bovina da latte (Mihm e coll., 1994).

Una riduzione dell'inibina nel plasma è stata riscontrata in stress da caldo in bufale (Palta e coll., 1997) e bovine (Wolfenson e col., 1995). Questi dati suggeriscono che la depressione della dominanza durante lo stress da caldo comporta la soppressione della secrezione di inibina da parte delle cellule della granulosa e conseguentemente alterazioni nella secrezione di FSH; infatti i valori di FSH aumentano in anticipo ed in maniera più ampia. La diminuzione della secrezione di FSH, provocata dall'inibina, potrebbe essere un importante meccanismo per il controllo dei follicoli che vengono portati a completa maturazione (Davidson e Stabenfeldt, 1997).

Risultati più contraddittori sono invece stati riscontrati sul numero di follicoli piccoli. Infatti una diminuzione è stata riscontrata da Wolfenson e coll. (1995) e da Wilson e coll. (1998); al contrario un aumento è stato riscontrato da Trout e coll. (1998).

Capacità steroidogenica

Gli studi più recenti indicano che la concentrazione di estradiolo nel plasma è minore nelle bovine in stress da caldo. Si è osservato che le bovine sottoposte a stress da caldo nella seconda metà del ciclo o durante l'intero ciclo estrale hanno mostrato un minore aumen-

to, nel periodo preovulatorio, di estradiolo nel plasma (Wilson e coll., 1998). Anche nella prima ondata follicolare sono stati osservati valori più bassi di estradiolo nel plasma (Wolfenson e coll., 1995). Bandinga e coll. (1993) hanno riscontrato una riduzione maggiore di estradiolo nelle bovine nel mese di settembre rispetto a bovine in stress da caldo nel mese di luglio. Anche se non confermato da altri autori, è probabile che una più lunga esposizione al caldo possa menomare maggiormente la funzione follicolare. A queste variazioni è associata la riduzione delle manifestazioni estrali, in particolare dello scavalcamento, che si verifica nei periodi caldi (Pennington e coll., 1985).

La diminuzione della capacità seteroidogenica da parte dei follicoli coinvolge la riduzione dell'attività dell'enzima aromatasi necessaria per l'aromatizzazione degli androgeni in estrogeni nella cellule della granulosa del follicolo. Sono stati riscontrati valori più bassi, in estate rispetto all'inverno, di estradiolo nel fluido follicolare dei follicoli dominanti a 7-8 giorni del ciclo. Questa diminuzione era dovuta principalmente alla drastica riduzione della produzione di androstenedione nelle cellule della teca durante l'estate (Wolfenson e coll., 1997). La produzione di estradiolo da parte delle cellule della granulosa si riduce in estate del 50% rispetto all'inverno, ma le differenze sono appena significative. Inoltre la percentuale di cellule vitali della granulosa prelevate dai follicoli in estate è solo il 60% di quelle raccolte in autunno (Wolfenson e coll., 2000).

Studi effettuati controllando l'espressione dell'mRNA che codificano per gli enzimi coinvolti nella steroidogenesi hanno evidenziato che solo la 17α-idrossilasi è marcatamente ridotta in condizioni di stress da caldo. L'attività di questo enzima rappresenta il fattore limitante nella biosintesi degli androgeni, che vengono poi utilizzati come substrato per la sintesi di estradiolo nelle cellule della granulosa. La ragione per cui le cellule della teca sono suscettibili al caldo non sono note; questo potrebbe essere legato al fatto che le cellule della teca si differenziano prima di quelle della granulosa.

Corpo luteo

Gli effetti del caldo sulla funzionalità del corpo luteo vengono in genere valutate controllando i livelli di progesterone nel plasma. Questo ormone viene liberato dall'utero attraverso la circolazione. I suoi valori sono influenzati, oltre che dalla funzionalità del corpo luteo, anche da altri fattori fra cui il flusso di sangue a livello dell'utero. Quest'ultimo si riduce in condizioni di caldo e quindi contribuisce a far diminuire i livelli di progesterone nel plasma. Altri fattori coinvolti sono la possibile liberazione di progesterone dal surrene, il metabolismo nel fegato, l'emodiluizione e l'emoconcentrazione, il grado di ipertermia, il tipo di esposizione al caldo (acuto o cronico), l'età delle bovine, lo stadio di lattazione, il tipo di alimentazione.

L'esistenza dei tanti fattori in grado di interferire sui livelli di progesterone ha fatto si che in bibliografia siano riportati risultati contrastanti sull'effetto del caldo. Questi risultati contrastanti, ottenuti in campo, sono stati riscontrati in passato ed anche in lavori più recenti (Wolfenson e coll., 2000).

L'evidenza della soppressione esercitata dal caldo sulla produzione di progesterone è stata comunque documentata con studi in vitro (Wolfenson e coll., 1993). Da prove in vitro si è inoltre osservato che il progesterone prodotto da grosse cellule luteali ottenute dalla granulosa diminuiva di poco in estate rispetto all'inverno. Al contrario la diminuzione era rilevante (un quinto) quando si valutava la produzione di progesterone da parte di piccole cellule luteali ottenute dalla teca.

In sostanza quindi l'esposizione cronica al caldo estivo provoca una soppressione della produzione di progesterone. Un'inadeguata secrezione di progesterone può avere effetti negativi su due periodi fisiologici, prima e dopo l'inseminazione. I bassi livelli di progestero-

ne possono causare un anormale sviluppo follicolare, con un anormale maturazione dell'oocita nel follicolo ovulatorio ed una morte precoce dell'embrione (Ahmad e coll., 1995). I bassi livelli di progesterone influenzano la steroidogenesi nel follicolo dominante e nel corpo luteo che si formerà successivamente, inoltre può alterare la morfologia dell'endometrio e la funzione nei cicli successivi. Infine i bassi livelli di progesterone dopo l'inseminazione possono contribuire ad aumentare le perdite di embrioni.

Gonadotropine

L'effetto del caldo sulla secrezione di gonadotropine nei bovini è poco documentato nonostante l'importante ruolo svolto da FSH ed LH nella regolazione della crescita, ovulazione e funzione del corpo luteo. Le ricerche condotte si sono in genere limitate al controllo delle gonadotropine nel sangue periferico.

Nella maggior parte dei lavori i livelli di LH nel sangue tendono a diminuire con il caldo. Così Wise e coll. (1998) hanno riscontrato una diminuzione nella frequenza dei *pulsi* di LH negli stadi iniziali del ciclo estrale che potrebbe influenzare la luteinizzazione del copro luteo. L'andamento della secrezione tonica influenza anche il ritmo di crescita ed il turnover del follicolo dominante nelle bovine cicliche. L'effetto del caldo sulla pulsatilità dell'LH così come la risposta al GnRH in termini di aumento di LH nella fase preovulatoria si ritiene sia dipendente dalla concentrazione di estradiolo; solo nelle bovine con estradiolo basso si riscontra un effetto negativo del caldo su LH e sulla risposta al GnRH in termini di picco preovulatorio di LH.

Lo stress cronico e acuto riduce la risposta in termini di FSH al GnRH. Questo effetto, al pari di quanto osservato per LH, si osserva solo quando l'estradiolo è abbassato. In contrasto, in bovine in condizioni di stress da caldo e non trattate con GnRH, si ha un pronunciato aumento nel plasma della concentrazione in FSH nella fase che precede la seconda ondata di sviluppo dei follicoli e l'aumento di FSH nella fase preovulatoria è associata con la diminuzione di inibina nel plasma. Le ragioni del perché, nel periodo caldo, i valori di FSH siano bassi quando si trattano gli animali con GnRH ed al contrario siano alti quando non si effettuano trattamenti non sono chiare.

Effetti ritardati dello stress da caldo sull'efficienza riproduttiva

In genere la fertilità è più bassa in autunno rispetto all'inverno, quantunque la temperatura ambientale sia diminuita e le bovine non soffrano più del caldo. Ad esempio in Florida Badinga e coll. (1985) hanno riscontrato che in autunno il tasso di concepimento è del 35-40% contro il valore del 50% del periodo invernale. Wolfenson (2000) riporta che il tasso di concepimento in Israele scende da valori del 45% dell'inverno a valori del 20% in estate e del 23-29% in ottobre e novembre rispettivamente.

La dinamica follicolare viene alterata nelle bovine da latte sottoposte a stress da caldo nel ciclo estrale precedente. Wolfenson e coll. (1997) hanno riscontrato una diminuzione marcata di estradiolo nel liquido follicolare del follicolo dominante prelevato in autunno al 7° giorno del ciclo. Questo è conseguenza della minore produzione di androstenedione, che serve come substrato per la sintesi di estradiolo da parte delle cellule della granulosa. La menomata funzione delle cellule della teca in autunno potrebbe essere la conseguenza della precedente esposizione al caldo nel periodo estivo. Al contrario l'attività dell'enzima aromatasi nelle cellule della granulosa non è influenzata in autunno. L'ipotesi che cambiamenti nella steroidogenesi follicolare in autunno sia conseguenza della precedente esposizione al caldo con effetti sulla funzione follicolare è stata evidenziata in alcune ricerche riportate da Wolfenson e coll. (2000). In animali sottoposti a stress da caldo nella fase del ciclo compre-

sa fra 2 e 6 giorni sono stati effettuati, nel ciclo successivo, controlli su follicoli di medie dimensioni. Si è così rilevato che negli animali sottoposti, nel ciclo precedente, allo stress da caldo le cellule della teca e della granulosa producevano 1/3 ed 1/4 di androstenedione ed estradiolo rispetto a quanto riscontrato in animali non sottoposti a stress da caldo.

La ridotta fertilità in autunno potrebbe essere conseguenza del ritardato effetto del caldo sulla funzione dell'oocita in bovine stressate nell'estate precedente. In ricerche riportate da Wolfenson e coll. (2000), dove, da bovine sottoposte a stress da caldo nell'estate precedente, sono stati prelevati follicoli di 3-8 mm di diametro in cicli successivi in autunno, hanno riscontrato che la percentuale di oociti di migliore qualità era bassa all'inizio dell'autunno (28%) e più elevata nel 3° e 4° ciclo estrale dell'autunno più avanzato (55%). Inoltre la percentuale di embrioni che raggiungevano la fase di 8 cellule, in seguito a coltivazione, maturazione e attivazione, aumentava del 50% nell'autunno avanzato rispetto al periodo precedente. Inoltre la rimozione di follicoli menomati mediante frequente aspirazione in autunno consentiva una più rapida emergenza di oociti di buona qualità in autunno.

Qualità degli oociti, sviluppo embrionale e funzioni uterine

I vari aspetti degli effetti del caldo sulla qualità degli oociti e sullo sviluppo embrionale includono i seguenti: 1) l'effetto deleterio dell'esposizione al caldo durante differenti stadi della maturazione dell'oocita e nella fase iniziale dello sviluppo embrionale, con menomazioni delle funzioni degli oociti e degli embrioni, sia in vitro che in vivo; 2) l'aumento della tolleranza al caldo degli embrioni con l'età; 3) la produzione delle proteine heat-shock da parte dell'embrione e la loro potenziale funzione nel proteggere l'embrione in condizioni di stress da caldo; 4) il possibile uso di antiossidanti per aumentare la resistenza dell'embrione in condizioni di stress da caldo. Rilevanti aspetti relativi agli effetti del caldo sull'ambiente uterino e sulla funzione dell'endometrio includono: 1) produzione di proteine heat-sock da parte dell'endometrio durante il caldo e le sue implicazioni; 2) riduzione della produzione di interferone-τ da parte del prodotto del concepimento; 3) aumentata produzione e rilascio di $PGF_{2\alpha}$, da parte dell'endometrio in condizioni di caldo, e sue implicazioni con il riconoscimento della gravidanza e con il mantenimento del corpo luteo.

METODI PER LIMITARE L'EFFETTO NEGATIVO DEL CALDO

Per limitare gli effetti negativi delle temperature ambientali elevate sulla vacca da latte sono stati proposti tre diversi schemi di intervento (Beede e Collier, 1986) relativi a:
1) selezione di razze meno sensibili al caldo;
2) interventi nutrizionali e di management dell'alimentazione;
3) modificazioni fisiche dell'ambiente.

Risultati di maggiore rilievo sono stati ottenuti sviluppando un approccio al problema di tipo integrato (Shearer e coll., 1991).

Per quanto riguarda l'approccio di tipo genetico non esistono in sostanza informazioni circa la possibilità di migliorare l'adattabilità delle bovine da latte a condizioni di elevate temperature. I maggiori problemi sono relativi alla naturale complessità del fenomeno «adattamento termico» ed alle difficoltà nel selezionare contemporaneamente per l'adattamento e per la produzione.

Lo stress da caldo può influenzare lo stato nutrizionale attraverso un effetto sui fabbisogni assoluti dei singoli nutrienti, inducendo una riduzione dell'ingestione totale di alimenti ed influenzando i processi fisiologici e metabolici (Beede e Collier, 1986). Come conseguenza gli interventi di tipo nutrizionale possono rappresentare un'altra strategia utilizzabi-

le per le bovine da latte esposte al caldo.

Le tecniche tese a modificare le condizioni fisiche dell'ambiente consentono di ottenere i migliori risultati nei confronti dello stress da caldo. Queste tecniche consentono di ottenere risultati in tempi brevi e con un più favorevole bilancio fra costi/benefici, soprattutto quando vengono utilizzate negli allevamenti di bovine specializzate per la produzione di latte. Possiamo suddividere queste tecniche in passive ed attive.

Una prima serie di interventi, definiti passivi, relativi cioè ai materiali, alla conformazione e alla disposizione dell'involucro edilizio, ha lo scopo di ridurre l'effetto delle variazioni delle condizioni climatiche esterne sulle condizioni microclimatiche interne del locale di allevamento. Tuttavia buona parte di questi interventi di tipo passivo non sono facilmente e rapidamente modificabili (orientamento della stalla, inerzia termica dell'edificio, tipo di copertura, ecc..). Ci soffermano brevemente solo sulla ventilazione naturale e sull'ombreggiatura che, al contrario, si possono modificare in tempi relativamente brevi.

D'estate la ventilazione naturale va esaltata al massimo grado. Essendo limitata la differenza di temperatura fra interno ed esterno, più che l'effetto camino va sfruttato l'effetto vento. Anche una leggera brezza di 0.5-0.7 m/s, può essere sufficiente a ricambiare l'aria all'interno della stalla, purché questa sia opportunamente orientata e distanziata dagli altri edifici. Da questo punto di vista da qualche anno a questa parte sono comparse anche in Italia alcune tipologie di stalle libere di tipo aperto, caratterizzate da ampie aperture laterali. Le pareti possono essere quasi eliminate, in modo da favorire al massimo la ventilazione naturale. In questi casi, oltre al notevole ricambio d'aria, che mantiene le condizioni interne non molto dissimili da quelle esterne, si ha un'elevata ventosità in prossimità degli animali che favorisce la dispersione di calore sensibile. Si tratta di soluzioni progettate per ambienti caldi e ventosi. Tuttavia anche nelle nostre condizioni la velocità dell'aria non è così ridotta come si potrebbe pensare.

Possibili inconvenienti di queste strutture molto aperte sono rappresentati dalle difficoltà di ombreggiamento e, durante l'inverno, di protezione degli animali dal freddo; per questo motivo, si consiglia di predisporre al posto di portoni e finestre, delle reti frangivento mobili in materiale plastico, che permettono d'inverno di proteggere gli animali dall'aria fredda e d'estate di ventilare al massimo. Tuttavia nei momenti più caldi dell'estate questa soluzione deve essere combinata con interventi attivi che prevedono l'uso di ventilatori abbinati a nebulizzatori e/o con la bagnatura degli animali. Le stalle di tipo aperto si prestano meglio a questi interventi attivi che verranno descritti successivamente.

Un orientamento ottimale del ricovero permette di limitare l'esposizione alla radiazione solare degli elementi di chiusura (tamponamenti, serramenti, copertura); tale esposizione può essere limitata non solo dalla coibentazione della copertura, ma anche dalla predisposizione di opportuni accorgimenti per le strutture del ricovero e per le aree esterne scoperte. Fra le possibili soluzioni ricordiamo la predisposizione di:

- adeguati sporti del tetto (0.7-1 m) per l'ombreggiamento delle pareti di tamponamento o, in corrispondenza di lati aperti o di finestre, delle aree interne al ricovero;
- cortine alberate (generalmente lungo i lati Sud e Ovest), qualora la stalla disponga di un paddock. Si tratta comunque di un operazione che se fatta in maniera non corretta può portare più danni che vantaggi. Il verde, infatti, se collocato in modo non razionale, può creare un microclima sfavorevole impedendo alla ventilazione esterna di interessare positivamente la stalla ed i paddock;
- reti ombreggianti in materiale plastico (monofilamento in polietilene ad alta densità). In genere queste reti vengono commercializzate sotto forma di strisce della larghezza di 2.5-3 m e vengono installate su strutture di sostegno in tubi d'acciaio, secondo le seguenti indicazioni:
  - altezza minima di installazione di 3.5 m;

- inclinazione idonea allo sgrondo per evitare che «l'effetto vela» dovuto al vento comporti danni alle reti stesse;
- dimensionamento delle aree ombreggiate nei paddock sufficiente a garantire alle bovine una superficie minima di 4-6 m^2/capo.

Interventi attivi per il controllo del microclima

Si parla di interventi attivi quando si opera un condizionamento artificiale dell'ambiente di allevamento mediante apparecchiature meccaniche e/o idrauliche volte a modificare artificialmente alcuni parametri ambientali quali la temperatura, l'umidità e la velocità dell'aria (Frazzi, 1995). In genere si tratta di interventi che richiedono un'impiantistica adeguata e fonti energetiche specifiche.

Uno degli interventi attivi riguarda la ventilazione forzata. In questo caso la ventilazione, più che operare il ricambio dell'aria nel ricovero, ha la funzione di creare delle correnti d'aria artificiale in prossimità degli animali al fine di indurre negli stessi una maggiore dispersione di calore. Questa tecnica di condizionamento può essere applicata con successo in tutte le tipologie di stalle (libere e fisse, aperte e chiuse). Anche un movimento dell'aria limitato, dell'ordine di 0.3-0.5 m/s, può già consentire di ridurre lo stress da caldo (Calamari e coll., 1994). Tuttavia, quando si raggiungono valori di temperatura piuttosto elevati (oltre 29-30°C), con vacche di un certo livello produttivo, la velocità dell'aria in prossimità degli animali non dovrebbe essere inferiore a 0.8-0.9 m/s, con valori ottimali di 1.0-1.2 m/s. Da nostre ricerche, effettuate nel periodo estivo su vacche in lattazione allevate presso l'Azienda Sperimentale "V. Tadini" (provincia di Piacenza), nelle quali sono stati posti a confronto gruppi diversi di animali con differenti sistemi di condizionamento dell'aria (con e senza ventilazione artificiale), abbiamo elaborato un indice di comfort termico (temperatura effettiva) funzione, oltre che della temperatura e dell'umidità relativa, anche della velocità dell'aria (Frazzi e coll., 1998). Il modello sviluppato ha dimostrato che, mediamente, un incremento della velocità dell'aria di 0.5 m/s (da 0.1 m/s a 0.6) comporta una riduzione della temperatura effettiva per la vacca da latte di 2.5 °C. Aumenti ulteriori della velocità dell'aria hanno un effetto progressivamente più limitato. Così un aumento sempre di 0.5 m/s (da 0.6 a 1.1 m/s) comporta una riduzione della temperatura effettiva di 0.7°C; la riduzione totale della temperatura effettiva, da 0.1 a 1.1 m/s di aumento della velocità dell'aria, è quindi di 3.2°C. Aumenti ulteriori della velocità dell'aria oltre 1.1 m/s comportano un effetto molto limitato (figura 4). Dalla nostra equazione emerge che la riduzione massima di temperatura, per valori di velocità dell'aria superiori, non andrebbe mai oltre i 3.5 °C. Si tratta tuttavia di un risultato tutt'altro che trascurabile soprattutto se abbinato con quello dell'umidità (Frazzi e coll., 1998).

Velocità dell'aria di 1-1.2 m/s sono ottenibili con impianti di ventilazione relativamente semplici e con costi contenuti. Ciò può essere ottenuto con ventilatori di grande portata e bassa prevalenza in grado di muovere grandi massa d'aria. Per migliorare l'efficienza dell'impianto di ventilazione, si raccomanda di impiegare ventilatori elicoidali di diametro elevato (1-1.2 m), collocati in posizione verticale o leggermente inclinati verso il pavimento (15-30°), non troppo in alto (max 2.5 m), ad una distanza di circa 10-15 m l'uno dall'altro. Per la corretta disposizione dei ventilatori all'interno della stalla si rimanda a lavori specifici (Calegari e Veronesi, 2002); tuttavia si vuole in questa sede sottolineare l'importanza della uniforme ventilazione di tutto il ricovero, oltre ovviamente alla ventilazione della sala di attesa dove le bovine sono costrette a rimanere per un certo periodo in condizioni di sovraffollamento e quindi di maggiore disagio, in modo da evitare la concentrazione di bovine nelle zone meglio ventilate. Il vantaggio della ventilazione viene in questi casi parzialmente annullato dal maggiore riscaldamento dovuto all'elevata densità di animali che si ri-

scontra in alcuni distretti della stalla. Spesso si tende ad installare i ventilatori soltanto nella corsia di alimentazione per indurre le bovine a sostare maggiormente in questa zona della stalla, con l'obiettivo di creare un ambiente più confortevole e favorire l'ingestione. Una soluzione di questo tipo però tende a favorire la presenza di animali in piedi nella zona di alimentazione ed a ridurre il periodo dedicato al riposo, con conseguente stress per l'animale. E' quindi necessario ventilare bene anche la zona di riposo per consentire alle bovine di riposare adeguatamente. Infatti con il caldo la bovina tende a rimanere in piedi più a lungo per mettersi in condizioni più favorevoli per smaltire maggiori quantità di calore. Se la ventilazione della stalla non viene effettuata in maniera omogenea si può esasperare questa situazione. Uno dei vantaggi della ventilazione forzata è invece proprio quello di consentire alle bovine di riposare maggiormente, rimanendo più a lungo coricate. Questo però deve avvenire nella zona di riposo, nelle cuccette o sulla lettiera, dove lo spazio a disposizione è sufficiente e dove la superficie è attrezzata per questa funzione. Se avviene nella corsia di alimentazione, perché solo questo distretto è ventilato, data l'esiguità e l'inadeguatezza dello spazio a disposizione, i problemi che si creano sono di gran lunga superiori ai vantaggi che si possono ottenere.

La ventilazione forzata può essere convenientemente abbinata ad un sistema di raffrescamento di tipo evaporativo. L'evaporazione di acqua, processo endotermico, rappresenta una delle tecniche più efficaci per abbassare la temperatura all'interno del ricovero. Una delle tecniche più diffuse è rappresentata dal cosiddetto raffrescamento evaporativo (cooling evaporating system) basato sull'impiego di grandi ventilatori-evaporatori (cooler), dotati di filtri umidi, entro i quali viene fatta passare l'aria di ventilazione che in questo modo si arricchisce di umidità, raffreddandosi. L'aria umidificata e raffrescata viene così convogliata dentro la stalla a beneficio delle vacche. E' un sistema che fornisce buoni risultati nelle stalle di tipo chiuso, dotate di un buon isolamento termico, nelle quali sia possibile praticare un ricambio forzato e controllato dell'aria di ventilazione. In una nostra prova condotta in provincia di Mantova (Frazzi e e coll., 1998a) questo sistema di ventilazione ha fornito i migliori risultati, rispetto a quelli ottenibili con la sola ventilazione o con la ventilazione associata alla nebulizzazione in stalle chiuse. In particolare questo sistema ha consentito di ottenere i migliori risultati, in termini di controllo della temperatura all'interno del ricovero e di performance delle bovine, nonostante la più elevata umidità relativa all'interno della stalla. Infatti la temperatura all'interno del ricovero nel periodo dal 17 luglio al 9 agosto si è mantenuta mediamente, nelle ore più calde della giornata, entro il 26°C mentre l'umidità relativa, nello stesso periodo della giornata, è scesa mediamente solo di poco al di sotto del 70%.

Una seconda tecnica nell'ambito della combinazione tra la ventilazione forzata ed il raffrescamento evaporativo prevede l'impiego di ventilatori e nebulizzatori. Essa si basa sull'impiego combinato di ventilatori e nebulizzatori: una serie di ugelli nebulizzatori, 1 o 2 per ventilatore, funzionanti ad elevata pressione provvede ad erogare acqua finemente suddivisa che in parte evapora nell'atmosfera abbassando la temperatura dell'aria. Il sistema dispone di un termostato che fa entrare in funzione l'impianto quando la temperatura interna supera una soglia prestabilita; il funzionamento avviene a cicli di 5-15 minuti, con tempi di aspersione/nebulizzazione di 0.5-1.5 minuti e tempi di sola ventilazione di 3.5-14.5 minuti. Il rapporto fra tempo di aspersione/nebulizzazione e sola ventilazione dovrebbe variare in funzione della temperatura dell'ambiente interno e del volume di erogazione unitario degli ugelli. Con questi impianti si può avere una abbassamento di 2-3°C dell'aria di ventilazione ed un limitato incremento dell'umidità.

Una terza tecnica si basa sull'impiego combinato di ventilatori ed erogatori d'acqua a bassa pressione (gocciolatori o docce). Il principio è analogo a quello precedente soltanto che in questo caso si punta più direttamente sulla bagnatura degli animali, ottenuta in maniera più marcata impiegando un sistema che eroga un maggior quantitativo di acqua. An-

che in questo caso è necessario provvedere alla ventilazione forzata per favorire l'evaporazione dell'acqua direttamente dal corpo della bovina. Anche in questo caso il sistema deve disporre di un termostato per variare, in funzione della temperatura interna del ricovero, il rapporto fra bagnatura/ventilazione e sola ventilazione. Tuttavia in questo caso aumentare il tempo di bagnatura/ventilazione attraverso la riduzione del tempo di sola ventilazione non è, entro certi limiti, auspicabile. Infatti l'animale dissipa calore non al momento della bagnatura ma quando la ventilazione promuove l'evaporazione di acqua sulla cute dell'animale. Infatti quando la bagnatura degli animali non è associata a ventilazione fornisce risultati, in termini di attenuazione degli effetti negativi del caldo, inferiori rispetto alla sola ventilazione (Calamari e coll., 1997).

Diverse ricerche condotte soprattutto negli U.S.A., negli anni '80 e '90, hanno messo in evidenza l'importanza di queste ultime due tecniche di climatizzazione nell'attenuare lo stress da calore nelle stalle per bovine da latte (Strickland et al., 1989; Igono et al., 1985; Flamenbaum et al., 1986; Turner et al., 1992; Beede et al., 1987; Bucklin et al., 1991). In particolare, in molti casi si è riscontrata la superiorità dei sistemi di raffrescamento che prevedono la bagnatura dell'animale e quindi l'evaporazione diretta di acqua dalla cute della bovina, rispetto a tecniche tese a ridurre soltanto la temperatura dell'aria (Bucklin et al., 1991; Lin et al., 1998). D'altra parte però questo sistema comporta un maggior consumo di acqua, la bagnatura delle pavimentazioni e la produzione di notevoli quantitativi di liquami di risulta.

Esiste poi un problema di clima, poiché le tecniche basate sul raffrescamento mediante evaporazione sono certamente più adatte ai climi caldo-secchi piuttosto che a quelli caldo-umidi. Inoltre anche la tipologia delle strutture edilizie e degli impianti può avere la sua importanza nella scelta dell'uno o dell'altro sistema di climatizzazione.

Per limitare questi inconvenienti negativi del sistema di ventilazione abbinata ad erogatori di acqua a bassa pressione sembra preferibile utilizzare il secondo sistema, ventilatori abbinati a nebulizzatori, con l'accorgimento di adottare nebulizzatori con maggiore portata in modo da bagnare gli animali senza un'eccessiva bagnatura del pavimento. In un nostro recente contributo (Frazzi e coll., 2002) abbiamo evidenziato che i due sistemi consentono di ottenere risultati analoghi in termini di temperatura rettale, atti respiratori, produzione e qualità del latte. L'impianto basato sulla combinazione ventilatori e nebulizzatori consente però di ridurre il consumo di acqua e di bagnare meno le zone coperte dall'impianto. Un'eccessiva bagnatura delle pavimentazioni o, peggio ancora della zona di riposo, comporta infatti diversi svantaggi dal punto di vista igienico-sanitario (animali che si coricano nelle zone umide nella zona di alimentazione, maggiori rischi di mastiti, ecc..).

Inoltre l'impianto di raffrescamento basato su ventilazione abbinata a nebulizzazione si presta meglio a condizionare in maniera uniforme tutto il ricovero. Da nostre recenti ricerche (Frazzi e coll., 2000, Calegari e coll., 2002) abbiamo riscontrato che qualora venga interessata, con la ventilazione e nebulizzazione e/o bagnatura, solo la zona di alimentazione le bovine tendono a spendere più tempo in piedi nella zona di alimentazione (figura 5), riducendo il tempo dedicato al riposo nella specifica area non condizionata (figura 6). Allo stesso tempo aumenta il numero di animali che si corica nella zona di alimentazione (figura 6).

Inoltre dall'osservazione del comportamento degli animali si è notato che le bovine preferiscono bagnarsi sotto l'impianto di nebulizzazione piuttosto che bagnarsi direttamente sotto la linea dei gocciolatori. Infatti anche nel box dove erano installati i gocciolatori le bovine preferivano rimanere nella zona appena adiacente dove, grazie all'azione dei ventilatori, giungeva per deriva l'acqua nebulizzata.

CONCLUSIONI

L'assenza di qualsiasi forma di stress rappresenta la premessa indispensabile per ottenere il benessere degli animali allevati e l'attenzione dell'allevatore dovrebbe accentrarsi sulla necessità di assicurare un ambiente soddisfacente garantendo, nei limiti del possibile, benessere dal punto di vista termico, fisico ed alimentare, controllando le malattie e i fattori di stress predisponenti, senza ostacolare la manifestazione di tutti gli atteggiamenti sociali ed il comportamento spontaneo degli animali.

Esiste una stretta interdipendenza fra benessere e fattori produttivi, riproduttivi e sanitari. Le varie forme di stress influenzano negativamente l'efficienza riproduttiva. In particolare le condizioni di clima caldo sopprimono la dominanza follicolare con conseguenti effetti sulla crescita follicolare (sviluppo di un maggior numero di follicoli di dimensioni superiori a 10 mm, anticipata emergenza del follicolo preovulatorio con allungamento del periodo di dominanza) e diminuzione della fertilità. Il caldo inoltre comporta una diminuzione della capacità seteroidogenica da parte dei follicoli, una riduzione della produzione di progesterone, altera la dinamica follicolare con conseguenze sui cicli estrali successivi, con fertilità più bassa anche in autunno, quando le condizioni climatiche sono in genere accettabili.

Gli accorgimenti che l'allevatore deve adottare per limitare le cause di stress sono numerosi e l'adeguata gestione degli animali e l'appropriato controllo dell'ambiente, del microclima in particolare, rappresentano dei punti cardine. In linea generale la corretta gestione della mandria non deve interferire con l'abilità della bovina a compiere le varie attività, comprese nel normale comportamento giornaliero degli animali allevati. Queste attività, per una bovina ad alta produzione, contemplano l'assunzione degli alimenti (9-14 pasti/d in 3-5 h), l'assunzione di acqua (30 min/d), la ruminazione (7-10 h/d), la mungitura (2-3 h/d) ed il riposo (almeno 10 h/d in posizione di decubito). In ultima analisi occorre ridurre al minimo il tempo in cui gli animali sono lontani da cibo, acqua ed area di riposo. In particolare le bovine nella fase di transizione e le primipare risentono maggiormente di un'inadeguata gestione degli animali.

Dal punto di vista del controllo dello stress da caldo, i risultati di maggiore rilievo si ottengono sviluppando un approccio al problema di tipo integrato, combinando cioè i vari tipi

Tabella 1. Principali categorie di stress presenti in allevamento (Napolitano e De Rosa, 1997).
Table 1. Main stress factors in the farm (Napolitano and De Rosa, 1997).

Interazioni *Interactions*		
animale-animale *animal-animal*	**animale-uomo** *animal-man*	**animale-ambiente** *animal-environment*
Gerarchie sociali	**Confinamento**	**Fattori climatici**
Social hierarchy	***Restrains***	***Climatic factors***
dominanti	**Formazione di gruppi**	temperatura
dominant	***Group changes***	*temperature*
dominati	**Immissione in ambienti nuovi**	umidità
dominated	***Novel environment***	*umidity*
	Sovraffolamento	ventilazione
	Overcrowding	*ventilation*
Stati fisiologici	**Separazione dalla madre**	
Physiological status	***Separation from dam***	
pubertà	**Svezzamento**	**Luce**
puberty	***Weaning***	***Light***
estro	**Tosatura**	**Rumori**
oestrus	***Shearing***	***Noise***
accoppiamento	**Interventi vaccinali e terapeutici**	**Traumi**
mating	***Manipulation for vaccins or therapy***	***Trauma***
gravidanza	**Trasporto**	
pregnancy	***Transportation***	
lattazione	**Modalità di abbattimento**	
lactation	***Slaughtering technique***	

di intervento (genetico, nutrizionale-alimentare e di modificazioni fisiche dell'ambiente). Le tecniche tese a modificare le condizioni fisiche dell'ambiente consentono di ottenere i migliori risultati nei confronti dello stress da caldo. Queste tecniche, in particolare quelle attive, consentono di ottenere risultati in tempi brevi e con un più favorevole bilancio fra costi/benefici. Nelle stalle aperte sono da preferire interventi con bagnatura degli animali abbinati a ventilazione. Il raffrescamento evaporativo (*cooling*) è un sistema che fornisce buoni risultati nelle stalle di tipo chiuso, dotate di un buon isolamento termico, nelle quali sia possibile praticare un ricambio forzato e controllato dell'aria di ventilazione.

Tabella 2. Produzione di latte nelle bovine allevate nel box di controllo (C), nel box dotato di ventilatori e nebulizzatori (FM), nel box dotato di ventilatori e gocciolatori (FS) e nel box con impianto di raffrescamento evaporativo (CEV) (Frazzi e coll., 2002).
Table 2. Milk yield in the trial and in hottest period in dairy cows raised in the control pen (C), in the pen equipped with fans and misters (FM), with fans and sprinklers (FS), and with a special cooling evaporation system (CEV) (Frazzi et al., 2002).

Periodo *Period*		C	CEV	FM	FS
15 Giu – 27 Ago *15 June to 27 August* (periodo sperimentale) *(experimental period)*	Produzione media di latte nel periodo (kg/d) *Average milk yield (kg/d)*	30.63	34.37	34.78	33.46
	Riduzione della produzione nel periodo (%/mese) *Milk yield reduction (%/ month)*	9.17b	6.44ab	3.64a	2.90a
	Riduzione della produzione nel periodo (kg/bovina) *Milk yield reduction (kg/cow)*	264b	214ab	113a	92a
	Differenza della produzione nel periodo rispetto al controllo (kg/bovina) *Difference in total milk yield (kg/cow) with respect to control*		50	151	172
08 Ago – 20 Ago *8 August to 20 August* (periodo più caldo) *(hottest period)*	Produzione media di latte nel periodo (kg/d) *Average milk yield (kg/d)*	29.29a	32.60ab	33.07ab	34.64b
	Riduzione della produzione nel periodo (%/mese) *Milk yield reduction (%/ month)*	48.3bB	26.6abAB	18.8aA B	13.1aA
	Riduzione della produzione nel periodo (kg/bovina) *Milk yield reduction (kg/cow)*	88.6bB	59.5abAB	39.1aA B	26.9aA
	Differenza della produzione nel periodo rispetto al controllo (kg/bovina) *Difference in total milk yield (kg/cow) with respect to control*		29.1	49.5	61.7
	Differenza nella riduzione di produzione giornaliera nel periodo rispetto al controllo (kg/bovina/d) *Difference in daily milk yield reduction (kg/cow/d) with respect to control*		2.07	3.53	4.40

a,b: $p<0.01$; A,B: $p<0.05$

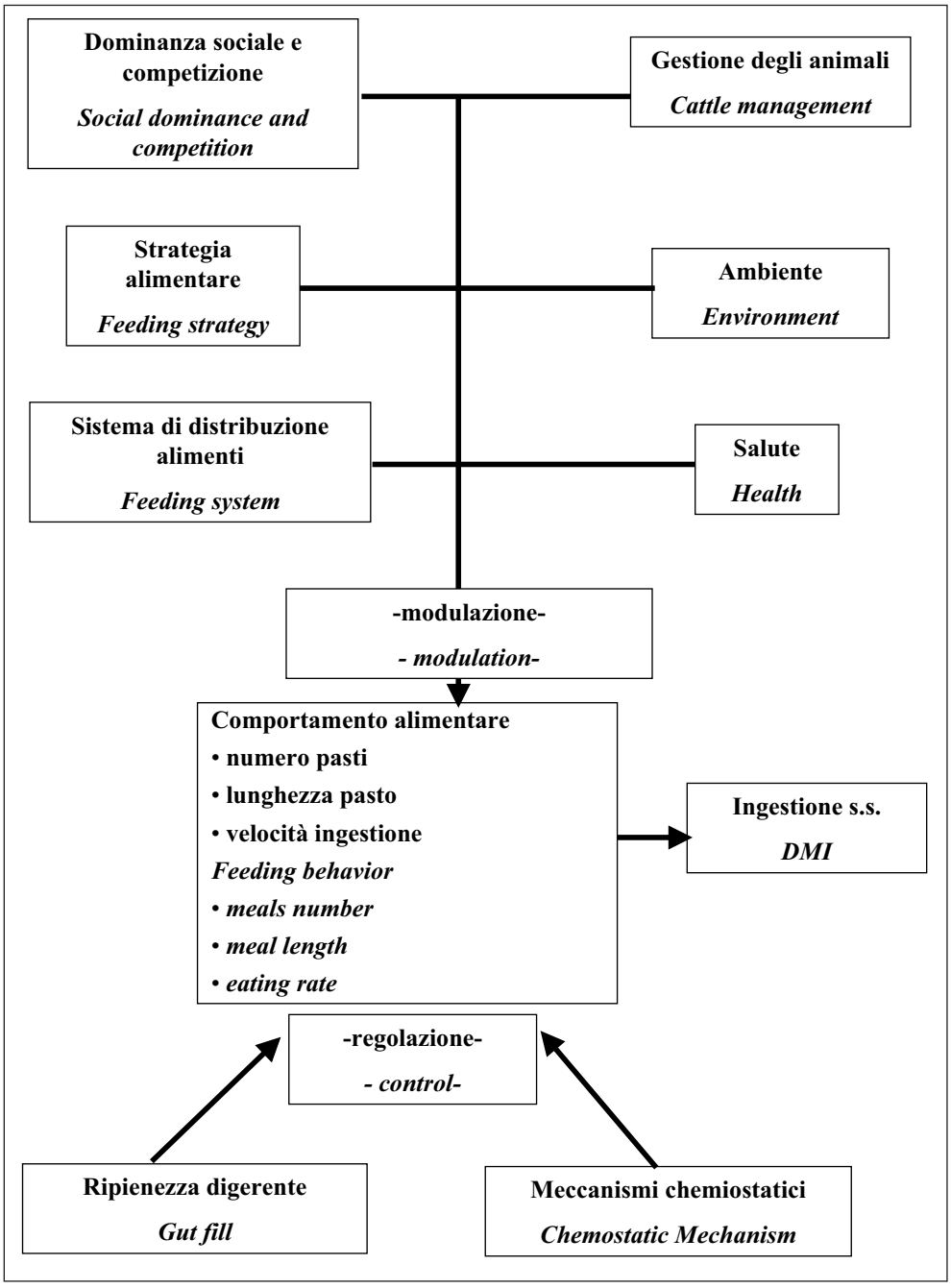

Figura 1 - Controllo e modulazione dell'ingestione di s.s. nella vacca durante la fase di transizione (Grant e Allbright, 1995).

Figure 1 - Control and modulation of dry matter intake (DMI) in the transition cow. (Grant and Allbright, 1995).

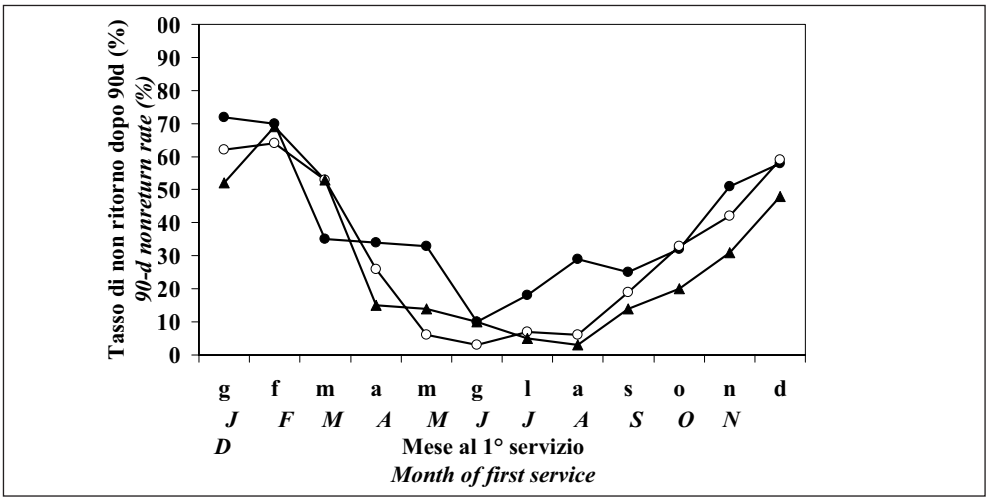

Figura 2 - Variazioni stagionali del tasso di non ritorno dopo 90 giorni dalla 1a inseminazione in Georgia (•), Florida del nord (◦) e del sud (▲). I valori sono stati aggiustati per l'intervallo al 1° servizio (Al-Katanani e coll., 1999).

Figure 2 – Seasonal variation in 90-d nonreturn rate to first service in south Georgia (•)*, north Florida* (◦) *and south Florida* (▲). *Data are least-square means adjusted for interval to first service. (Al-Katanani et al., 1999).*

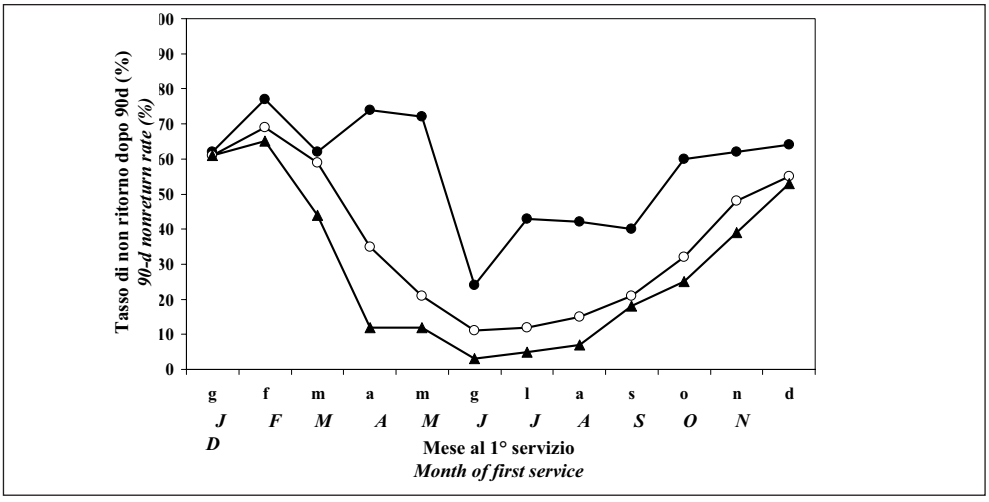

Figura 3 - Variazioni stagionali del tasso di non ritorno dopo 90 giorni dalla 1a inseminazione in relazione alla produzione di latte in termini di equivalente vacca matura (• < 4536 kg; ◦ 4536-9072 kg; ▲ > 9072 kg). I valori sono stati aggiustati per l'intervallo al 1° servizio (Al-Katanani e coll., 1999).

Figure 3 - Seasonal variation in 90-d nonreturn rate to first service as affected by mature equivalent milk yield. Results represent least-squares means adjusted for interval to first service when cows were grouped according to milk yield (• < 4536 kg; ◦ 4536-9072 kg; ▲ > 9072 kg). *(Al-Katanani et al., 1999).*

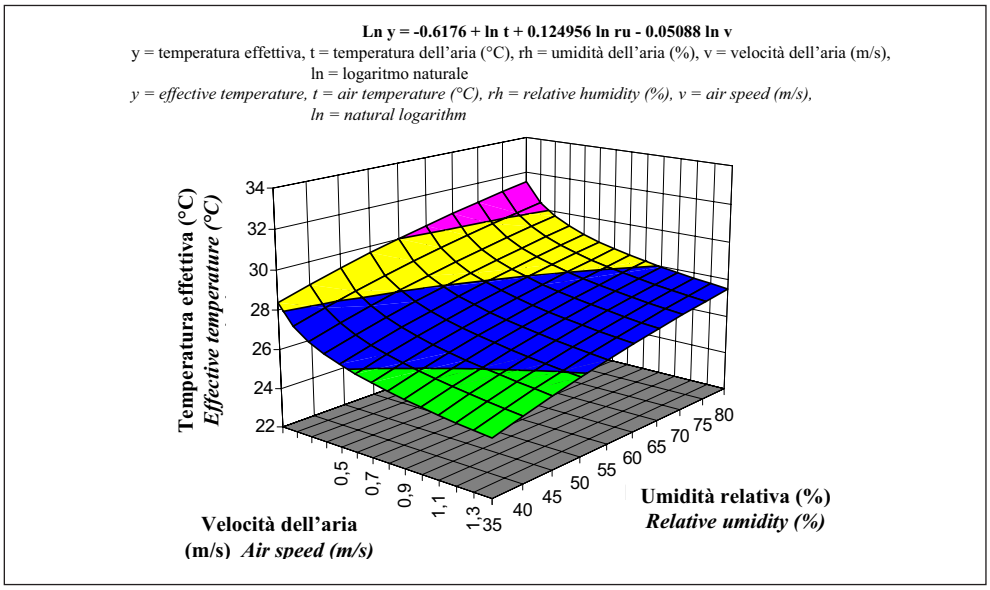

Figura 4 - Influenza della velocità dell'aria e dell'umidità relativa sulla temperatura effettiva per la bovina da latte, calcolata secondo il modello matematico proposto da Frazzi e coll. (1998).
Figure 4 – Effect of the ventilation and humidity on dairy cows effective temperature according to the mathematical model proposed by Frazzi et al. (1998).

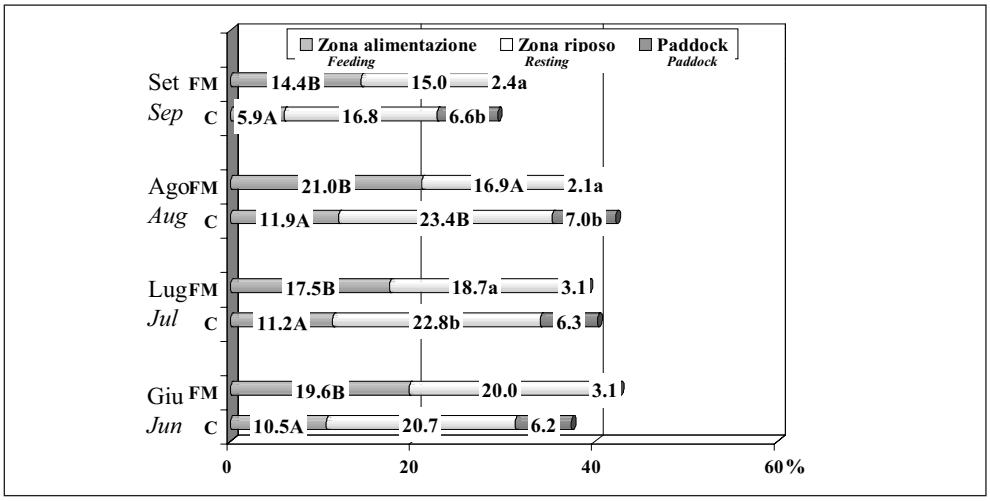

Figura 5 - Valori mensili delle bovine in piedi (in % delle bovine totali) nella zona di alimentazione (non in mangiatoia), nella zona di riposo e nel paddock nel gruppo di controllo (C) e nel gruppo allevato in box dotato di ventilatori e nebulizzatori (FM); (a,b: P<0,05; A,B: P<0,001) (Calegari e coll., 2002).
Figure 5 – Mean monthly values of standing cows (in % of total cows) in feeding area (no eating), in resting area and in the paddock in control pen (C) and in a pen equipped with fans and misters (FM); (a,b: P<0.05; A,B: P<0.001) (Calegari et al., 2002).

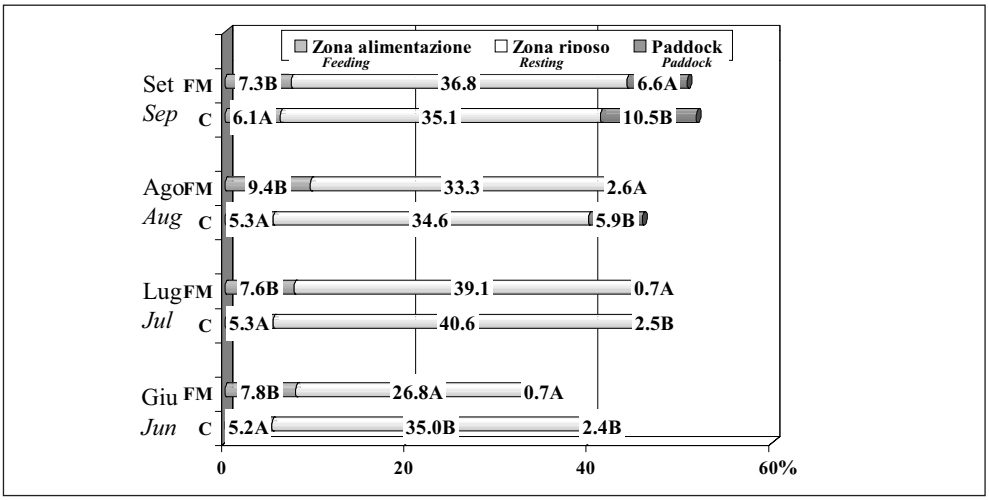

Figura 6 - Valori mensili delle bovine coricate (in % delle bovine totali) nella zona di alimentazione, nella zona di riposo e nel paddock nel gruppo di controllo (C) e nel gruppo allevato in box dotato di ventilatori e nebulizzatori (FM); (a,b: P<0,05; A,B: P<0,001) (Calegari e coll., 2002).

Figure 6 - Mean monthly values of lying cows (in % of total cows) in feeding area, in resting area and in the paddock in control pen (C) and in a pen equipped with fans and misters (FM); (a, b: P<0.05; A,B: P<0.001) (Calegari et al., 2002).

BIBLIOGRAFIA

1) AHMAD N., SCHRICK F.N., BUTCHER R.L., INSKEEP E.R. (1995) - *Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows*. Biol. Reprod., 52, 1129-1135.

2) ALBRIGHT J.L., ARAVE W. (1997) - *Feeding behavior. In Behavior of cattle*, CAB Int., Wallingford, Oxon, UK.

3) ARAVE C.W., ALBRIGHT J.L., SINCLAIR C.L. (1974) - *Behavior, milk yield and leucocytes of dairy cows in reduced space and isolation*. J. Dairy Sci., 57, 1497-2001.

4) BADINGA L., COLLIER R.J., THATCHER W.W., WILCOX C.J. (1985) - *Effects of climatic and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropical environment*. J. Dairy Sci., 68, 78-85.

5) BADINGA L., THATCHER W.W., DIAZ T., DROST M., WOLFENSON D. (1993) - *Effect of environment heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows*. Theriogenology, 39, 797-810.

6) BATCHELDER T.L. (2000) - *The impact of head gates and overcrowding on production and behavior patterns of lactating dairy cows*. In Dairy housing and equipment systems. Managing and planning for profitability. 325-330. Natural Resource, Agriculture, and Engineering Service Publ. 129, Camp Hill, PA.

7) BAZELEY K., PINSET P.J.N. (1984) - *Preliminary observations in a series of outbreaks of acute laminitis in dairy cattle*. Vet. Rec., 115, 619-622.

8) BEEDE, D.K., D.R. BRAY, R.A. BUCKLIN, F. ELVINGER AND J. K. SHEARER. (1987) - *Integration of cooling method for environmental management systems in hot humid environments*. In Proceeding of the 24th Annual Florida Dairy Production Conference, 68-93. Gainesville, FL.

9) BEEDE D.K., COLLIER R.J. (1986) - *Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress*. J. Anim. Sci., 62, 543-544

10) BUCKLIN, R.A., L.W. TURNER, D.K. BEEDE, D.R. BRAY. AND R.W. HEMKEN. (1991) - *Methods to relieve heat stress for dairy cows in hot, humid climates*. Applied Engineering in Agriculture 7(2):241-247.

11) CALAMARI L., CALEGARI F., MAIANTI M.G., STEFANINI L. (1997) - *Ventilazione ed irrorazione degli animali nel periodo estivo: effetti sulle condizioni metaboliche e su talune caratteristiche del latte*. Atti 12° Congr. Naz. A.S.P.A., Pisa, 23-26 giugno, 193-194. Ed. Dip. Prod. Anim., Pisa.

12) CALAMARI L., MAIANTI M.G., CAPPA V., FRAZZI E. (1994) - *The influence of the air speed on yield and milk characteristics in dairy cows in summer season*. International Conference on Agricultural Engineering, Milano, 29 agosto-1 settembre, 214-215.

13) CALEGARI F., CALAMARI L., FRAZZI E. (2002) - *Effects of ventilation and misting on behaviour of dairy cattle in hot season in South Italy*. (in press).

14) CALEGARI F., VERONESI M. (2002) - *Soluzioni impiantistiche e costi di esercizio per la climatizzazione delle stalle*. Informatore zootecnico, 23, 59-63.

15) CURTIS S.E., HOUPT K.A. (1983) - *Animal ethology: its emergence in animal science*. J. Anim. Sci., 57, 234-247.

16) DAVIDSON A.P., STABENFELDT G.H. (1997) - *Control of gonadal and gamete development*. In Textbook of veterinary physiology, Cunningam J.G. Ed., 443-452. Ed. Saunders Company, Philadephia, Pennsylvania (USA).

17) DUNCAN I.J.H. (1993) - *Welfare is to do what animals feel.* Journal of Agricultural and Environmental Ethics, 6 (Supplement 2):8-14.

18) DUNCAN I.J.H., Fraser D. (1997) - *Understanding animal welfare*. In: Appleby M.C. and Hughes B.O., editors. Animal Welfare. CAB International, Oxon UK., 19-31.

19) FLAMENBAUM, I., WOLFENSON D., MAMEN M., AND BERMAN A. (1986) - *Cooling dairy cattle by a combination of sprinkling and forced ventilation and its implementation in the shelter system*. J Dairy Sci 69(12): 3140-3147.

20) Frazzi E. (1995) - *Stress da caldo negli allevamenti di bovine da latte. Alcune regole base per limitare il riscaldamento della stalla*. Atti Convegno Allevamento della vacca da latte in estate: controllo del microambiente e dell'alimentazione, Piacenza, 1° dicembre, 27-55. Ed. Az. Sperim. Tadini (PC) e CRPA (RE).

21) Frazzi E., Calamari L., Calegari F. (1998) - *Dairy cows heat stress index including air speed parameter*. "Rivista di Ingegneria Agraria", 29(2), 91-96.

22) Frazzi E., Calamari L., Calegari F. (1998a) - *Different systems of air conditioning for dairy cows housing in mediterranean climate*. Proc. "13th Int. Congr. Agric. Eng.", Rabat 2-6 febbraio, Vol. 2, 219-225.

23) Frazzi E., Calamari L., Calegari F., Stefanini L. (2000) - *Behavior of dairy cows with different barn cooling systems*. Transation of the ASAE (American Society of Agricultural Engineers), 43(2), 387-394.

24) Friend T.H., Polan C.E., McGilliard M.L. (1977) - *Free stall and feed bunk requirements relative to behavior, production, and individual feed intake in dairy cows*. J. Dairy Sci., 60, 108-118.

25) Grant R.J., Albright J.L. (1995) - *Feeding behavior and management factors during transition period in dairy cattle*. J. Anim. Sci., 73, 2791-2803.

26) Grant R.J., Albright J.L. (2000) - *Feeding behaviour. In Farm animal metabolism and nutrition*. Ed. D'Mello J.P.F., 365-382, CABI International, Wallingford, Oxon, UK.

27) Grant R.J., Albright J.L. (2001) - *Effect of animal grouping on feeding behavior and intake of dairy cattle*. J. Dairy Sci., 84(E. Suppl.), 156-163.

28) Igono, M. O., B. J. Steevens, M. D. Shanklin and H. D. Johnson (1985) - *Spray Cooling Effects on Milk Production, Milk, and Rectal Temperatures of Cows During a Moderate Summer Season*. J Dairy Sci 68(4): 979-985.

29) Lin, J.C., Moss B.R., Koon J.L., Flood C.A., Smith III R.C., Cummins K.A. and Coleman D.A. (1998) - *Comparison of various fan, sprinkler, and mister systems in reducing heat stress in dairy cows*. Applied Engineering in Agriculture 14(2): 177-182.

30) Menzi W. Chase L.E. (1994) - *Feeling behavior of cows housed in free stall barns*. In Dairy Systems for the 21st Century, 829-831, American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI.

31) Mihm M., Baguisi A., Boland M.P., Roche J.F. (1994) - *Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers*. J. Reprod. Fertil., 102, 123-130.

32) Napolitano F, De Rosa G. *Stress e immunità negli animali di interesse zootecnico*. Praxis Vet. 1997; 18(4):10-11.

33) Olofsson J. (1999) - *Competition for total mixed diets fed for ad libitum intake using one or four cows per feeding selection*. J. Dairy Sci., 82, 69-79.

34) Palta P., Mondal S., Prakash B.S., Madam M.L. (1997) - *Peripheral inhibin levels in relation to climatic variations and stage of estrous cycle in buffalo* (*Bubalus bubalis*). Theriogenolgy, 47, 989-995.

35) Pennington J.A., Albright J.L., Diekman M.A., Callahan C.J. (1985) - *Sexual activity of Holstein cows: seasonal effects*. J. Dairy Sci., 68, 3023-3030.

36) Phelps A. (1992) - *Vastly superior first lactations when heifers fed separately*. Feedstuffs, May 11, 11-13.

37) Schultz T.A. (1999) - *Animal behavior related to physical facilities*. In Large Dairy herd management. Van Horn H.H & Wilcox C.J. Eds., 664-671, American Dairy Science Association, Savoy, IL.

38) Shearer J.K., Beede D.K., Bucklin R.A., Bray D.R. (1991) - *Environmental modifications to reduce heat stress in dairy cattle*. Agri Practice, 12, 7-18.

39) Smith J.F., Harner J.P., Brouk M.J., Armstrong D.V., Gamroth M.J., Meyer M.J. (2000) - *Relocation and expansion planning for dairy producers*. Publ. MF2424, Kansas State Univ. Coop Ext. Serv., Manhattan.

40) Sniffen C.J., Beverly R.W., Mooney C.S., Roe M.B., Skidmore A.L. (1993) - *Nutrient requirements versus supply in the dairy cow: strategies to account for variability*. J. Dairy Sci., 76, 3160-3169.

41) Strickland, J. T., R.A. Bucklin, R. Nordstedt, D.K. Beede, and D. R. Bray. (1989) - *Sprinkler and fan cooling systems for dairy cows in hot, humid climates*. Applied Engineering in Agriculture 5(2):231-236.

42) Turner, L.W., J. P. Chastain, R.W. Hemken, R.S. Gates, and W.L. Crist. (1992) - *Reducing heat stress in dairy cows through sprinkler and fan cooling*. Applied Engineering in Agriculture 8(2):251-256.

43) Trout J.P., McDowell L.R., Hansen P.J. (1998) - *Characteristics of the estrous and antioxidant status of lactating Holstein cows exposed to heat stress*. J. Dairy Sci., 81, 1244-1250.

44) Webster A.J.F. *Environmental stress and the physiology, performance and health of ruminants*. J. Anim. Sci. 1983; 65: 1220-1227.

45) Williams C.B., Oltenacu R.A. (1992) - *Evaluation of criteria used to group lactating cows using a dairy production model*. J. Dairy Sci., 75, 155-165.

46) Wilson S.J., Kirby C.J., Koenigsfeld A.T., Keisler D.H., Lucy M.C. (1998) - *Effect of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle: 2. Heifers*. J. Dairy Sci., 71, 2132-2138.

47) Wise M.E., Armstrong D.V., Huber J.T., HuhterR. Wiersma F. (1988) - *Hormonal alterations in the lactating dairy cow in response to thermal stress*. J. Dairy Sci., 71, 2480-2485

48) Wolfenson D., Luft O., Berman A., Meidan R. (1993) - *Effect of season, incubation temperature and cell age on progesterone and prostaglandin F_{2a} production in bovine luteal cells*. Anim. Reprod. Sci., 32, 27-40.

49) Wolfenson D., Thatcher W.W., Badinga L., Savio J.D., Meidan R., Lew B.J., Braw-Tal R., Berman A. (1995) - *Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle*. Biol. Reprod., 52, 1106-1113.

50) Wolfenson D., Lew B.J., Thatcher W.W., Graber Y., Meidan R. (1997) - *Seasonal and acute heat stress effects on steroid production by dominant follicle in cows*. Anim. Reprod. Sci., 47, 9-19.

51) Wolfenson D., Roth Z., Meidan R. (2000) - *Impaired reproduction in heta-stressed cattle: basic and applied aspects*. Anim. Reprod. Sci., 60-61, 535-547.

TRANSITION COW:
aspetti immunitari, produttivi e riproduttivi
(Rimini, 21-09-01)

TRANSITION COW:
immune, production and reproduction aspects
(Rimini, 21st September 2001)

GIUSEPPE BERTONI

IL SUCCESSO DEGLI ALLEVAMENTI DI LATTIFERE DIPENDE ANCHE DA UN "SEGRETO" DELLE BOVINE

THE DAIRY FARM SUCCESS DEPENDS FROM A "SECRET" OF ITS COWS

Istituto di Zootecnica – Facoltà di Agraria - Università Cattolica del Sacro Cuore
Via Emilia Parmense, 84 - 29100 Piacenza
Tel. 0523/599277; fax 0523/599276; e-mail: giuseppe.bertoni@unicatt.it

La bovina da latte è spesso considerata un animale "mostruoso" ed in certa misura è vero tenuto conto delle enormi quantità di latte prodotto, cui fa seguito il rischio di gravi conseguenze per la sua salute e fertilità. Tuttavia, come un eroe della mitologia, la bovina ha un "segreto" da cui può dipendere la elevata risposta produttiva e contemporaneamente la buona longevità; questo segreto non riguarda il classico "tallone", bensì un breve periodo: la transizione che comprende 3 settimane prima e 3 dopo il parto.

Come suggerito da Drakley (1999): "L'importanza di una proficua fase di transizione, dal termine della gravidanza all'inizio della lattazione, è inequivocabile. I problemi di salute durante il periparto possono facilmente erodere l'intera capacità potenziale di una singola bovina in lattazione".

Qualsivoglia problema (malattia) può in questa fase dare il via ad una serie di anomalie con seri rischi per la sopravvivenza della bovina. Per evitare o per ridurre questi rischi è quindi di fondamentale importanza ottimizzare ciascuna fase della vita della bovina, ma in particolare quella della transizione gravidanza/lattazione. Ciò implica peraltro una migliore comprensione dei processi fisiologici nell'intorno del parto, ma altresì dei meccanismi concernenti il legame fra parto-inizio lattazione e sistema immunitario con le conseguenze sulla produzione di latte, sulla salute e sulla fertilità. Inoltre, di grande rilevanza sono la gestione e le tecniche di alimentazione; da esse infatti può venire una migliore risposta delle bovine in questa fase a rischio.

Questi sono i principali obiettivi del workshop e dei relatori invitati.

BIBLIOGRAFIA

1) Drakley J.K. (1999) *Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier?* J. Dairy Sci., 82, 2259-2273.

GIANFRANCO GABAI

ADATTAMENTI FISIOLOGICI E METABOLICI NELLA GHIANDOLA MAMMARIA E CONSEGUENZE PER LA BOVINA.

PHYSIOLOGICAL AND METABOLIC ADAPTATIONS IN THE MAMMARY GLAND AND CONSEQUENCES FOR THE DAIRY COW.

Dipartimento di Scienze Sperimentali Veterinarie, Università di Padova
Agripolis, via Romea, 16 – 35020 – Legnaro (PD)
tel.: 049 827 2650 - fax: 049 827 2669
e-mail: gianfranco.gabai@unipd.it

RIASSUNTO

È probabile che la regolazione delle durata e della persistenza della lattazione nella bovina in condizioni naturali sia molto diversa da quella imposta dall'uomo. Gli scopi del sistema produttivo corrente sono di massimizzare la produzione giornaliera di latte al picco di lattazione e di ridurre al minimo l'interparto. Come conseguenza, la bovina deve fronteggiare un'enorme sfida metabolica, particolarmente durante il periodo di transizione tra la tarda gravidanza e l'inizio della lattazione, e il fallimento di detta sfida può comportare scarse prestazioni produttive e riproduttive e compromettere la salute dell'animale. Per la ghiandola mammaria, il periodo di transizione è una fase di intenso ricambio cellulare, seguito da un notevole differenziamento cellulare e un'eccezionale secrezione lattea. Per la bovina, il periodo di transizione è stressante e delicato. Lo scopo di questa breve review è di focalizzare gli eventi fisiologici che accadono nella ghiandola mammaria della bovina durante il periodo di transizione e di metterli in relazione con gli adattamenti dell'intero organismo. L'ipotesi che emerge è che il periodo di transizione e l'asciutta in particolare sono importanti per garantire il successo dello sviluppo della ghiandola mammaria e della successiva lattazione. Ma, fortunatamente, la lattazione è un fenomeno assai adattabile e la più completa comprensione dei meccanismi che regolano la biologia mammaria tra due lattazioni può favorire lo sviluppo di strategie produttive meno stressanti per gli animali e capaci di garantire un profitto accettabile per i produttori.

Parole chiave

Bovina da latte, Asciutta, Mammogenesi, Ormoni, Apporti nutritivi

SUMMARY

It is likely that the natural regulation of lactation length and frequency in the cow is very different from what is imposed by man. The purpose of the current productive system is to maximize the daily yield at peak lactation and minimize the calving interval. As a consequence, the dairy cow has to face a huge metabolic challenge in particular during the transition between late pregnancy and early lactation, and the failure to meet adequately this challenge may lead to poor lactation and reproductive performances and compromise animal health. For the mammary gland, the transition period is a stage of intense cell turnover, followed by cell differentiation around parturition followed by the huge milk secretion. For the cow, the transition period is stressful and delicate. The purpose of this short review is to focus the physiological events occurring in the mammary gland during the transition period and examine the relationship between the gland biology and the whole animal metabolism. The emerging hypothesis is that the transition period and the dry period in particular are important to guarantee the successful development of the mammary gland and the subse-

quent milk production. Luckily, lactation is a very adaptable phenomena and the thorough understanding of the mechanisms controlling the mammary gland biology between lactations may result in strategies for milk production less stressful for the cow and capable at the same time to keep an acceptable profit.

Key words
Dairy cow, Dry period, Mammogenesis, Hormones, Nutrient supply

INTRODUZIONE

È assai probabile che in condizioni naturali i meccanismi che regolano la durata e la frequenza della lattazione nella bovina siano assai differenti da quelli imposti dall'uomo. Lo scopo dell'attuale modello produttivo è di massimizzare la produzione giornaliera di latte al picco di lattazione e di minimizzare il periodo di interparto. Di conseguenza, le bovine devono fronteggiare un enorme sfida metabolica, in particolare durante la transizione tra l'asciutta e l'inizio della lattazione, e il mancato successo in questa sfida può comportare prestazioni produttive e riproduttive di basso livello e compromettere la salute degli animali.

Gli approcci manageriali si sono evoluti nell'ottica di massimizzare la produzione di latte e, probabilmente, sono già quasi ottimali, tuttavia importanti nodi devo ancora essere sciolti.

Gli animali ad alta produzione che partoriscono ad intervalli di un anno devono essere messi in asciutta quando producono ancora considerevoli quantità di latte. Inoltre, la durata dell'asciutta è assai variabile (L. Gallo, comunicazione personale) e ciò potrebbe portare effetti negativi per uno sviluppo corretto della ghiandola mammaria. Produzioni di elevate quantità di latte sono associate dalla opinione pubblica a condizioni di stress metabolico, sebbene questa percezione non sia pienamente supportata da una approfondita indagine metabolica (Knight, 1998). La longevità degli animali stà ricevendo sempre maggiore attenzione perché ha un effetto sul profitto dell'azienda (Cassandro et al., 1999) e, in accordo con la percezione del consumatore, sulla qualità della vita degli animali.

Per la ghiandola mammaria, il periodo di transizione è una fase di intenso ricambio del tessuto epiteliale, seguito dal differenziamento cellulare attorno al parto. Questo, a sua volta, da il via alla secrezione di enormi quantità di latte, che aumentano fino al raggiungimento del picco di lattazione. Questi eventi sono supportati dalla mobilizzazione delle riserve corporee che dipendono da un controllo endocrino.

Lo scopo di questa rassegna è di focalizzare gli eventi fisiologici che accadono nella ghiandola mammaria della bovina durante il periodo di transizione e di metterli in relazione con gli adattamenti dell'intero organismo.

L'ASCIUTTA

L'importanza dell'asciutta sembra essere legata maggiormente a motivi che riguardano la ghiandola mammaria piuttosto che lo stato nutrizionale (Capuco and Akers, 1999). Infatti, la ricostituzione delle riserve corporee è possibile in assenza dell'asciutta, come appare dalle variazioni di peso corporeo, dal bilancio energetico e dal BCS delle bovine in tarda lattazione (Grummer, 1995; NRC, 2001). La mobilizzazione delle riserve corporee dipende dal bilancio energetico e dalla conseguente situazione endocrina (Bell, 1995), e si può supporre che la presenza e la durata dell'asciutta non la influenzino. In più, i cambiamenti di alimentazione che avvengono all'inizio e alla fine dell'asciutta provocano notevoli cambiamenti a carico dell'attività prestomacale ai quali le bovine devono adattarsi (Grummer, 1995; NRC,

2001). In considerazione di ciò, il periodo di transizione è assai delicato e la gestione della bovina da latte sarebbe più semplice senza il periodo di asciutta. Tuttavia, la produzione di latte nella successiva lattazione può subire una riduzione del 20% in assenza di una asciutta di durata adeguata (Capuco e Akers, 1999).

La produzione di latte è funzione di alcuni parametri, ma da molto tempo è noto che la dimensione della ghiandola mammaria è il fattore più importante. Più precisamente, poiché la ghiandola mammaria contiene differenti quantità di tessuto extraparenchimale, la produzione di latte è una funzione della massa di parenchima mammario o, in altri termini, del numero di cellule epiteliali (Knight, 1989; Capuco and Akers, 1999; Knight, 2000). Anche le dimensioni della cisterna sono importanti, ma non sono in grado di compensare completamente un inadeguato sviluppo del parenchima (Knight et al., 1994).

Esistono due fasi distinte di sviluppo mammario (mammogenesi): prima del primo concepimento e le cicliche fasi di proliferazione, secrezione ed involuzione che avvengono durante le lattazioni. La prima fase della mammogenesi è al di fuori degli scopi di questa trattazione, sebbene essa sia enormemente importante per la vita produttiva delle bovine. Lo scopo di questa trattazione è di focalizzare gli eventi che avvengono nella ghiandola mammaria tra due successive lattazioni.

Nella bovina, la prima volta che si verifica la mammogenesi si completa in circa 9 mesi, e in manze Holstein il parenchima mammario passa da circa 5,1 kg a metà gravidanza a 8,6 kg in prossimità del parto e a 16,4 kg al picco di lattazione (Keys et al., 1989). Dalla seconda lattazione in avanti, il processo si completa in circa sei settimane. Nelle vacche, le cellule epiteliali aumentano del 65% in un periodo compreso tra i 10 giorni prima ed i 10 giorni dopo il parto (Tucker, 1987).

In ogni caso, è durante la gravidanza che si verifica la maggior parte della proliferazione cellulare, secondo un andamento esponenziale tale che la popolazione cellulare raddoppia in 90 giorni (Knight et al., 1994). Ciò implica che la proliferazione delle cellule mammarie avviene contemporaneamente ai processi secretori e la massa di tessuto parenchimatoso presente nella seconda lattazione sia invariabilmente maggiore rispetto alla prima (Knight et al., 1994). Questo effetto di "trascinamento" del tessuto da una lattazione alla successiva riduce il costo energetico dello sviluppo mammario, anche se comunque tale costo dovrebbe essere considerato nella formulazione delle diete per la "transition cow" (NRC, 2001).

Un altro aspetto importante è la durata della fase di accrescimento, poiché l'accrescimento esponenziale conferisce rapidità al fenomeno, ma richiede anche una notevole precisione dei meccanismi di controllo, e variazioni di pochi giorni potrebbero condizionare significativamente le prestazioni produttive (Knight et al., 1994). Nella bovina, l'effetto della durata programmata dell'asciutta sulla successiva lattazione è stato studiato in modo approfondito e si è trovato che un'asciutta ideale di 40-60 giorni è necessaria per ottenere una produttività ideale (Sorensen e Enevoldsen, 1991; Capuco e Akers, 1999). E' ipotizzabile che un periodo di asciutto troppo lungo possa risultare in una eccessiva involuzione mammaria, non adeguatamente compensata dalla proliferazione cellulare che si verifica in prossimità del parto.

L'istologia del tessuto mammario è stato studiato in profondità. Quando la lattazione termina, nella ghiandola mammaria della bovina si osserva un minimo rimodellamento del tessuto (Capuco et al., 1997), e la fine della lattazione è associato ad una perdita parziale delle cellule epiteliali mediante apoptosi ed al dedifferenziamente delle rimanenti (Wilde et al., 1997). L'involuzione mammaria nella bovina non è così drammatica come nei roditori anche da un punto di vista funzionale. Infatti, è stato possibile ricominciare la secrezione lattea in quarti mammari non munti per 12 giorni con una produzione a livelli quasi di pretrattamento (Hamann e Reichmuth, 1990). Interruzioni della mungitura in tutti i quarti per tempi più lunghi hanno permesso recuperi produttivi parziali (Noble e Hurley, 1997).

Da confronti istologici ed ultrastrutturali, appare che l'involuzione mammaria avvenga

allo stesso modo, con ridotta perdita di cellule epiteliali e un minimo grado di distacco delle cellule dalla matrice extracellulare, sia in bovine gravide che non gravide (Holst et al., 1987). Da un punto di vista ultrastrutturale, l'epitelio in involuzione mostra una progressiva riduzione dell'integrità delle "tight junction", con una conseguente alterazione della composizione del latte durante l'asciutta (Athie et al., 1996). Gli organelli intimamente coinvolti nella sintesi delle proteine del latte (reticolo endoplasmatico rugoso e apparato di Golgi) degenerano durante l'involuzione ad incominciare da due giorni dopo la messa in asciutta indipendentemente dalla situazione riproduttiva (Holst et al., 1987).

Il grado di involuzione del tessuto mammario varia a seconda della sua localizzazione nella ghiandola, e sono state individuate tre distinte zone di involuzione nella ghiandola della bovina. La regione adiacente alla cisterna (zona 1) mostra il più elevato grado di rimodellamento e appare più sensibile agli stimoli che lo promuovono. La seconda zona, che si trova a mezza via tra la cisterna e la periferia della ghiandola, e la terza zona, che si trova ai margini del parenchima adiacente alla parete addominale, mostrano progressivamente un minore grado di involuzione e di proliferazione cellulare (Capuco et al., 1997).

CONTROLLO DEL TURN-OVER CELLULARE

Tipicamente, la bovina da latte è gravida per la maggior parte del ciclo di lattazione, e il rimodellamento tissutale negli animali gravidi può quindi dipendere dalle concentrazioni relative di progesterone, estrogeni ed ormoni mammotropici presenti prima e dopo la messa in asciutta.

In generale, il permanere del latte nella mammella è il principale stimolo per l'involuzione mammaria, ed il controllo locale della secrezione del latte avviene attraverso un meccanismo a "feed-back" che coinvolge un costituente del latte noto come FIL (feed-back inhibitor of lactation), che inibisce la secrezione dei costituenti del latte in modo reversibile e dipendente dalla sua concentrazione (Wilde et al., 1995). Tuttavia, rimane ancora da stabilire se il FIL sia o meno coinvolto nel determinare l'apoptosi delle cellule mammarie.

Apparentemente, la gravidanza contrasta la produzione di latte, la quale rimane elevata fino al 5 – 6° mese di gravidanza e quindi decresce (Bertilsson et al., 1997). Sembra probabile che gli steroidi sessuali siano coinvolti in questo meccanismo. Da molto tempo estrogeni e progesterone sono noti come ormoni mammotropici. La presenza dei recettori per gli estrogeni ed il coinvolgimento degli estrogeni nello sviluppo mammario della bovina sono stati ampiamente provati (Rotondi e Auricchio, 1978; Woodward et al., 1993). Al contrario, non esistono fino ad ora prove dell'esistenza di recettori per il progesterone nella ghiandola mammaria della bovina adulta. Uno studio condotto su tessuto mammario di bovine prepuberi ha suggerito che i recettori per il progesterone potrebbero essere presenti ma non inducono proliferazione cellulare. Woodward et al. (1993) hanno studiato l'effetto della somministrazione di estradiolo e progesterone endogeni sulla proliferazione di differenti tipi cellulari mammari (cellule epiteliali, fibroblasti, adipociti e cellule endoteliali) in manze prepuberi e non hanno trovato alcun effetto del progesterone somministrato da solo ed un effetto inibitorie del progesterone nelle cellule in proliferazione per effetto dell'estradiolo. Ci sono, infatti, molteplici indicazioni sulla differenza di risposta delle cellule mammarie a estrogeni e progesterone tra i ruminanti e i roditori (Stefanon et al., 2001).

La presenza di estrogeni e progesterone nel circolo ematico è probabilmente implicato nel controllo del rimodellamento tissutale tra due successive lattazioni, sebbene il meccanismo non sia del tutto chiarito. Gli estrogeni inducono la traduzione dell'attivatore del plasminogeno (tPA) in linee cellulari tumorali mammarie (Davies et al., 1995) e pertanto ci si potrebbe aspettare che sia in grado di promuovere il rimodellamento tissutale. In accordo con queste osservazioni, si è osservato che la somministrazione di estradiolo in bovine per

alcuni giorni prima della messa in asciutta ha accelerato l'involuzione mammaria, probabilmente promovendo l'attivazione del plasminogeno (Athie et al., 1997; Athie et al., 1996). Il ruolo del progesterone appare meno chiaro e se esso sia in grado di influenzare lo sviluppo mammario dovrebbe agire come fattore di sopravvivenza (Stefanon et al., 2001).

La ghiandola mammaria della bovina è anche una sede di metabolismo steroideo ed è probabile che questi meccanismi locali siano in grado di modulare il controllo endocrino dello sviluppo e della funzionalità mammaria (Peaker, 1991; Belvedere et al., 1996; Gabai et al., 1999).

Lo sviluppo dei dotti mammari è regolato principalmente dagli steroidi ovarici, tuttavia è richiesta la presenza di ormoni mammotropici (prolattina, lattogeno placentare, GH) e fattori di crescita per il completo sviluppo tubulo-alveolare (Tucker, 1987; Forsyth, 1991; Byatt et al., 1992). Nella bovina, il lattogeno placentare viene secreto principalmente nella circolazione fetale, quindi dubbio un suo ruolo determinante nella mammogenesi in questa specie (Tucker, 1987). Esistono comunque delle prove a favore di una sua azione mammotropica anche nella bovina (Byatt et al., 1992).

L'INIZIO DELLA LATTAZIONE

Il fattore più importante che contribuisce all'aumento della secrezione del latte nel corso dell'inizio lattazione è il massiccio differenziamento delle cellule secretorie che segue il parto (Knight et al., 1994). L'attività metabolica per cellula cresce fino a che viene raggiunto il picco di lattazione e quindi rimane costante (Knight e Wilde, 1993). Questo fenomeno è sotto controllo endocrino e la prolattina gioca un ruolo fondamentale, poiché risulta cruciale per l'espressione delle principali proteine del latte (Skarda et al., 1982).

La restrizione di apporto dei principi nutritivi alla ghiandola mammaria per lungo tempo condiziona seriamente l'attività secernente delle cellule mammarie (Davies e Collier, 1985). Le necessità di "combustibile metabolico" per le esigenze funzionali della ghiandola mammaria sono garantite dalle modificazioni dell'ambiente endocrino. Le variazioni endocrine e metaboliche che avvengono nel periparto e la conseguente ripartizione omeoretica dei principi nutritivi verso la ghiandola mammaria sono stati descritti esaurientemente nella bovina (Bell, 1995; Grummer, 1995). In ogni caso, la ripartizione omeoretica dei principi nutritivi spiega come viene supportata la produzione lattea, ma non spiega perché essa avvenga. In altre parole, la ghiandola mammaria è una passiva fruitrice dell'aumentata disponibilità di principi nutritivi?

L'ipotesi che la produzione del latte sia limitata dalla ridotta disponibilità di principi nutritivi, particolarmente al picco di lattazione, non è adeguatamente supportata sperimentalmente, poiché l'infusione di glucosio o aminoacidi essenziali direttamente nel circolo mammario non è stata in grado di incrementare la produzione di latte, e la limitazione dei substrati potrebbe avere un effetto indiretto, mediante la modulazione dell'ambiente endocrino (Knight et al., 1994).

Il più importante fattore in grado di stimolare la produzione di latte è senza dubbio il GH. Le concentrazioni plasmatiche di GH crescono durante la fase finale della gravidanza, con un marcato picco al parto e un decremento moderato nel corso del postpartum (Bell, 1995).

Il GH stimola la produzione di latte principalmente stimolando il flusso ematico mammario (Mammary Blood Flow: MBF) (Davies e Collier, 1985). È ancora un aspetto assai dibattuto se il GH intervenga sul MBF agendo localmente sulla ghiandola mammaria, magari attraverso il sistema IGF/IGFBP, oppure ad un livello distale.

Nella capra, l'infusione di IGF-I in una arteria mammaria è in grado di indurre un aumento del MBF nella ghiandola infusa, seguito talvolta da un aumento della produzione di latte. Entrambe le risposte sono confinate nella ghiandola infusa, indicando un'azione diret-

ta di IGF-I nella ghiandola mammaria. Al contrario, livelli elevati di IGF-I nel circolo sistemico non influenzano la produzione di latte (Knight et al., 1994; Prosser et al., 1996).

Recentemente, il recettore per il GH è stato localizzato sia nel parenchima che nello stroma e nell'endotelio della ghiandola mammaria della bovina (Sinowatz et al., 2000). Questi risultati nel loro complesso suggerirebbero un ruolo del GH sul controllo del MBF direttamente a livello mammario, anche se il meccanismo attraverso ciò accade non è stato spiegato.

L'aumento del MBF attraverso la ghiandola mammaria non è in grado da solo di spiegare l'aumento di produzione di latte. Un certo numero di studi hanno fallito di dimostrare una relazione molto stretta tra MBF e produzione di latte, portando alla ipotesi che i cambiamenti di MBF siano semplicemente una risposta ai cambiamenti dell'attività metabolica mammaria piuttosto che un meccanismo in grado di pilotare la sintesi del latte (Prosser et al., 1996). Comunque, bisogna considerare che nella maggior parte di questi studi è stato valutato solamente il MBF totale (attraverso i grossi vasi) mentre il flusso attraverso i capillari, che riflette la reale disponibilità di principi nutritivi, non è stato considerato.

Gli effetti metabolici del GH, che avvengono distalmente alla ghiandola mammaria, sono stati descritti in maniera esauriente. Brevemente, ricordiamo che il GH è in grado di potenziare la risposta massimale del tessuto adiposo all'epinefrina e ridurre la risposta periferica all'insulina (Sechen et al., 1990). Inoltre, si è osservato che il GH è in grado di regolare i trasportatori del glucosio nei tessuti muscolare ed adiposo (Zhao et al., 1996). Questi effetti combinati possono aumentare la disponibilità di principi nutritivi per la ghiandola mammaria.

Recentemente, una nuova attenzione è stata posta sulle relazioni tra GH e prolattina, e la visione un po' "demodee" che gli ormoni importanti per il mantenimento della secrezione lattea fossero il GH per i ruminanti e la prolattina per tutte le altre specie è argomento di nuove ed intense ricerche e sembra essere una eccessiva semplificazione (Flint e Knight, 1998).

Alcuni dati di Forsyth et al. (1995) suggeriscono che la ghiandola mammaria della capra sia sensibile a livelli molto ridotti di prolattina, e che la prolattina sia trasfertia attraverso l'epitelio mammario tramite legame con recettori presenti sulla membrana basolaterale dell'epitelio mammario. Se ciò fosse vero, si potrebbe supporre che al picco di lattazione i recettori della ghiandola siano saturati e una somministrazione di prolattina esogena non abbia alcun effetto. Al contrario, in tarda lattazione o in seguito a trattamento con bromocriptina, la ghiandola mammaria mostra una potenziata capacità di captare la prolattina circolante a basse concentrazioni e trasferirla nel latte attraverso l'epitelio mammario.

CONCLUSIONI

Il periodo di transizione è assai stressante e delicato per la bovina ma, nel sistema produttivo attuale, è importante per garantire un adeguato sviluppo della ghiandola mammaria. Fortunatamente, la lattazione è un fenomeno assai adattabile e con una completa comprensione dei meccanismi che controllano i fenomeni biologici che regolano l'attività della ghiandola mammaria tra due lattazioni sarà forse possibile sviluppare strategie produttive più "umane", in grado allo stesso tempo di mantenere un profitto accettabile per i produttori di latte.

RINGRAZIAMENTI

Sono particolarmente in debito con la Dott.ssa Monica Colitti ed il Prof. Bruno Stefanon (Università di Udine), il Prof. Luigi Gallo e il Dott. Martino Cassandro /Università di Padova), il Dott. Christopher H. Knight ed il Dott. Colin J. Wilde (Hannah Research Institue, GB) per la loro gentilezza nel fornire alcuni materiali e per le stimolanti discussioni.

BIBLIOGRAFIA

1) ATHIE F., BACHMAN K. C., HEAD K. K., HEYEN M. J., WILCOX C. J. (1996) *Estrogen administered at final milk removal accelerates involution of bovine mammary gland*. J. Dairy Sci. 79, 220-226.

2) ATHIE F., BACHMAN K. C., HEAD K. K., HEYEN M. J., WILCOX C. J. (1997) *Milk plasmin during bovine mammary involution that has been accelerated by estrogen*. J. Dairy Sci. 80, 1561-1568.

3) BELVEDERE P., GABAI G., DALLA VALLE L., ACCORSI P. A., TRIVOLETTI M., COLOMBO L., BONO G. (1996) *Occurence of steroidogenic enzymes in the bovine mammary gland at different functional states*. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 59, 339-347.

4) BELL A. W. (1995) *Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation*. J. Anim. Sci. 73, 2804-2819.

5) BERTILSSON J., BERGLUND B., RATNAYAKE G., SVENNERSTEN-SJAUNA K., WIKTORSSON H. (1997) *Optimising mactation cycles for the high-yielding dairy cow. A European perspective*. Livestock Prod. Sci. 50, 5-13.

6) BYATT J.C., WARREN W.C., EPPARD P.J., STATEN N.R., KRIVI, G.G., COLLIER R.J. (1992) *Ruminant placental lactogens: structure and biology*. J. Anim. Sci. 70, 2911-2923.

7) CAPUCO A. V., AKERS R. M. (1999) *Mammary involution in dairy animals. J. Mammary Gland* Biol. Neoplasia 4, 137-144.

8) CAPUCO A. V., AKERS R. M., SMITH J. J. (1997) *Mammary growth in Holstein cows during the dry period: quantification of nucleic acids and histology*. J. Dairy Sci. 80, 477-487.

9) CAPUCO A. V., BYATT J. C. (1998) *Cell turnover in the mammary gland*. J. Dairy Sci. 80, 477-487.

10) CASSANDRO M., GHIROLDI S., BAGNATO A., GALLO G., CARNIER P., SANTUS E. (1999) *Genetic evaluation of longevity in Italian Brown Cattle Breed*. Proc. Int. Workshop EU Concerted Action GIFT; longevity. Int. Bull Eval. Service 21 73-81.

11) COLITTI M., VENTURINI E., GABAI G., STRADAIOLI G., STEFANON B. (2001) *Apoptosi ed espressione delle proteine correlatenella ghiandola mammaria di manze durante la lattazione*. Atti LV Cong. Naz. S.I.S.Vet.: 39-40.

12) DAVIES S.R., COLLIER R.J. (1985) *Mammary blood flow and regulation of substrate supply for milk synthesis*. J. Dairy Sci. 68, 1041-1058.

13) DAVIES M. D., BUTLER W. B., BROOKS S. C. (1995) *Induction of tissue plasminogen activator mRNA. and activity by structurally-altered estrogens*. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 52, 421-430.

14) FLINT D. J., KNIGHT C. H. (1997) *Interactions of prolactin and growth hormone (GH) in the regulation of mammary gland function and epithelial cell survival*. J. Mammary Gland Biol. Neoplasia 2, 41-48.

15) FORSYTH I.A. (1991) *The mammary gland in: Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism* 5, 809-832.

16) FORSYTH I.A., TAYLOR J.A., GABAI G., FLEET I.R. (1995) *Blood prolactin concentrations affect prolactin transfer into goat milk: implication for maintenance of lactation*. J. Endocrinol. 146, 411-420.

17) GABAI G., MARINELLI L., SIMONTACCHI C., BONO G. (1999) *Plasma dehydroepiandrosterone, 5-androstene-3beta, 17beta-diol and 17beta-oestradil in the subcutaneous abdominal and jugular veins in dairy cattle during pregnancy*. SISVet Annual Meeting Abstracts 1 159.

18) GRUMMER R.R. (1995) *Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow*. J. Anim. Sci. 73, 2820-2833.

19) HAMANN J., REICHMUTH J., (1990) *Compensatory milk production within the bovine udder: effects of short-term non-milking of single quarters*. J. Dairy Res. 57, 17-22.

20) HOLST B. D., HURLEY W. L., NELSON D. R. (1987) *Involution of the bovine mammary gland: histological and structural changes*. J. Dairy Sci. 70, 935-942.

21) KEYS J.E., CAPUCO A.V., AKERS R.M., DJIANE J. (1989) *Comparative study of mammary gland development and differentiation between beef and dairy heifers*. Domestic Anim. Endocrinol. 6, 311-319.

22) KNIGHT C.H., WILDE C.J. (1993) *Mammary cell changes during pregnancy and lactation*. Livestock Prod. Sci. 35, 3-19.

23) KNIGHT C. H. (1998) *Extended lactation*. Hannah Research Institute Yearbook 1998, 30-39.

24) KNIGHT C. H. (2000) *The importance of cell division in udder development*. Livestock Prod. Sci. 66, 169-176.

25) KNIGHT C. H., FRANCE J., BEEVER D.E. (1994) *Nutrient metabolism and utilization in the mammary gland*. Livestock Prod. Sci. 39, 129-137.

26) National Research Council, Subcommitee on Dairy Cattle Nutrition (2001) *Nutrient requirements of dairy cattle*. National Academy Press, Washington DC, USA.

27) NOBLE M. S., HURLEY W. L. (1997) *Reinitiation of lactation function in the bovine mammary gland following a period of extended milk stasis*. J. Dairy Sci. 80 (Suppl. 1), P58.

28) PEAKER M. (1991) *Production of hormones by the mammary gland.* Endocrinol. Regulation 25, 10-13.

29) PROSSER C.G., DAVIS S.R., FARR V.C., LACASSE, P. (1996) *Regulation of blood flow in the mammary microvasculature*. J. Dairy Sci. 79, 1184-1197.

30) ROTONDI A., AURICCHIO F. (1978) *Oestrogen receptor of calf mammary gland*. Biochem. J. 178, 581-587.

31) SECHEN S.J., DUNSHEA F.F., BAUMAN D.E. (1990) *Somatotropin in lactating cows: effect on response to epinephrine and insulin*. Am.. J. Physiol. 258, E582-E588.

32) SKARDA J., URBANOVA E., HOUDEBINE L-M., DELOUIS C., BILEK J. (1982) *Effects of insulin, cortisol and prolactin on lipid, protein and casein synthesis in goat mammary tissue in organ culture*. Reprod. Nutr. Develop. 22, 379-386.

33) SINOWATZ F., SCHAMS D., KOLLE S., PLATH A., LINCOLN D., WATERS M.D. (2000) *Cellular localisation of GH receptor in the bovine mammary gland during mammogenesis, lactation and involution*. J. Endocrinol. 166, 503-510.

34) SORENSEN J. T., ENEVOLDSEN C. (1991) *Effect of dry period length on milk production in subsequent lactation*. J. Dairy Sci. 74, 1277-1283.

35) STEFANON B, COLITTI M., GABAI G., KNIGHT C.H., WILDE C.J. (2001) *Lactation persistency in dairy animals.* J. Dairy Res. 69, 37-52.

36) TUCKER H. A. (1987) *Quantitative estimate of mammary growth during various physiological states: a review*. J. Dairy Sci. 70, 1958- 1966.

37) WILDE C. J., ADDEY C. V. P., LI P., FERNIG D. G. (1997) *Programmed cell death in bovine mammary tissue during lactation and involution*. Exp. Physiol. 82, 943-953.

38) WOODWARD T.L., BEAL W. E., AKERS R.M. (1993) *Cell interactions in initiation of mammary epithelial proliferation by oestradiol and progesterone in prepubertal heifers*. J. Endocrinol. 136, 149-157.

39) ZHAO F-Q, MOSELEY W.M., TUCKER H.A., KEMMELLY J.J. (1996) *Regulation of glucose transporter gene expression in mammary gland, muscle and fat of lactating cows by administration of bovine growth hormone and bovine growth hormone releasing factor*. J. Anim. Sci. 74, 183-189.

LUIGI BONIZZI, MARIA LUISA MENANDRO,
DANIELA PASOTTO E STEFANIA LAUZI

TRANSITION COW: ANALISI DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA ASPECIFICA

TRANSITION COW: ANALYSIS OF NON-SPECIFIC IMMUNE RESPONSE

Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata e Igiene Veterinaria
Strada Romea 16, 35020 Agripolis-Legnaro (PD)
Autore referente: Luigi Bonizzi, tel. 049 8272968, fax 049 8272602
e-mail: luigi.bonizzi@unipd.it

RIASSUNTO

La risposta immunitaria è il risultato di una serie di complessi meccanismi, coinvolgenti popolazioni cellulari eterogenee e diversi loro prodotti solubili con il compito di mantenere l'integrità e l'individualità dell'organismo. Le difese immunitarie aspecifiche sono le più importanti per la sanità dell'animale e qualora se ne riduca l'efficienza l'animale diviene maggiormente suscettibile alle infezioni. I fenomeni immunitari che avvengono durante la gravidanza e gli scambi fra la madre e il figlio costituiscono un caso unico nella fisiologia della risposta immunitaria ed inoltre le modificazioni ormonali che caratterizzano il periparto e la lattazione contribuiscono a sbilanciare tale risposta. Pertanto il periodo di transizione costituisce un periodo fisiologico impegnativo nella vacca da latte che si può tradurre, se non adeguatamente gestito, in un deficit immunitario la cui intensità e durata dipendono da molti fattori.

Molto importanti sono, nella prevenzione delle situazioni di deficit immunitario, i sistemi di difesa aspecifici. In questo lavoro abbiamo individuato una serie di test in grado di fornire indicazioni circa l'efficienza del sistema immunitario del bovino, dal punto di vista dell'immunità aspecifica durante il periodo di transizione, al fine di evidenziare stati di immunodepressione correlati a una non corretta gestione della gravidanza del bovino. A tale proposito precedentemente abbiamo dimostrato come durante il periodo di transizione parametri immunitari quali il lisozima, la battericidia sierica, e il complemento subiscano una riduzione sia nel bovino, sia nelle pecore, ma che tale riduzione può essere parzialmente riequilibrata mediante utilizzo di diete appropriate e l'utilizzo di efficaci trattamenti mirati.

Parole chiave

periparto, immunità aspecifica, bovina da latte, periodo di transizione

SUMMARY

The immune system consists of cells and their products, whose prime function is the protection of the host against pathogens and it can also acts as an accommodation device to facilitate the development of relatively peaceful associations with foreign organisms which, in some instances and especially in ruminants, could be or could become symbiotic. **The immune system during pregnancy** and the exchange of immunity from mother to newborn are unique events in immunological physiology. The peripartum hormonal changes contribute to impaired immune function. The physical and metabolic stresses of pregnancy, calving and lactation contribute to the decrease of host resistance and the subsequent increase in disease incidence. Pregnancy and peripartum period result in nonspecific immunosuppression of the dairy cow. The magnitude and timing of this reduction depend on many factors such as not adequate hygienic and sanitary management, not appropriate feed and housing and genetic differences. In this paper we deal with the evaluation of some parameters of non-specific immunity in dairy cattle in order to depict important features of the immune reactivity during

the transition period and to make possible a preventive treatment. Lysozime concentration, serum bactericidal activity, serum proteins elettrophoretic profile, aptoglobin and complement with further analysis of non specific cellular immunological parameters could determine the effects of pregnancy, parturition and lactation on non-specific immune response especially during the peripartum period and may suggest the presence of not adequate hygienic and sanitary condition of the herd and/or not appropriate feed and management approach.

Key words

peripartum; non-specific immune response, dairy cow, transition period

Il sistema immunitario di tutti i vertebrati, fra i quali il bovino, presenta una complessa organizzazione, essendo costituito da tipi cellulari diversi, che hanno il compito di proteggere l'organismo da qualsiasi sostanza estranea, mantenendo così l'integrità e l'individualità dell'organismo stesso. Sebbene l'immunologia sia nata inizialmente come studio delle difese nei confronti dei processi infettivi, è stato successivamente chiarito che le reazioni immunologiche non sono necessariamente innescate da una infezione, ma sono più generalmente dirette al mantenimento della integrità e identità dell'organismo rispetto a quelle influenze interne ed esterne che tenderebbero a modificarle (11, 14, 17).

La risposta immunitaria è il risultato di una serie di complessi meccanismi, coinvolgenti popolazioni cellulari eterogenee e diversi loro prodotti solubili, responsabili dell'immunità umorale e dell'immunità cellulo-mediata, che esitano nella rimozione o nella distruzione di antigeni estranei all'organismo. Accanto a questa esiste, però, la cosiddetta **«immunità aspecifica» o «naturale»**, cioè meccanismi di difesa che hanno un ruolo altrettanto importante soprattutto nella difesa dalle infezioni, ma che non presuppongono un riconoscimento specifico di un antigene. Anche in questo caso intervengono cellule e prodotti solubili (11, 14, 17).

I primi meccanismi di difesa sono costituiti dalle barriere fisico-chimiche, da elementi cellulari deputati alla distruzione degli aggressori e da fattori umorali; questi meccanismi difensivi vengono definiti costituzionali innati, non specifici, in quanto non sono rivolti verso un tipo di sostanza estranea. Nel caso l'agente patogeno aggressore riesca a superare queste prime difese, si attivano meccanismi di "secondo intervento" adottivi e altamente specifici. Questi ultimi sono cioè rivolti verso lo specifico agente estraneo (es. batterio o virus), che ha dimostrato la sua aggressività riuscendo a superare le prime difese non specifiche; è proprio questo evento che innesca la reattività immunitaria, per questo definita adottiva.

Le barriere fisiche costituite dalla cute e dalle mucose rappresentano un ostacolo che non consente la penetrazione dei patogeni. I fattori umorali sono costituiti principalmente dalle proteine del sistema complemento, da alcuni enzimi quali il lisozima, dall'interferone e dalle proteine di fase acuta quali l'aptoglobina; tali fattori oltre a contribuire all'eliminazione dei patogeni sono in grado di svolgere attività chemiotattica nel sito di penetrazione dell'agente estraneo. Inoltre nel bovino vi sono le conglutinine, altre specifiche e caratteristiche proteine ad attività antibatterica presenti nel plasma. Queste proteine hanno dei siti di legame specifici per la componente C3b del complemento e quindi opsonizzano le componenti cellulari cui è legato il complemento facilitandone la fagocitosi. La maggior parte di queste proteine svolge una efficace attività antibatterica (10, 11, 14, 17).

Le cellule ad attività fagocitaria, associate alle cellule cosiddette natural killer, rappresentano la componente cellulare della risposta immunitaria aspecifica. Queste cellule vengono richiamate da stimoli chemiotattici nel sito di infezione e una volta attivate distruggono ed eliminano gli agenti patogeni.

Le difese immunitarie aspecifiche sono le più importanti per la sanità dell'animale e qualora se ne riduca l'efficienza l'animale diviene maggiormente suscettibile alle infezioni.

Il sistema immunitario durante la gravidanza

I fenomeni immunitari che avvengono durante la gravidanza e gli scambi immunitari fra la madre e il figlio costituiscono un caso unico nella fisiologia della risposta immunitaria. L'impianto nell'utero del feto è tollerato dal sistema immunitario della madre e il successo nella riproduzione richiede che fra la madre e il feto non avvenga il rigetto. Tale effetto si ottiene attraverso la produzione di sostanze immunodepressive, quali le fetoproteine da parte del feto e da ormoni steroidei quale il progesterone da parte della placenta. Inoltre le modificazioni ormonali che caratterizzano il periparto e la lattazione contribuiscono a sbilanciare la risposta immunitaria. Pertanto lo stress fisiologico della gravidanza, del parto e dell'inizio della lattazione costituiscono un periodo di riduzione delle difese immunitarie e di maggiore suscettibilità alle infezioni (7, 13, 23, 24).

La gravidanza e in particolare il periparto costituiscono un periodo fisiologico impegnativo nella vacca da latte che si può tradurre, se non adeguatamente gestito, in un deficit immunitario la cui intensità e durata dipendono da molti fattori, fra i quali: condizioni igienico sanitarie dell'allevamento non adeguate, errori alimentari e di gestione zootecnica e da ultimo anche le caratteristiche genetiche dell'animale. Il periodo più critico è rappresentato dal cosiddetto periodo di transizione, 3 settimane prima e 3 settimane dopo il parto, che, soprattutto nella vacca da latte, se non correttamente gestito può comprometterne il successivo periodo produttivo e riproduttivo. La bovina da latte ad alta produzione necessita di un periodo di transizione il più efficiente possibile sia sul piano sanitario sia immunitario.

Molto importanti sono, nella prevenzione delle situazioni di deficit immunitario, i sistemi di difesa aspecifici (quelli cioè legati al complemento, al lisozima e all'interferone), proprio perchè diretti contro germi scarsamente immunogeni e che, oltretutto, in situazioni normali sono spesso dei commensali. Inoltre, i parametri immunitari aspecifici sembrano essere ben correlati ad altri indici di efficienza immunitaria (6, 7, 9, 13, 19, 21, 23, 24).

In questo lavoro abbiamo studiato una serie di test in grado di fornire indicazioni circa l'efficienza del sistema immunitario del bovino, dal punto di vista dell'immunità aspecifica durante il periodo di transizione, al fine di individuare stati di immunodepressione correlati a una non corretta gestione della gravidanza del bovino.

Titolazione del lisozima sierico

Si è già accennato al fatto che si tratta di un enzima ad attività idrolasica, che ha come substrato, tra gli altri, il muramilpeptide della parete batterica dei gram positivi. Viene prodotto principalmente dalle cellule della linea monocita-macrofagica e parzialmente dai granulociti (escluso il bovino), dove rimane a far parte del bagaglio enzimatico e in parte viene secreto nei vari liquidi organici (sangue, lacrime, saliva, muco). L'importanza del lisozima, soprattutto nei ruminanti, è dovuta al fatto che contribuisce al controllo delle popolazioni batteriche saprofite. La sua attività antibatterica è esplicata in collaborazione con le IgAs ed è indice di reattività aspecifica e di buon funzionamento della linea monocitaria. La sua titolazione può essere effettuata secondo la metodica originale di Osserman e Lawlor (16) evidenziandone l'attività in piastra verso il *Micrococcus lysodeikticus* incubato a 37 °C per 18 ore. Il range di normalità nel siero, secondo quanto riportato in letteratura per bovini di razza frisona adulti è di 1-3 mg/ml (2, 3).

Titolazione del complemento

Il complemento è implicato in svariati settori del sistema immunitario, in quanto può interagire sia con l'immunità cellulare che con quella umorale, ed è fondamentale per la lisi

di cellule estranee, di cellule autologhe infette o di cellule batteriche ed inoltre è coinvolto nell'attivazione del processo infiammatorio.

La sua quantificazione è facilmente ottenibile mediante test di emolisi, in presenza di anticorpi specifici secondo la metodica proposta da Seyfarth (20) utilizzando eritrociti di coniglio sensibilizzati con anticorpi di pecora. Il test può essere effettuato in micrometodo e i range di normalità per il bovino adulto riportati sono > 30 UE CH 50/150 ml (2, 3).

Test di battericidia sierica

L'esposizione di molti ceppi di batteri Gram-negativi al siero, sia umano sia animale, esita nella uccisione, e qualche volta nella lisi, di una certa percentuale dei germi. Si tratta di un fenomeno complesso, dovuto all'azione di più fattori contenuti nel siero bovino, la maggior parte dei quali è contenuta nei granuli dei polimorfonucleati neutrofili, e che risultano differenti rispetto a quelli rilevati in altre specie animale. La maggior parte di questi peptidi sono attivi nei confronti di particolari batteri, in particolare per le Enterobatteriacee, e costituiscono le più importanti difese aspecifiche del bovino. La battericidia nel bovino può essere rilevata seguendo la metodica di Dorn et al. (8) utilizzando come microrganismo target il ceppo di *E. coli* O119 Weybridge in fase S. I valori normali nel bovino adulto sono > 90% (2, 3).

La risposta di fase acuta è la conseguenza fisiologica ad una lesione tissutale o a una infezione e si realizza rapidamente dopo l'evento e induce un gran numero di modificazioni quali l'aumento della temperatura corporea, l'attivazione della risposta immunitaria e in alcuni casi immunodepressione.

La risposta di fase acuta nel bovino è attivata da alcune citochine quali IL1, IL6 e TNF e coinvolge molte proteine plasmatiche, le più importanti delle quali sono l'aptoglobina, la ferritina e la ceruloplasmina. La proteina C-reattiva invece non risulta essere coinvolta nella risposta di fase acuta nel bovino. L'aptoglobina si lega all'emoglobina che si libera dalle emazie fisiologicamente distrutte per veicolarla ai distretti del sistema reticolo-endoteliale dove viene decomposta. L'aptoglobina può essere misurata con il test colorimetrico basato sull'attività perossidasica svolta dal complesso aptoglobina-emoglobina in ambiente acido. I valori normali riportati per il bovino adulto sono < 10 mg/dl HbBC (capacità di legare emoglobina) (12, 15, 22).

Il protidogramma o elettroforesi delle sieroproteine fornisce una stima quali-quantitativa delle principali proteine del siero e può fornire una indicazione sul funzionamento di alcuni organi, molti dei quali sono coinvolti nella risposta immunitaria. In letteratura sono descritti protidogrammi di normalità per il bovino relativi ai diversi comparti produttivi e di età. Il protidogramma prevede la separazione delle proteine sieriche in base alla loro differente mobilità elettroforetica (2, 3).

Le cellule coinvolte nella risposta immunitaria non specifica del bovino sono principalmente le cellule ad attività fagocitaria la cui funzionalità può essere valutata con la metodica riportata da Zecconi et al. (25, 26) in cui l'attività fagocitaria viene rilevata mediante il test di chemiluminescenza luminolo indotta che si avvale dell'emissione di fotoni da parte del luminolo allorquando interagisce con i prodotti ossidanti delle reazioni ossidoriduttive che si svolgono durante il processo fagocitario ed aventi origine dalla mieloperossidasi contenuta nei granuli primari dei leucociti.

Inoltre per evidenziare deficit dell'immunità aspecifica, per esempio durante il periparto, può essere importante il rilievo delle variazioni quantitative nelle diverse sottopopolazioni linfocitarie mediante citometria a flusso.

La non perfetta funzionalità immunitaria condiziona l'insorgenza di eventi patologici e aumenta il rischio di malattie infettive e neoplastiche. La disponibilità di test in grado di evidenziare un deficit nella risposta immunitaria aspecifica in particolari momenti produttivi e

riproduttivi della bovina da latte può consentire di rivelare errori gestionali di diversa natura e ciò riveste particolare importanza soprattutto nel periodo di transizione. In letteratura sono stati proposti e utilizzati i test da noi descritti per rilevare la risposta immunitaria aspecifica nel bovino e per adottare gli interventi mirati (4, 6, 7, 13, 18, 19, 21, 26). A tale proposito precedentemente abbiamo dimostrato come durante il periodo di transizione parametri immunitari quali il lisozima, la battericidia sierica, e il complemento subiscano una riduzione sia nel bovino, sia nelle pecore, ma che tale riduzione può essere parzialmente riequilibrata mediante utilizzo di diete appropriate e l'utilizzo di efficaci trattamenti mirati (1, 5).

BIBLIOGRAFIA

1) AGAZZI A. et al. (2001) *Plant extracts to transition cow: effects on production, reproduction, metabolism and immune response*. XIV ASPA Meeting, p. 234-6.

2) AMADORI M. et al. (1997) *An immunological approach to the evaluation of welfare in Holstein Frisian cattle*. Zentralbl Veterinarmed [B] 44(6):321-7.

3) ARCHETTI I.L. et al. (1996) *Determinazioni chimico-cliniche a carattere predittivo su bovini di razza frisona*. XLIV Congresso SISVET, p. 317-8.

4) BONIZZI L. et al. (1989) *Characterization of some parameters of non-specific immunity in dairy cattle* (I). J. Vet. Med. [B] 36: 365-73.

5) CAPELLI G. et al. (2001) *Hormones and immunity in the endoparasite periparturient rise of sheep*. 18th International Conference of World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology, (10) p. 31.

6) CHASE L.E. (1996) *Management of transition cow*. Penn Annual Conference 1996.

7) DETILLEUX J.C. et al. (1995) *Study of immunological dysfunction in periparturient Holstein cattle selected for high and average milk production*. Vet Immunol. Immunopathol. 44: 251-67.

8) DORN W. et al. (1980) *Untersuchungen zur serumbakterizidie beim kalb*. Arch. Exper. Vet. Med. 34: 635-50.

9) DRACKLEY J.K. (1999) *Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier?* J. Dairy Sci. 82 (11): 2259-73.

10) GOODEERIS B. et al. (1996). *Immunology of cattle*. In Ed. Pastoret PP. et al. Handbook of Vertebrate Immunology. Academic Press Limited, p. 439-71.

11) HALLIWELL R.E.W AND GORMAN N.T. (1989). *Veterinary Clinical Immunology*. W.B. Saunders Company Philadelphia.

12) MAKIMURA S. et al. (1982) *Quantitative determination of bovine serum haptoglobin and its elevation in some inflammatory diseases*. Nippon Juigaku Zasshi. 44(1): 15-21.

13) MALLARD B.A. et al. (1998) *Alteration in immune responsiveness during the peripartum period and its ramification on dairy cow and calf health*. J. Dairy Sci. 81 (2): 585-95.

14) MORRISON W.I. (1986) *The ruminant immune system in health and disease*. University Press Cambridge.

15) MURATA H. et al. (1993) *Bovine haptoglobin as a possible immunomodulator in the sera of transported calves*. Br. Vet. J. 149: 277-83.

16) OSSERMAN E.F. and D.P. LAWLOR (1966) *Serum and urinaryin monocytic and monomyelocytic leukemia*. J. Exp. Med. 124: 921-52.

17) POLI G., COCILOVO A. (1996). *Microbiologia e Immunologia Veterinaria*. UTET.

18) PONTI W. et al. (1989) *Characterization of some parameters of non-specific immunity in beef cattle* (II). J. Vet. Med. [B] 36: 402-9.

19) ROCHE J.F. et al. (2000) *Reproductive management of postpartum cows*. Anim. Reprod. Sci. (2) 60-61: 703-712.

20) SEYFARTH M. (1976) In «Immunologische Arbeitsmethoden». (H. Friemel Ed.) VEB Gustav Fisher Verlag, Jena, p. 145-8.

21) SHAFER-WEAVER et al. (1996) *Diminished mammary gland lymphocyte functions parallel shifts in trafficking patterns during postpartum period*. Proc. Soc. Exp. Bio. Med. 212: 271-9.

22) SKINNER J.G. (1991) *Bovine haptoglobin response in clinically defined field conditions*. Vet. Rec. 128(7): 147-9.

23) VANKAMPEN C., MALLARD B.A. (1997) *Effects of peripartum stress and health on circulating bovine lymphocyte subsets*. Vet. Immunol. Immunopathol. 59: 79-91.

24) WETTEMAN R.P., (1980) *Postpartum endocrine function of cattle sheep and swine*. J. Anim. Sci. 51, (suppl. 2): 2-11.

25) Zecconi A. (1987) Osservazioni sull'attività fagocitaria dei polimorfonucleati neutrofili nel latte valutata mediante luminescenza. XLV Congresso SISVET, p. 1008-10.

26) Zecconi A. et al. (1988) Blood and milk immunological parameters evaluated in dairy cattle. XV World Buiatrics Congress -Palma de Mallorca, p. 185-90.

SAVOINI G.*, AGAZZI A.,

TRANSITION COW: PROFILASSI NUTRIZIONALE

TRANSITION COW: NUTRITIONAL PROPHYLAXIS

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Veterinarie per la Sicurezza Alimentare
*Dipartimento di Scienze e Tecnologie Veterinarie per la Sicurezza Alimentare
via Celoria 10, 20133 Milano - Tel. 0250317907 - Fax. 0250317901
e-mail: savoini@mailserver.unimi.it

RIASSUNTO

Il periodo di transizione della bovina da latte è caratterizzato da elevate richieste energetiche e molteplici fattori sono in grado di compromettere la salute e le performance produttive.

Al fine di prevenire disfunzioni metaboliche nei giorni successivi al parto ed aumentare la produzione e la qualità del latte possono essere attuate alcune strategie nutrizionali di ordine profilattico.

Esiste una grande varietà di additivi nutrizionali le cui potenzialità ne rendono interessante l'impiego in periodi di elevato stress.

La somministrazione di additivi di origine naturale quali estratti vegetali, precursori del glucosio, probiotici, enzimi, colina e vitamina E nel periodo di transizione, può rappresentare un valido mezzo per la prevenzione delle dismetabolie postpartum, migliorando al contempo le performance produttive e riproduttive della bovina da latte.

Parole chiave

Bovina in transizione, Fitoderivati, Precursori del glucosio, Probiotici, Colina, Vitamina E.

SUMMARY

Transition period in dairy cows is influenced by high energy demands an several factors can decrease health and productive performances.

Prophylactic nutritional strategies can be adopted in order to prevent metabolic diseases in particular stress moments such as early post partum, and improve milk yield and milk components.

The administration of plant extracts, glucose precursors, probiotics, enzymes, Choline and vitamin E have shown to be a good preventing tool of metabolic diseases in early postpartum, improving in the same time productive performances.

Key words

Transition Cow, Plant extracts, Glucose precursors, Probiotics, Choline, Vitamin E.

INTRODUZIONE

Essendo un momento di forti richieste energetiche, il periodo di transizione può essere influenzato da svariati fattori che possono compromettere la salute, la produttività e le performance produttive della vacca da latte.

Al fine di prevenire disfunzioni metaboliche in condizioni di particolare stress come nell'immediato post-partum ed aumentare la produzione lattea possono venir attuate alcune strategie nutrizionali.

Esiste una grande varietà di additivi nutrizionali le cui potenzialità ne rendono interessante l'impiego nelle settimane antecedenti e seguenti il parto.

ADDITIVI

Durante il periodo di transizione è raccomandabile l'uso di diversi additivi.

Questo lavoro si focalizzerà su delle prove sperimentali eseguite dal nostro dipartimento inerenti all'uso di estratti vegetali, precursori del glucosio, probiotici, enzimi, colina e vitamina E. Questi additivi, insieme ad altri quali tamponi, sali anionici, niacina etc., possono favorire la produzione di latte ed il benessere dell'animale; potendo inoltre prevenire o ridurre l'incidenza dei disordini metabolici tipici nell'immediato postpartum.

Estratti vegetali

Piante ad azione immunomodulante possono migliorare il sistema immunitario animale in momenti particolarmente stressanti come il parto, riducendo gli eventi infiammatori grazie ai loro principi attivi (3).

Tedesco et al. (17) riportano una maggior produzione ed un incremento del tenore proteico del latte in vacche a cui sono stati somministrati 10 g/d di estratto di *Silybum marianum* durante il periparto, mentre Agazzi et al. (1) non hanno riscontrato effetti significativi riguardo i parametri produttivi, sebbene abbiano evidenziato una riduzione dell'intervallo parto-concepimento in bovine in transizione alimentate con estratti vegetali.

Enzimi

La somministrazione di enzimi esogeni può rappresentare un importante fattore di crescita per i microrganismi ruminali favorendo la digestione della fibra attraverso una facilitata colonizzazione delle particelle fibrose e una maggiore attività degli enzimi endogeni del rumine.

Yang et al. (19) hanno riscontrato effetti positivi sulla produzione lattea con l'introduzione di una miscela di cellulasi e xilanasi nella miscelata.

Sgoifo Rossi et al. (16) hanno dimostrato che la somministrazione di 30 g/d di enzimi fibrolitici a partire dai 6d prima ai 30d dopo il parto hanno significatamente influenzato la produzione lattea ed i parametri riproduttivi: questo può essere attribuito ad un miglioramento della digestione e dell'assorbimento di nutrienti in accordo con quanto riportato da Rode et al. (14).

Precursori del glucosio e probiotici

Nelle immediate settimane post-partum della bovina da latte l'assunzione energetica non è sufficiente a soddisfare le richieste per il mantenimento e per la produzione lattea. In tali frangenti può risultare utile la somministrazione di precursori del glucosio quali glicole propilenico, glicerolo e probiotici al fine di ridurre il bilancio energetico negativo della bovina in transizione.

Dell'Orto et al. (5) hanno osservato che la somministrazione di precursori del glucosio e di *Saccharomyces cervisiae* alle bovine in transizione ha portato ad un aumento della produzione di latte ($p<0.01$) senza alcun effetto negativo su NEFA, BHBA e sulla concentrazione plasmatica di glucosio.

Durante il periodo di transizione è di fondamentale importanza evitare una eccessiva dimi-

nuzione di ingestione di SS, questo obiettivo può essere raggiunto usando appropriate strategie nutrizionali quali la somministrazione di colture di lieviti. Dann et al. (4) hanno dimostrato un aumento dell'ingestione di SS durante gli ultimi 7d di gestazione e i primi 42 giorni di lattazione in bovine da latte la cui dieta era stata integrata con *Saccharomyces cerevisiae.*

I lattobacilli hanno dimostrato di possedere benefici effetti sulla popolazione microbica intestinale grazie alla loro azione antagonista verso i batteri patogeni (18).

Savoini et al. (15) hanno osservato un significativo aumento dei livelli plasmatici di glucosio ed un abbassamento dei livelli di NEFA al 4° giorno post-partum dopo una somministrazione di 15 g/d di lattobacilli (*L. plantatum, L. acidophilus, L. casei, E. faecium*) durante il periparto.

Queste osservazioni sono in accordo con i risultati ottenuti da McGillard e Stalling (10), i quali riportano effetti positivi nell'uso dei lattobacilli sulla produzione di latte ed il contenuto di grasso e proteine, non evidenziando effetti significativi sul contenuto di cellule somatiche del latte.

Vitamine

La colina può essere considerata come un fattore limitante nella bovina in lattazione (6), infatti un'elevata disponibilità di tale elemento potrebbe influenzare la produzione di latte sopperendo alle richieste di gruppi metilici da parte della bovina.

Pinotti et al. (12) hanno dimostrato un significativo ($p<0.05$) aumento della produzione di latte, minori livelli plasmatici di NEFA ed un aumento dei livelli plasmatici di α-tocopherolo in bovine in transizione a cui sono stati somministrati 20g/d di colina protetta: i bassi livelli di NEFA, associati ad una riduzione dell'attività delle γ-GT possono migliorare il metabolismo lipidico e diminuire i danni epatici.

I benefici della somministrazione di colina dipendono dalla degradabilità ruminale della proteina dietetica; infatti bovine in transizione alimentate con una razione contenente 12 g/d di colina rumino protetta e basso RUP durante il post-partum, hanno significativamente aumentato la produzione di latte durante i primi 56 giorni dopo il parto rispetto a bovine alimentate con una razione contenente 12 g/d di colina rumino protetta, ma con alto RUP (9).

La somministrazione di vitamina E durante il periparto è in grado di aumentare la risposta immunitaria (13), inoltre, come antiossidante, preserva l'integrità delle membrane dei globuli di grasso, riducendo il tasso di ossidazione lipidica spontanea del latte (11).

Baldi et al. (2) hanno dimostrato un incremento dei livelli di α-tocoferolo nel plasma e nel latte con la somministrazione di 2000 UI di vitamina E in bovine durante il periparto, ed una diminuzione del contenuto di cellule somatiche. Sono stati inoltre osservati un minor numero di inseminazioni ed un minor intervallo parto-concepimento; mentre l'incidenza di ritenzioni placentari è leggermente diminuita.

CONCLUSIONI

In aggiunta ad un appropriato management nutrizionale, la somministrazione di alcuni additivi quali estratti vegetali, enzimi, precursori del glucosio, colina e vitamina E a bovine in transizione può essere utile nel migliorare l'utilizzazione e la disponibilità dei nutrienti con un conseguente aumento della produzione lattea, del contenuto proteico e lipidico del latte ed una concomitante riduzione del contenuto di cellule somatiche.

Gli additivi menzionati possono anche migliorare lo status sanitario della bovina nel periparto, comportando una riduzione delle dismetabolie tipiche del postpartum e migliorandone le performance riproduttive.

BIBLIOGRAFIA

1) AGAZZI A., PARATTE R., MANCIN G., BONIZZI L., PASOTTO D., SAVOINI G. (2001) *Plant extracts to transition cow: effects on production, reproduction, metabolism and immune response* in: "Recent progress in animal production science. 2. Procededings of the A.S.P.A. XIV Congress, Firenze, 12-15 giugno 2001". 234-236.

2) BALDI A., SAVOINI G., PINOTTI L., MONFARDINI E., CHELI F., DELL'ORTO V. (2000) *Effects of vitamin E and different energy sources on vitamin E status, milk quality and reproduction in transition cow*. J. Vet. Med., 47: 599-608.

3) CRAIG W. J. (1999) *Health-promoting properties of common herbs*. Am. J. Clin. Nutr., 70 (suppl): 491s-499s.

4) DANN H. M., DRACLEY J. K., MCCOY G. C., HUTJENS M. F., GARRETT J. E. (2000) *Effects of yeats colture (Saccharomyces cerevisiae) on prepartum intake and postpartum intake and mik production of Jersey cows*. J. Dairy Sci., 83:123-127.

5) DELL'ORTO V., AGAZZI A., MANCIN G., SAVOINI G. (2000) *Transition cow: administration of glucose precursors and probiotics*. ASAS/ADSA Join Meeting, Baltimora, 253.

6) DEUCHLER K. N., PIPEROVA L. S., ERDMAN R. (19998) *Milk choline secretion as an indirect indicator of postruminal choline supply*. J. Dairy Sci. 81:238-242.

7) DRAKLEY J. K. (1998) *Transitional period nutrition management examined*. Feedstuffs, 08/02/1998.

8) HOWIE M. (1996) *Proper transition management can boost performance of dairy cow*. Feedstuffs, 09/09/1996.

9) HARTWELL J. R., CECAVA M. J., DONKIN S.S. (2000) *Impact of dietary rumen undegradable protein and rumen protected choline on intake, peripartum liver triacylglyceride, plasma metabolites and milk production in transition cow*. J. Dairy Sci. 83: 2907.

10) MCGILLARD M. L., STALLING C. C. (1998) *Increase in milk yield of commercial dairy herds fed a microbial and enzyme supplement*. J. Dairy Sci. 81:1353-1357.

11) NICHOLSON J. W. G., ST-LAURENT A. M., MCQUEEN R. E., CHARMLEY E. (1991) *The effect of feeding organically bound selenium and α-tocopherol to dairy cows on susceptibility of milk oxidation*. Can. J. Anim., 71: 135-143.

12) PINOTTI L., FUSI E., PERI V., CHELI F., BALDI A. (2000) *Effetto dell'impiego di colina rumino protetta sul metabolismo lipidico nella bovina da latte nel periparto*. Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie, vol 54; 469-470.

13) POLITIS I., HIDIRIGLOU M., BATRA T. R., GLIMORE J. A., GOREWIT R. C., SHERF H. (1995) *Effects of vitamin E on immune function of dairy cow*. Am. J. Vet. Res. 56: 179-184.

14) RODE L. M., YANG W. Z., BEAUCHEMIN K. A. (1999) *Fibrolitic enzyme supplements for dairy cows in early lactation*. J. Dairy Sci. 82: 2121-2126.

15) SAVOINI G., MANCIN G., SGOIFO ROSSI C., GRITTINI A., BALDI A., DELL'ORTO V. (2000) *Somministrazione di lattobacilli a bovine in transizione: effetti sui livelli ematici di glucosio, NEFA, β-idrossibutirrato e sulla produzione di latte*. ODV 01: 65-70.

16) SGOIFO ROSSI C. A., SAVOINI G., BERNUZZI R., AGAZZI A., MANCIN G., DELL'ORTO V. (2000) *Periparturient cows proposer on fibrolytic enzymes*. Feed Mix Special 11: 35-37.

17) TEDESCO D., TAVA A., VARISCO G., COSTA A. (2001) *Silymarin, a natural hepatoprotector: effects on periparturient dairy cows. in: "Recent progress in animal production science*. 2. Procededings of the A.S.P.A. XIV Congress, Firenze, 12-15 giugno 2001", 255-257.

18) TODD R. K. (1998) *Functional activities of Lactobacillus probiotics: genetic mandate*. Dairy Journal, 8: 497-505.

19) YANG W. Z., BEAUCHEMIN K. A., RODE L. M. (2000) *A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets*. J. Dairy Sci., 83:2512-2520.

FORMIGONI ANDREA[1] E TREVISI ERMINIO[2]

TRANSITION COW: INTERAZIONI CON L'ATTIVITÀ RIPRODUTTIVA

TRANSITION COW: INTERACTION WITH FERTILITY

[1] Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Facoltà Medicina Veterinaria, Università di Teramo, P.zza A. Moro, 64100 Teramo; e-mail: formigoni@unite.it
[2] Istituto di Zootecnica, Facoltà di Agraria, U.C.S.C., Via Emilia Parmense, 84 – 29100 Piacenza. Tel. 0523/599278; fax 0523/599276; e-mail: erminio.trevisi@unicatt.it

RIASSUNTO

Il progressivo peggioramento degli indici di fertilità osservato negli ultimi decenni negli allevamenti di bovine da latte è riconducibile a fattori genetici, alimentari e gestionali e non solo all'aumentata produzione di latte. L'entità e la durata del deficit energetico nel periodo di transizione sono inversamente correlati agli indici riproduttivi (i tassi di concepimento sono inferiori al 30% quando il BCS cala di oltre un'unità). Il grave deficit energetico infatti riduce o sopprime: la secrezione pulsatile di gonadotropine (da cui ipofunzionalità ovarica e follicoli più piccoli); i livelli circolanti di IGF-1 ed insulina (da cui minore capacità ovulatoria ed una maggiore mortalità embrionale); la produzione di progesterone degli eventuali corpi lutei (da cui maggior frequenza di aborti embrionali). L'alimentazione influenza la fertilità attraverso molteplici aspetti. Oltre alla carenza di energia, anche l'eccesso di fonti azotate degradabili nel rumine condizionano negativamente la funzionalità dell'apparato riproduttore; mentre altri nutrienti - come alcuni acidi grassi poliinsaturi e taluni aminoacidi - paiono mostrare effetti positivi sulla fertilità. E' stata sottolineata infine, la stretta relazione tra stato di salute, spesso compromesso nel periodo di transizione, ed efficienza riproduttiva. In particolare la liberazione di citochine sarebbe la causa diretta ed indiretta (prevalentemente condizionando l'assetto metabolico del fegato) del malfunzionamento dell'apparato riproduttore. Per una precoce ripresa dell'attività riproduttiva è pertanto indispensabile che nel periparto si adottino strategie alimentari e gestionali atte a prevenire qualsiasi patologia.

Parole chiave

periodo di transizione, fertilità, alimentazione, bovina da latte

SUMMARY

In the last years it is observed a progressive worsening of fertility indices in the dairy cow herds. Several factors (genetic, dietary and management) seems to be related to poor fertility, more than milk yield level. The extent and the length of energy deficit during the transition period are inversely related to reproductive indices (i.e. conception rate is lower than 30% when BCS decrease over one unit). In fact, the serious energy deficit reduces (or suppresses): pulsatile secretion of gonadotropins (i.e. ovarian dysfunction and/or smaller follicles); IGF-1 and insulin plasma levels (i.e. slower follicles growth and higher embryonic mortality); progesterone production from corpus luteum (i.e. higher rate of embryonic abortions). The diet influences fertility in several ways. Excess of rumen degradable proteins, other than negative energy balance, affect negatively the reproductive activity. Conversely, some nutrients (i.e. some polyunsaturated fatty acids or some amino acids) seems to show positive effects on fertility. Finally, the relationship between health status, often compromise during transition period, and fertility efficiency is discussed. The release of cytokines seems to be directly and indirectly (mainly by the deviation of usual hepatic metabolism) related to malfunctioning of reproductive apparatus. A quick recovery of reproductive activity needs the

adoption of strategy around calving to cover the higher environmental and nutritive requirements and to prevent any kind of disorders.

Key words
transition period, fertility, diet, dairy cows

INTRODUZIONE

Nella quotidiana gestione delle bovine vi sono pochi dubbi sul fatto che l'allevatore ponga fra le sue priorità il raggiungimento e il mantenimento di una elevata efficienza riproduttiva. Da questa infatti dipendono in larga misura la produzione di elevate quantità di latte e più in generale la redditività dell'azienda. La lunghezza dell'intervallo parto-concepimento (IPC) e la percentuale di rimonta obbligata per infertilità probabilmente sono gli indici che meglio definiscono la situazione; si ritiene ottimale un IPC compreso entro i 110 giorni e il tasso di rimonta per infertilità non dovrebbe superare il 15% delle bovine presenti. Nel corso degli ultimi decenni si è osservato un progressivo peggioramento delle performance riproduttive in tutti i Paesi a zootecnia avanzata; di recente sono stati rilevati tassi di concepimento compresi fra il 35% e il 45% a seconda che le inseminazioni siano su calori naturali o indotti rispetto ai valori del 50-55% segnalati nel passato (Lucy, 2001). Per tentare di spiegare il problema, si fa riferimento al vertiginoso e continuo aumento delle performance produttive ed alla correlazione negativa con l'efficienza riproduttiva.

Gran parte dei problemi sarebbe riconducibile alla "pressione" metabolica cui sarebbero sottoposte le bovine a più elevata produttività ed alle interferenze che tale situazione produrrebbe sulla sfera riproduttiva; tuttavia il problema non riguarda solo gli allevamenti o le bovine con produzioni più elevate anzi, molto spesso, proprio in questi si osservano risultati migliori. La situazione dunque, appare ben più complessa e molti altri fattori possono essere evocati, fra questi basti ricordare il progressivo aumento delle dimensioni degli allevamenti ed il numero sempre inferiore di addetti. Questo scenario, imposto da stringenti necessità economiche, pone problemi di ordine ambientale, comportamentale, gestionale, igienico, sanitario, nutrizionale ed alimentare completamente nuovi e diversi che, inevitabilmente, hanno conseguenze sulla salute e sul benessere dell'animale, sulle sue manifestazioni produttive ma anche sulla modalità con la quale è necessario affrontare la situazione. Altri elementi non sono secondari; le strategie selettive alla base del miglioramento genetico, ad esempio, hanno perseguito e raggiunto ambiziosi obiettivi produttivi ma, finora, caratteri quali la longevità e l'efficienza riproduttiva sono stati considerati solo marginalmente o ignorati. Il parto costituisce l'evento fondamentale del ciclo produttivo e la gestione delle bovine in asciutta (soprattutto nelle ultime 4 settimane) e nei primi 15-20 giorni di lattazione (*transition cow*) è essenziale per garantire risultati soddisfacenti sia sotto il profilo della produzione di latte e sia da un punto di vista riproduttivo.

Affinché la bovina rimanga gravida in tempi accettabili debbono accadere diversi eventi, tutti fra loro strettamente collegati:

- si deve ripristinare una corretta funzionalità dell'asse ipotalamo-ipofisi con la ripresa della ciclica liberazione di gonadotropine (LH e FSH);
- a livello ovarico deve ristabilirsi una regolare attività follicolare con lo sviluppo, la maturazione e l'ovulazione di oociti di buona qualità;
- dovranno svilupparsi uno o più corpi lutei funzionalmente adeguati per assicurare agli embrioni condizioni favorevoli di sopravvivenza e sviluppo;
- l'utero dovrà involversi rapidamente e presentare condizioni favorevoli per l'attecchimento e la crescita del feto;

- dovranno essere gestiti con attenzione e meticolosità la rilevazione dei calori, la scelta del momento più adeguato per l'inseminazione, la corretta manipolazione del seme, ecc..

Nell'ambito di questo quadro estremamente complesso è facile intuire che le condizioni metaboliche e sanitarie della bovina, l'alimentazione nella sua duplice veste quantitativa e qualitativa, la corretta gestione da parte degli allevatori, rivestono un ruolo preminente. per ottenere buoni risultati riproduttivi.

PERIODO DI TRANSIZIONE E EFFICIENZA RIPRODUTTIVA

Nelle ultime fasi di asciutta, l'assetto endocrino e metabolico della vacca si modifica intesamente e con rapidità, sotto il controllo dei principali ormoni metabolici ed in particolare del somatotropo (GH), (Chiesa et al., 1991). Queste variazioni paiono strettamente funzionali ad assicurare l'avvio della lattazione fornendo alla mammella, i substrati necessari alla sintesi del colostro e del latte. La priorità funzionale della mammella, che perdura fino al 2°-3° mese di lattazione, induce modificazioni che riguardano tutti gli apparati e le funzioni dell'organismo; sono coinvolti il metabolismo energetico, minerale e azotato come attestano le variazioni nelle concentrazioni plasmatiche di numerosi parametri.

Altri ormoni, oltre al GH, sono coinvolti nel coordinare questo quadro: ricordiamo l'insulina, gli ormoni tiroidei, le somatomedine (IGF-I); fra i metaboliti che più di altri subiscono sensibili variazioni citiamo il glucosio, i NEFA (non esterified fatty acids),il β-idrossibutirrato, taluni minerali ed enzimi.

I fabbisogni nutrizionali, nel corso dell'asciutta e in condizioni usuali, sono modesti e facili da soddisfare se si mantiene una capacità di ingestione dell'ordine dei 10 -14 kg di sostanza secca; nelle ultime 2 settimane di gravidanza i fabbisogni si accrescono, mentre l'appetito dell'animale tende a diminuire; con il parto inizia la produzione di latte che aumenta più velocemente della capacità di ingestione. In questa fase è pressochè inevitabile uno scollamento fra fabbisogni ed apporti: ciò impone la necessità di ricorrere alle riserve (soprattutto quelle lipidiche), che l'animale ha accumulato nella seconda fase della lattazione precedente o nel corso dell'asciutta. La variazione delle riserve corporee è un evento fisiologico ed è misurabile attraverso la verifica del peso degli animali o la valutazione del body condition score (BCS). Si ritiene accettabile un calo di peso contenuto entro i 50 kg entro i primi due mesi di lattazione, corrispondenti ad una flessione di BCS contenuta entro un punto. Quando le riserve sono liberate in misura troppo repentina e/o intensa si osservano con maggiore frequenza disordini metabolici e sanitari e si riduce l'efficienza riproduttiva della mandria. Fra le turbe più frequenti ricordiamo la chetosi a cui di frequente si associano altre patologie metabolico-digestive-riproduttive. Nei casi più gravi si ha lipidosi e steatosi epatica con forti risentimenti produttivi e sanitari. In ogni caso ad un innalzamento dei corpi chetonici, indice di uno stato più o meno manifesto di chetosi, la sensibilità alle malattie aumenta significativamente con conseguenze che coinvolgono numerosi apparati fra cui quello riproduttivo.

STATO DI NUTRIZIONE E EFFICIENZA RIPRODUTTIVA

L'entità e la durata del deficit energetico che si osserva (spesso già prima del parto) dipendono principalmente dalla insufficiente quantità di alimenti assunti, piuttosto che dalle quantità di latte prodotto. Ciò sottolinea l'importanza di curare tutti gli aspetti che a diverso titolo influenzano l'appetito della bovina quali: stato di ingrassamento prima del parto, condizioni

ambientali, composizione della razione e qualità degli alimenti usati, malattie e stati di sofferenza, situazioni di stress. Il massimo deficit energetico è raggiunto fra le due e le tre settimane di lattazione (Butler and Canfield, 1989; Chiesa et al, 1991). I peggiori indici riproduttivi sono forniti dagli animali che presentano le maggiori flessioni di BCS. I tassi di concepimento calano dal 60%, quando le bovine mantengono la condizione corporea, al 17-38% quando invece il BCS diminuisce di oltre una unità (Butler, 2000).

NUTRIZIONE ED EFFICIENZA RIPRODUTTIVA

I rapporti fra nutrizione ed efficienza riproduttiva sono al centro dell'interesse di diversi ricercatori da poco più di un decennio; anche se da lungo tempo è nota la relazione fra disponibilità di cibo e efficienza riproduttiva ancora non è chiarito quali siano gli intimi meccanismi che legano i due fattori. In ogni caso l'interesse suscitato dalla tematica, anche di recente puntualizzata, è molto evidente vista la sua importanza teorica ed applicativa (Butler, 2001; Boland et al., 2001; Lucy, 2001).

IL RUOLO DELL'ENERGIA

La carenza di energia produce effetti negativi sull'efficienza riproduttiva delle bovine attraverso diversi meccanismi; il risultato finale, che poi interessa l'allevatore, è un peggioramento dell'efficienza riproduttiva nel suo insieme.

La prima ondata follicolare avviene nella bovina già entro la prima settimana di lattazione, indipendentemente dalle condizioni di bilancio energetico. Il follicolo che viene reclutato può seguire tre destini diversi: ovulazione verso i 16-20 giorni, regressione con reinizio del ciclo, mancata ovulazione e formazione di cisti; ciò prolunga l'intervallo parto-1° ovulazione fino a 40-50 giorni (Butler, 2001). La mancata ovulazione e la formazione di cisti può dipendere da alterazioni della liberazione pulsatile di LH e dalla inadeguata produzione di estradiolo da parte delle cellule della teca. In condizioni di deficit energetico la secrezione pulsatile di FSH e LH è ridotta se non soppressa. Le gonadotropine sono responsabili del reclutamento, sviluppo, maturazione ed ovulazione degli oociti; intensi deficit energetici attenuano le risposte ovariche all'azione delle gonadotropine mentre insulina e glucosio le favoriscono in sinergia; nelle prime settimane di lattazione quando l'animale dimagrisce i livelli di insulina e di glucosio sono bassi; ciò spiega, perché i follicoli che si sviluppano quando gli animali recuperano peso siano più grandi, producano più estradiolo e ovulino più facilmente (Butler, 2001). Anche le concentrazioni di IGF-I sono influenzate dalla disponibilità di energia; esiste una relazione positiva fra IGF-I circolanti e capacità ovulatoria del follicolo dominante. IGF-I e insulina infatti, promuovono la sintesi di estradiolo che è essenziale per l'ovulazione. È interessante ricordare come le IGF-I vengano prodotte dal fegato in risposta all'azione del GH; all'inizio della lattazione i livelli di GH sono molto elevati e al contrario quelli di IGF-I sono bassi; questo apparente paradosso potrebbe derivare dal limitato numero di recettori per il GH presenti a livello epatico; ciò potrebbe dipendere ancora dalle basse concentrazioni di insulina (Kobayashi et al., 1999); essa infatti svolgerebbe un ruolo"permissivo" per lo sviluppo di quei recettori.

Utilizzando un supplemento di glicole propilenico in prossimità del parto si è verificato un innalzamento delle concentrazioni di IGF-I e le bovine trattate hanno manifestato una ripresa riproduttiva anticipata. Allorquando le razioni siano formulate nella logica di elevare la glicemia, ad esempio usando precursori del glucosio (glicole propilenico, propionato, amidi, ecc.), si riducono i rischi, comunque latenti, di chetosi ed infiltrazione grassa del fegato, e si otten-

gono risposta riproduttive positive (Formigoni et al., 1996; Gong et al., 2001).

Le condizioni di bilancio energetico dell'animale influenzano anche le concentrazioni plasmatiche di progesterone. Il progesterone è essenziale per mantenere la gravidanza, condizionare lo stato funzionale dell'utero e dell'ovaio. Adeguati livelli di progesterone nella fase di diestrale accentuano la risposta ovarica alle gonadotropine ipofisarie. Secondo i dati riportati da Villa-Godoy e collaboratori (1988), le bovine con deficit più accentuati nei primi 10 giorni di lattazione presentano livelli plasmatici di progesterone più bassi al terzo ciclo estrale, quando iniziano le coperture. I livelli di progesterone sono inferiori nelle bovine ad elevata produzione forse in dipendenza della dimensione dei corpi lutei che sono più piccoli di quasi la metà rispetto a quelli di animali meno produttivi (Lucy, 2001). Gli animali più produttivi e/o meglio alimentati (Boland et al., 2001) presentano livelli inferiori di progesterone anche perchè questo verrebbe metabolizzato più intensamente nel fegato. Il fatto si spiega in quanto nelle bovine ad elevata produzione (e/o ingestione di alimenti) il flusso giornaliero di sangue che attraversa il fegato aumenta di circa il 50%. Qualunque sia la causa che la determina, alla relativa carenza di progesterone sarebbe riferibile anche l'aumento di aborti embrionali. Sarebbe infatti, alterata la produzione di quei fattori (interferone tau) che segnalano alla madre la presenza dell'embrione, e non sarebbe così blocccata la cascata di eventi che portano alla luteolisi.

IL PROBLEMA DELLA MORTALITÀ EMBRIONALE

Sembra una delle principali fonti di infertilità nel moderno allevamento della vacca da latte. Fra i 28 e i 60 giorni la mortalità embrionale raggiungerebbe il 20% delle gravidanze; entro i 18-19 giorni dalla fecondazione si pensa che la situazione sia ancora peggiore. Le ipotesi formulate per spiegare il fenomeno sono numerose; oltre al progesterone e alle varie malattie (Vanroose et al., 2000) che a diverso titolo possono interagire, sono importanti le condizioni dell'utero al momento della fecondazione, la qualità degli oociti fecondati, la presenza al momento dell'annidamento di adeguati substrati nutritivi per lo zigote e l'embrione. In tal senso va ricordato che le IGF-I sembrano ancora una volta giocare un ruolo importante tant'è che, proprio alla loro azione sarebbero riferiti i migliori tassi di gravidanza osservati in seguito al trattamento con GH di vacche non fertili (Lucy, 2001).

Sempre più insistenti, infine, sono le ipotesi che vogliono attribuire un peso crescente all'azione di tossici alimentari o di inquinanti che a diverso titolo possono interagire negativamente con lo sviluppo embrionale (Mc Evoy et al., 2001). Quest'ultimo problema pone l'accento sull'importanza del controllo della salubrità degli alimenti impiegati. In ogni caso, non è ancora chiarito se le condizioni nutrizionali che favoriscono l'attività ovarica siano le stesse che facilitano l'annidamento e le prime fasi di sviluppo degli embrioni (Boland et al., 2001); nelle prime fasi di sviluppo infatti l'embrione non sarebbe capace di utilizzare glucosio come substrato energetico; ciò potrebbe significare la necessità di adottare piani di razionamento in prossimità dell'inseminazione diversi da quelli utilizzati in prossimità del parto.

I LIPIDI

Il loro impiego nell'alimentazione delle bovine ad elevata produzione in un numero rilevante di casi determina un sensibile miglioramento degli indici riproduttivi (Mattos et al., 2000). Questi risultati che comunque non appaiono costanti, potrebbero dipendere in molti casi dalla copertura di fabbisogni specifici di taluni acidi grassi piuttosto che dal contributo energetico di per sé. La modulazione del profilo acidico della frazione lipidica delle diete può essere usata per modulare la sintesi degli ormoni steroidei e delle prostaglandine in particolare.

RUOLO DELLE SOSTANZE AZOTATE

Molti ricercatori hanno studiato i rapporti esistenti fra livello proteico della dieta e fertilità delle bovine. I risultati hanno spesso evidenziato una correlazione positiva fra concentrazione proteica delle razioni, numero di inseminazioni e distanza fra parto e concepimento. Tali reperti, tuttavia, non sono costanti e ciò lascia pensare che altri fattori, al di là del semplice titolo proteico delle razioni, debbano essere presi in considerazione. Fra questi ricordiamo il grado di solubilità e degradabilità ruminale delle fonti azotate impiegate. Allorquando si impieghino quantità di azoto degradabile eccedenti i fabbisogni della popolazione microbica o divengano limitanti altri fattori che condizionano la moltiplicazione batterica (disponibilità di adeguate fonti energetiche, assunzione irregolare di alimento, anomala velocità di transito degli alimenti, ecc.), si può raggiungere un'eccessiva concentrazione di ammoniaca nel liquor ruminale che viene assorbita dalla parete del rumine e, nel fegato, convertita in urea. Tale conversione, comporta un dispendio energetico considerevole per l'animale e un aumento dei livelli plasmatici di urea. In condizioni di forte deficit energetico l'uremia già si innalza in seguito alla utilizzazione di aminoacidi per la sintesi di glucosio. A questo aumento sono associate alterazioni del pH in utero con ridotte probabilità di sviluppo dell'embrione. Jordan et al. (1983), hanno osservato che in bovine mantenute in eccesso proteico, la concentrazione di urea è 2,7 volte più elevata nelle secrezioni uterine. L'ammoniaca come tale può inoltre causare alterazioni del metabolismo intermedio riducendo la capacità di captazione cellulare del glucosio; determina inoltre alterazioni dell'attività endocrina e funzionale del corpo luteo (Visek, 1984). La concentrazione plasmatica di progesterone è meno elevata impiegando razioni ad elevata cocentrazione in azoto mentre non si osservano differenze nè della pulsatilità dell' LH, nè del contenuto pituitario di LH, nè del numero di recettori per l' LHRH (Blauwiekel et al., 1986). I criteri di razionamento più recenti, si basano sempre più sugli apporti in aminoacidici, questi con i peptidi influenzano le fermentazioni ruminali, la secrezione di diversi mediatori metabolici e, a livello uterino, lo sviluppo embrionale.

SANITÀ DELLE BOVINE E EFFICIENZA RIPRODUTTIVA

Numerosi studi epidemiologici hanno dimostrato lo stretto legame esistente fra eventi patologici e riproduzione (Markusfeld et al., 1997; Rajala e Gröhn, 1998; Labernia et al., 1999; Beaudeau et al., 2000; Schrick et al., 2001). Nella transizione fra asciutta e inizio lattazione si osserva la maggiore incidenza di patologie; queste malattie sono spesso riferibili ad errori gestionali e/o alimentari ma spesso non appaiono errori marcati a cui riferire problematiche spesso anche di grave entità. Una possibile spiegazione può derivare dalla maggiore suscettibilità alle malattie per una diminuita capacità immunitaria o per un'accentuazione delle sollecitazioni metaboliche che derivano dal parto e dall'inizio della lattazione..

La marcata accentuazione dei processi metabolici può essere all'origine della formazione di molecole (metaboliti reattivi dell'ossigeno -ROMs-) che, (Formigoni et al. 1997; Calderone et al., 1998), si elevano chiaramente in prossimità del parto in assenza di apparenti processi infiammatori; i ROMs, se non adeguatamente bilanciati da sistemi di difesa, si accumulano provocando una situazione di *stress* ossidativo, che sarebbe alla base di alterazioni della capacità funzionale delle pareti cellulari degli epiteli e delle cellule che presiedono all'immunità (Halliwell e Gutteridge, 1989), esponendo la bovina a maggiori rischi di malattie, (Miller et al., 1993). Nelle attuali condizioni di allevamento, la bovina è sottoposta ad agenti stressanti purtroppo molto frequenti a riscontrarsi, (condizioni climatiche, sovraffollamento, spostamenti di gruppo, "messa alla catena", ecc.), o connessi a patologie e/o sofferenze di natura diversa. Di recente Dobson et al. (2001), hanno sottolineato i legami esistenti fra

stress ed efficienza riproduttiva. Sarebbero alterati i ritmi di secrezione pulsatile delle gonadotropine, si ridurrebbero le manifestazioni estrali e la qualità degli oociti. Lucy (2001), sottolinea come lo stress da caldo rappresenti un ottimo esempio del legame fra stress e attività riproduttiva. Le vacche in estate presentano tassi di concepimento più bassi e la situazione si normalizza solo dopo alcuni mesi dalla fine del caldo; ciò starebbe ad indicare un effetto nell'immediato ma anche a lungo termine che potrebbe essere spiegato dalla teoria della qualità degli oociti formulata da Britt (1992),che peraltro non è confermata da evidenze sperimentali.

A situazioni di stress, l'organismo, reagisce innescando una cascata di eventi che coinvolgono il sistema immunitario, con il rilascio delle citochine (interleuchina-1 e –6, Tumor Necrosis Factor) (Grimble, 2001).

Le citochine contrastano l'attività riproduttiva, direttamente influenzando la secrezione di ormoni come l'LH o indirettamente alterando i livelli circolanti di GH, insulina, glucagone e cortisolo (Annison e Bryden, 1999); in caso di infezione, inoltre la presenza di endotossine induce il rilascio di citochine, ma anche una diminuzione dei livelli di progesterone e di PGF-2α (Trevisi et al., 1996; Fredriksson, 1985). L'influenza indiretta delle citochine sulla fertilità potrebbe essere mediata dall'azione inibitoria che esse producono sull'appetito (effetto anoressico), (Grimble, 1990); le citochine determinano un calo di ingestione che accentua la liberazione di NEFA e alterano la funzionalità epatica determinando un calo della sintesi di apo-lipoproteine in particolare (Bertoni, 1990; Drackley, 1999). Questa situazione andrebbe ad appesantire il già precario assetto metabolico del fegato, facilitando la comparsa di turbe quali chetosi e steatosi. Le ricerche di Ingvartsen et al. (1999), dimostrano che la chetosi non sarebbe ascrivibile esclusivamente alla carente assunzione alimentare; così, in situazioni nelle quali almeno apparentemente non esistono marcati errori nutrizionali l'elevata incidenza di patologie sarebbero strettamente collegati ad un innalzamento delle concentrazioni plasmatiche di citochine con conseguenze negative sulle capacità biosintetiche del fegato, aggravamento della situazione sanitaria e riduzione dell'appetito (Bertoni et al., 2001). In tal senso il fegato svolge un ruolo essenziale nel controllo dell'appetito anche attraverso un'influenza sull'omeostasi glicemica che sarebbe alla base di una elevata resistenza alle malattie.

La somministrazione nelle fasi metabolicamente "sensibili" di fattori ad attività lipotropa (colina, metionina, carnitina ecc.) ha avuto conseguenze positive anche sull'efficienza riproduttiva degli animali (Pezzi et al., 1996), probabilmente migliorando la funzionalità di questo organo.

CONCLUSIONI

Le relazioni fra periodo di transizione ed efficienza riproduttiva appare molto stretta nonostante molti meccanismi non siano stati ancora del tutto chiariti e dimostrati. Tutte le strategie e le attenzioni che riducano il rischio della comparsa di patologie aumentano la probabilità che le bovine manifestino una precoce ripresa dell'attività riproduttiva e vengano ingravidate velocemente. Poiché il legame fra alimentazione e attività riproduttiva è ampiamente documentato grande attenzione dovrà essere riservata alla somministrazione di diete che in quantità e qualità soddisfino appieno le esigenze delle bovine nelle diverse fasi del ciclo produttivo ed in particolare durante le ultime fasi dell'asciutta e le prime settimane di lattazione. Gli elementi chiave sui quali appare essenziale agire in maniera prioritaria possono essere sintetizzati nei seguenti punti:

- adottare meticolose misure di prevenzione delle più comuni patologie di allevamento (patologie podali, turbe digestive, malattie infettive, parassitarie, ecc.);

- assicurare ambienti e spazi adeguati agli animali in asciutta, al parto e nelle prime settimane di lattazione, con attenzione a contenere tutte le fonti di stress;
- fornire alimenti salubri ed appetibili, favorendo la funzionalità ruminale ed assicurando la copertura di tutti i fabbisogni nutrizionali, anche in relazione alle riserve corporee degli animali;
- favorire la capacità di ingestione degli alimenti, assicurando elevati ed equilibrati apporti di energia e aminoacidi, riducendo l'entità delle variazioni ponderali;
- intervenire nelle fasi "sensibili" con scelte nutrizionali capaci di modulare le risposte metaboliche delle bovine.

BIBLIOGRAFIA

1) Annison E.F., Bryden W.L., (1999). *Perspectives on ruminant nutrition and metabolism. II. Metabolism in ruminant tissues*. Nutr. Res. Rev., 12:147-177.

2) Beaudeau F., Seegers H., Ducrocq V., Fourichon C., Bareille N., (2000). *Effect of health disorders on culling in diary cows: a review and a critical discussion*. Ann. Zootech., 49:293-311.

3) Bertoni G., (1990). *Recenti acquisizioni sulla ipofertilità della bovina da latte*. L'Informatore Agrario, 46 (4), 35-39; (6) 89-94; (8) 73-84.

4) Bertoni G., Trevisi E., Han X. (2001). *Relationship between the liver activity in the puerperium and fertility in dairy cows*. 52nd Annual Meeting EAAP, Budapest, 26-29 August, pp 189.

5) Blauwiekel R., Kincaid R.L., Reeves J.J. (1986). *Effect of high crude protein on pituitary and ovarian function in Holstein cows*. J. Dairy Sci. 69:439-446.

6) Boland M.P., Lonergan P., O'Callaghan D., (2001). *Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development*. Theriogenology, 55:1323-1340.

7) Britt J.H., (1992). *Influence of nutrition and weight loss on reproduction and early embryonic death in cattle*. Proceedings of the XVII World Buiatrics Congress, St.Paul, MN, 42:143-149.

8) Butler W.R., Canfield R.W. (1989). *Interrelationships between energy balance, reproduction of lactating dairy cows examined*. Feedstuff, 61(52):18-19, 31.

9) Butler W.R., (2000). *Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle*. Anim. Reprod. Sci., 60-61, 449-457.

10) Butler W.R., (2001). *Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows*. 52nd Annual Meeting of the EAAP 2001.

11) Calderone D., Pezzi P., Panciroli A., Quarella M., Formigoni A., (1998) *Preliminary studies on «Oxidative status" in dairy cows*. Proceedings of "X MittleEuropean Congress of Buiatrics", Hungary 21-24 May 1998.

12) Chiesa F., Gaiani R., Formigoni A., Accorsi P.A., (1991). *Modificazioni del quadro endocrino e metabolico in bovine da latte ad elevata potenzialità produttiva durante l'asciutta e la lattazione*. Arch. Vet. It., 42, (4), 157-179.

13) Dobson H., Tebble J.E., Smith R.F.,Ward W.R., (2001). *Is stress really all that important?* Theriogenology, 55: 65-73.

14) Drakley J.K., (1999). *Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier*. J. Dairy Sci., 82:2259-2273.

15) Elrod C.C., Butler W.R. (1993). *Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein*. J. Anim. Sci. 714:694-701.

16) Formigoni A., Calderone D., Pezzi P., Panciroli A. (1997). *Evoluzione dello "status ossidativo" nella bovina da latte: osservazioni preliminari"*. Atti XII Congresso Nazionale ASPA, Pisa, 23-26 giugno 1997: 203-204.

17) Formigoni A., Cornil M.C., Prandi A., Mordenti A., Rossi A., Portetelle D., Renaville R., (1996). *Effect of propylen glycol supplementation around parturition on milk yield, reproduction performance and some hormonal and metabolic characteristics in dairy cows*. J. Dairy Res., 63, 11-24.

18) Fredriksson G., Kindahl H., Edqvist L.E., (1985). *Endotoxin-induced prostaglandin release and corpus luteum function in goats*. Anim. Repr. Sci. 8: 109-121.

19) Gong J.G., Moghaddam A., Baxter G., Garnsworthy P.C., Webb R., Armstrong D.G., (2001). *The effect of feeding a diet to increase circulating insulin concentrations on LH secretion during the early postpartum period in dairy cows*. Repr. Abs. Series No. 27:10.

20) Grimble R.F., (1990). *Nutrition and cytokine action*. Nutr. Res. Rev. 3: 193-210.

21) Grimble R.F. (2001). *Nutritional modulation of immune function*. Proc. Nutr. Soc. 60:389-397.

22) Halliwell B., Gutteridge J.M.C. (1989). *Free radicals in biology and medicine*. Third edition. Oxford University Press.

23) Ingvartsen K.L., Friggens N., Faverdin P., (1999). *Food intake regulation in late pregnancy and early lactation*. In "Metabolic stress in dairy cows" Occasional Publication n°24 – B.S.A.S. ed. Oldham J.D., Sim G., Groen A.F., Nielsen B.L., Pryce J.E., Lawrence T.L.J. pp 21-26.

24) Jordan E.R., Chapman T.E., Holtan D.W. Swanson L.W. (1983). *Relationship of dietary crude protein to composition of uterine secretions and blood in high-producing postpartum dairy cows*. J. Dairy Sci. 66:1854-1862.

25) Kobayashi Y., Boyd C.K., Bracken C.J., Lamberson W.R., Keisler D.H., Lucy M.C., (1999). *Growth hormone receptor (GHR) messenger ribonucleic acid in liver of periparturient cattle is caused by a specific down-regulation of GHR 1A that is associated with decreased insulin-like growth factor*. Endocrinology. 140:3947-3954.

26) Labernia J., Lopez-Gautius F., Santolaria P., Hanzen C., Laurent Y., Houtain J.Y., (1999). *Influence of calving season on the interactions among reproductive disorders of dairy cows*. Anim. Sci. 67: 387-393.

27) Lucy M.C., (2001). *Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end?* J. Dairy Sci. 84:1277-1293.

28) Markusfeld O., Galon N., Ezra E., (1997). *Body condition score, health, yield and fertility in diary cows*. Vet. Rec. 141:67-72.

29) Mattos R., Staples C. R., Thatcher W. W., (2000). *Effects of dietary fatty acids on reproduction in ruminants*. Reviews of Reproduction, 5:38-45.

30) McEvoy T.G., Robinson J.J, Ashworth C.J., Rooke J.A., Sinclair K.D., (2001). *Feed and forage toxicants affecting embryo survival and fetal development*. Theriogenology, 55:113-129.

31) Miller J.K., Brzezinska-Slebodzinska E., Madsen F. C. (1993) *Oxidative stress, antioxidants, and animal function*. J. Dairy Sci. 76:2812-2823.

32) Pezzi P., Trombetta F., Piva A., Panciroli A., Formigoni A., (1996). *Influenza della somministrazione di colina «ruminoprotetta» a bovine da latte su alcuni parametri ematochimici*. Atti S.I.S. Vet., 50, 565-566.

33) Rajala P.J., Gröhn Y.T., (1998). *Effects of dystocia, retained placenta, and metritis on milk yield in diary cows*. J. Dairy Sci., 81:3172-3181.

34) Schrick F.N., Hockett M.E., Saxton A.M., Lewis M.J., Dowlen H.H., Oliver S.P., (2001). *Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters*. J. Dairy Sci., 84:1407-1412.

35) Trevisi E., Lombardelli R., Calamari L., Bertoni G., (1996). *Variazioni ematiche del progesterone in bovine trattate con endotossine in fasi riproduttive e con modalità diverse*. Proc. 8th Meeting Naz. on "Studio della efficienza riproduttiva degli animali di interesse zootecnico". Bergamo, May 10, pp. 47-51.

36) Vanroose G., de Kruif A., Van Soom A., (2000). *Embryonic mortality and embryo-pathogen interactions*. Anim. Reprod. Sci., 60-61, 131-143.

37) Villa-Godoy A., Hughes T.L., Emery R.S., Chapin L.T., Fogwell R.L., (1988). *Association between energy balance and luteal fuction in lactating dairy cows*. J. Dairy Sci., 71:1063-1072.

38) Visek W.J. (1984). *Ammonia: its effects on biologicl systems, metabolic hormones, and reproduction*. J. Dairy Sci. 67:481-498.

39) Ward W.R., Parker C.S. (1999) *Field evidence of metabolic stress in dairy cows?* In "Metabolic stress in dairy cows" Occasional Publication n°24 – B.S.A.S. ed. Oldham J.D., Sim G., Groen A.F., Nielsen B.L., Pryce J.E., Lawrence T.L.J. pp 21-26.

Gli Autori ringraziano per la preziosa collaborazione i prof. Bertoni Giuseppe, Galeati Giovanna, Vignola Giorgio e i dottori Neri Elisa, Pezzi Paolo e Zatti Carlo.